

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

ПЕТРОСЯН АРАМ ПАРУИРОВИЧ

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРОАНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ И
МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ
У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Стилиди Иван Сократович

доктор биологических наук, профессор

Герштейн Елена Сергеевна

Москва - 2023 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА I. ПРОАНГИОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ И МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛО- ПРОТЕИНАЗЫ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА (обзор литературы).....	15
1.1 Проангиогенные факторы при онкологических заболеваниях.....	17
1.2 Клиническое значение экспрессии VEGF в ткани рака желудка.....	18
1.3 Клиническое значение VEGF, циркулирующего в периферической крови больных раком желудка.....	22
1.4 Клиническое значение рецепторов VEGF при раке желудка.....	28
1.5 Анти-VEGF направленная терапия при раке желудка.....	30
1.6 Моноклональные антитела.....	30
1.7 Ингибиторы тирозинкиназы VEGFR.....	31
1.8 Клиническое значение MMP в инвазии и метастазировании опухолей желудка.....	32
1.9 Матриксные металлопротеиназы как потенциальные мишени для таргетной терапии.....	46
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	49
2.1 Общая характеристика обследованных больных раком желудка и здоровых доноров.....	49
2.2 Лабораторные методы исследования.....	59
2.3 Статистические методы исследования.....	61
ГЛАВА III. КОНЦЕНТРАЦИИ VEGF, РЕЦЕПТОРОВ VEGFR1 И VEGFR2 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА (РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ)	63
3.1 Концентрации VEGF в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле.....	63
3.2 Концентрации VEGF и его рецепторов в зависимости от пола и возраста обследованных в основных группах.....	72

3.3 Концентрации VEGF и его рецепторов в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от клинических и морфологических характеристик заболевания.....	73
ГЛАВА IV. КОНЦЕНТРАЦИИ MMP-2, MMP-7, MMP-9 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА.....	85
4.1 Концентрации MMP-2, 7 и 9 в сыворотке крови здоровых доноров и больных раком желудка.....	85
4.2 Концентрации MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля и больных раком желудка с учетом данных анамнеза	91
4.3 Концентрации MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от клинико-морфологических характеристик заболевания	96
4.4 Связь концентраций VEGF и его рецепторов VEGFR1, VEGFR2 с показателями MMP-2, 7, 9 одновременно измеренных в сыворотке крови больных раком желудка.....	107
ГЛАВА V. ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА.....	111
5.1 Общая выживаемость больных раком желудка в общей группе.....	111
5.2 Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации VEGF и его рецепторов VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови	112
5.3 Безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации VEGF и рецепторов VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови.....	117
5.4 Общая и безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентраций MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови пациентов.....	120
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	126
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	135
ВЫВОДЫ.....	137
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	139
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	140
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	141

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы и степень её разработанности

В настоящее время рак желудка (РЖ) занимает второе место в структуре заболеваемости у мужчин (10,5%) и четвертое – у женщин (7,0%) [8]. Более чем у 70% первично выявленных больных заболевание регистрируется при III-IV стадии, а отдаленные результаты лечения рака желудка продолжают оставаться неудовлетворительными [7]. Показатели пятилетней выживаемости после радикальных вмешательств в большинстве клиник не превышают 36% [17, 18].

С целью определения риска раннего метастазирования и прогноза РЖ используют ряд клинико-морфологических признаков первичной опухоли (глубина опухолевой инвазии в стенку желудка, гистологический вариант и степень дифференцировки новообразования, стадия заболевания по системе TNM и др.). Однако степень агрессивности опухоли не всегда определяется этими критериями. Поэтому в настоящее время проводится активный поиск дополнительных молекулярно-генетических, биологических и биохимических маркеров, характеризующих агрессивный потенциал этих новообразований и предсказывающих высокий риск опухолевой прогрессии. Правильная оценка биологических факторов, коррелирующих с метастатическим и инвазивным потенциалом опухоли, прогнозом заболевания и продолжительностью жизни пациентов, особенно важна при ранних локализованных формах РЖ.

Исследование особенностей биологического поведения опухоли является в настоящее время одной из наиболее актуальных проблем в клинической онкологии [12, 75]. Среди молекулярно-биологических показателей, которые могут влиять на клиническое течение РЖ, особое место отводится поиску биологических маркеров, характеризующих ангиогенную и инвазивную активности опухоли [111, 119].

В настоящее время пристальное внимание исследователи уделяют проблеме неоангиогенеза в злокачественных опухолях, так как уже не вызывает сомнения тот факт, что уже на ранних стадиях опухоль не может развиваться и расти без образования в ней разветвленной сети сосудов, обеспечивающих снабжение клеток кислородом и питательными веществами. Несмотря на то, что интерес к этой проблеме возник более 30 лет назад, основной характеристикой активности неоангиогенеза в опухолях была микроскопическая оценка плотности сосудов в опухолевой ткани (индекс микрососудистой плотности в опухоли). Относительно недавно, в результате изучения молекулярных механизмов ангиогенеза, было продемонстрировано наличие целого ряда регуляторных ангиогенных и антиангиогенных факторов, динамический баланс которых обеспечивает формирование и распространение новых сосудов внутри опухоли. В регуляции неоангиогенеза участвуют многие известные факторы роста и цитокины, однако, важнейшим положительным регулятором ангиогенеза бесспорно является фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor – VEGF), называемый также фактором проницаемости сосудов. Уникальность этого белка заключается в том, что в отличие от всех других факторов роста, он митогенен только по отношению к эндотелиальным клеткам (ЭК), хотя данные последних лет свидетельствуют о том, что возможно и аутокринное воздействие VEGF на продуцирующие его опухолевые клетки.

VEGF представляет собой гомодимерный, сильно гликозилированный белок с молекулярной массой 46-48 кDa, существующий, по крайней мере, в пяти изоформах, обладающих сходной биологической активностью [62]. На поверхности ЭК имеется три рецептора для VEGF, являющихся типичными рецепторными тирозинкиназами. Рецептор VEGF 1 типа (VEGFR1) является продуктом гена *flt-1*, рецептор 2 типа (VEGFR2) получил название KDR и является человеческим гомологом продукта мышинового гена *flk-1*, и, наконец, рецептор 3 типа (VEGFR3) – продукт гена *flt-4*.

Классическая модель регуляции ангиогенеза в любой опухоли, в том числе и раке желудка, предусматривает наличие паракринной системы, в которой

фактор роста (VEGF) продуцируется опухолевыми клетками, а его рецепторы, воспринимающие сигнал, находятся на ЭК сосудов, причем уровень экспрессии VEGF и VEGFR2 коррелирует с индексом пролиферативной активности опухолевых клеток, определяемым по экспрессии антигена Ki-67 [196]. Оказалось, что из всех исследованных показателей только экспрессия VEGF существенно увеличена в опухолевых клетках по сравнению с нормальными.

Показано, что как опухолевые, так и стромальные клетки, выделенные из первичных карцином желудка человека, продуцируют VEGF *in vitro*, и уровень его продукции значительно выше, чем у соответствующих клеток, выделенных из нормальной слизистой желудка [170]. При этом в опухолевых клетках преобладает VEGFR2, а в стромальных клетках экспрессируется в основном VEGFR1. Таким образом, помимо своей прямой функции – стимуляции неоангиогенеза, VEGF при раке желудка может играть также и роль ауто/паракринного регулятора пролиферации опухолевых и/или стромальных клеток. Кроме того, по данным ряда авторов VEGF и его рецепторы являются достаточно перспективными биомаркерами злокачественных опухолей не только в качестве классических показателей опухолевого ангиогенеза, но и в качестве возможных факторов неблагоприятного прогноза заболевания.

Помимо проангиогенных факторов в механизмах инвазии злокачественных опухолей принимают активное участие ассоциированные с опухолью матриксные металлопротеазами (ММР), разрушающие базальную мембрану и внеклеточный матрикс (ВКМ), способствуя процессам инвазии и метастазирования [54, 55, 75]. В опухолевой инвазии задействовано несколько классов протеаз, к важнейшим из которых следует отнести группу ММР или матриксинов, названных так именно за свою способность специфически гидролизовать все основные белки ВКМ, в первую очередь, различные типы коллагена [187].

ММР представляют собой мультигенное семейство, состоящее из более 20 секретируемых и связанных с поверхностью клетки цинк-зависимых эндопептидаз [123]. Важнейшими представителями ММР являются различные коллагеназы (ММР-1, ММР-8, ММР-13), стромелизины (ММР-3, ММР-10),

матрилизин (ММР-7), желатиназы А и В (ММР-2 и ММР-9) [20].

Для многих ММР доказано увеличение экспрессии в опухолях различного генеза, причем их активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы [54]. В последнее время появляются данные, свидетельствующие о том, что тканевые ингибиторы ММР (ТИМР) играют важную роль в регуляции роста и дифференцировки опухолевых и нормальных клеток, а также обладают антиангиогенными свойствами [148]. В связи с этим в настоящее время различные ММР и ТИМР рассматривают в качестве возможных биологических маркеров, характеризующих основные клинико-морфологические особенности опухоли, ее биологическое «поведение», а стало быть, прогноз и лекарственную чувствительность злокачественных новообразований. Полагают, что использование природных и синтетических ингибиторов ММР - перспективный подход к противоопухолевой терапии [126, 134].

В последние годы накапливается все больше данных о нарушениях нормальной экспрессии и функционирования ММР при раке желудка. Однако их влияние на клиническое течение и прогноз заболевания изучен недостаточно [3]. Многие вопросы, касающиеся корреляции клинико-морфологических характеристик опухоли и изменений биологических показателей, происходящих в процессе инвазии и метастазирования рака желудка, нуждаются в более глубоком изучении.

Необходимость поиска новых методов оценки биологического поведения опухоли и более точного прогнозирования течения заболевания определяет актуальность изучения проангиогенных факторов и ММР, обуславливающих инвазивно-метастатический фенотип РЖ.

Цель исследования

Изучить клиническое значение фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), растворимых форм его рецепторов 1 и 2 типа (sVEGFR1, sVEGFR2), а также

матриксных металлопротеиназ 2, 7, 9 типа (MMP-2, MMP-7, MMP-9) в сыворотке крови больных раком желудка и выявить их связь с клинико-морфологическими характеристиками и прогнозом заболевания.

Задачи исследования

1 Исследовать содержание VEGF и растворимых форм его рецепторов 1 и 2 типа (sVEGFR1, sVEGFR2) в сыворотке крови больных раком желудка до лечения и сопоставить полученные результаты с соответствующими показателями здоровых доноров (группа контроля).

2 Исследовать содержание MMP-2, MMP-7 и MMP-9 в сыворотке крови больных раком желудка до начала лечения и сравнить полученные данные с соответствующими показателями в группе контроля.

3 Провести анализ взаимосвязи уровней сывороточных маркеров (VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2, MMP-2, MMP-7, MMP-9) с основными клинико-морфологическими характеристиками рака желудка (стадией заболевания, локализацией, гистологическим строением и степенью дифференцировки опухоли).

4 На основании анализа отдаленных результатов лечения больных раком желудка выявить наиболее значимые биологические маркеры в оценке прогноза общей и безрецидивной выживаемости.

Научная новизна

Впервые количественными иммуноферментными методами проведено сравнительное исследование спектра различных проангиогенных факторов (VEGF, VEGFR1, VEGFR2) и матриксных металлопротеиназ (MMP-2, MMP-7, MMP-9) в сыворотке крови больных первичным раком желудка до лечения и здоровых доноров и проанализирована их связь с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания и прогнозом.

Выявлено, что концентрации ключевого активатора ангиогенеза VEGF в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо выше, чем у здоровых доноров группы контроля, обнаружены также статистически значимо

более высокие уровни sVEGFR1 и более низкие - sVEGFR2. Однако эти маркеры не обладает приемлемой диагностической ценностью. Показано, что уровни VEGF, sVEGFR1 и sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка не зависят от таких признаков как пол и возраст пациентов, критерии системы TNM, гистологический вариант строения опухоли.

Установлено, что концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо ниже, чем в контроле и этот маркер обладает определенной диагностической ценностью: при пороговом уровне 300 нг/мл его чувствительность составляет 89,1%, специфичность - 81,7% относительно здорового контроля. Концентрации MMP-7 и MMP-9 у больных раком желудка статистически значимо выше, чем в контроле, при этом MMP-7 при пороговом уровне 3,8 нг/мл имеет чувствительность 80,4% при специфичности относительно здорового контроля 77,9%. Уровень MMP-7 повышается при увеличении стадии опухолевого процесса, а уровень MMP-9 значимо снижен при высокодифференцированной аденокарциноме по сравнению с менее дифференцированными вариантами.

Анализ показателей общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка, в зависимости от уровней проангиогенных факторов и матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови позволил выделить следующие закономерности:

1) по данным однофакторного анализа, уровни VEGF более 420 пг/мл, sVEGFR1 менее 94 пг/мл и sVEGFR2 свыше 9,0 нг/мл ухудшают безрецидивную и общую выживаемость больных раком желудка, при этом различия в общей выживаемости в зависимости от уровня VEGF в сыворотке крови значимы только в первые два года после начала лечения;

2) в отношении матриксных металлопротеиназ получены парадоксальные результаты, в соответствии с которыми более высокий уровень MMP-2, сниженной у больных раком желудка по сравнению с контролем, статистически значимо ухудшает общую выживаемость пациентов, а для исходно повышенных MMP-7 и MMP-9, напротив, отмечены тенденции к ухудшению общей и

безрецидивной выживаемости при более низких концентрациях в сыворотке крови.

3) в многофакторной модели, включавшей критерии системы TNM и пороговые уровни всех исследованных маркеров ангиогенеза и MMP, независимыми прогностическими факторами наряду с критерием T, оказались только уровни матриксных металлопротеиназ.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные расширяют представление о роли проангиогенных факторов (VEGF, VEGFR1, VEGFR2) и матриксных металлопротеиназ (MMP-2, MMP-7, MMP-9), характеризующих инвазивный и метастатический потенциал злокачественных опухолей, как маркеров в диагностике и оценке прогноза рака желудка.

Так, определение содержания MMP-2 и MMP-7 в сыворотке крови больных раком желудка может быть использовано в качестве дополнительного инструмента в диагностике этого заболевания, т.к. эти маркеры обладают достаточно высокой чувствительностью и специфичностью относительно здорового контроля. При этом уровни всех изученных маркеров в сыворотке разнонаправленно влияют на безрецидивную и общую выживаемость пациентов: Так, определение содержания MMP-2 и MMP-7 в сыворотке крови больных раком желудка может быть использовано в качестве дополнительного инструмента в диагностике этого заболевания, т.к. они обладают достаточно высокой чувствительностью и специфичностью относительно здорового контроля. При этом уровни изученных маркеров в сыворотке разнонаправленно влияют на показатели выживаемости пациентов: высокие уровни VEGF, sVEGFR2, MMP-2 и низкие уровни sVEGFR1, MMP-7 и MMP-9 ухудшают безрецидивную и общую выживаемость больных раком желудка. Многофакторный анализ с включением в модель критериев системы TNM, а также VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 выделил как значимый независимый фактор прогноза общей выживаемости больных раком желудка критерий T ($p=0,001$) и концентрацию sVEGFR1 ($p=0,015$). Уровни VEGF

и sVEGFR2 в сыворотке крови в этой модели не были независимыми факторами прогноза общей выживаемости. В более сложной модели, включавшей помимо показателей системы ангиогенеза также пороговые уровни всех исследованных MMP, независимыми прогностическими факторами наряду с критерием T оказались только уровни последних, но не маркеры системы ангиогенеза.

Многофакторный анализ с включением в модель критериев системы TNM, а также VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 выделил как значимый независимый фактор прогноза общей выживаемости больных раком желудка критерий T ($p=0,001$) и концентрацию sVEGFR1 ($p=0,015$). Уровни VEGF и sVEGFR2 в сыворотке крови в этой модели не были независимыми факторами прогноза общей выживаемости.

В более сложной модели, включавшей помимо показателей системы ангиогенеза также пороговые уровни всех исследованных MMP, независимыми прогностическими факторами наряду с критерием «T» оказались только уровни последних, но не маркеры системы ангиогенеза.

Таким образом, установлено, что исследованные проангиогенные факторы и MMP могут быть полезны для уточняющей диагностики и корректировки тактики послеоперационного лечения больных раком желудка.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационной работы является комплексное сравнительное иммуноферментное исследование содержания проангиогенных факторов (VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2) и матриксных металлопротеиназ (MMP-2, MMP-7, MMP-9) в сыворотке крови больных раком желудка и здоровых доноров с помощью высокочувствительных иммуноферментных тест-систем с использованием современного оборудования.

В диссертационном исследовании учитывали клиничко-морфологические особенности рака желудка на основании анализа общеклинических, инструментальных, рентгенологических и гистологических данных и проводили статистический анализ показателей общей выживаемости первичных больных раком желудка с учетом клиничко-морфологических факторов и изучаемых

лабораторных маркеров – VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2, MMP-2, MMP-7 и MMP-9.

Положения, выносимые на защиту

1 Концентрации ключевого активатора ангиогенеза VEGF и растворимого рецептора sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо выше, а содержание sVEGFR2 ниже, чем у здоровых доноров группы контроля, однако эти маркеры не обладают диагностической ценностью и не связаны с основными клинико-морфологическими характеристиками рака желудка.

2 Концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо ниже, а уровень MMP-7 выше, чем в группе контроля, и эти маркеры связаны с некоторыми клинико-морфологическими характеристиками заболевания. Уровень MMP-9 не отличается от нормы. Определение MMP-2 и MMP-7 в сыворотке крови может быть использовано в уточняющей диагностике рака желудка: чувствительность MMP-2 при пороговом уровне менее 300 нг/мл составляет 89,1%, специфичность относительно здорового контроля - 81,7%; для MMP-7 при пороговом уровне более 3,8 нг/мл - соответственно 80,4% и 77,9%.

3 На основании анализа показателей пятилетней общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка в зависимости от уровней проангиогенных факторов и матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови можно рекомендовать исследование этих маркеров в качестве дополнительных прогностических факторов для корректировки тактики лечения. Наиболее значимыми критериями ухудшения выживаемости являются уровни VEGF более 420 пг/мл, sVEGFR1 - менее 94 пг/мл, sVEGFR2 - свыше 9,0 нг/м и уровень MMP-2 более 212 нг/мл.

Степень достоверности результатов и апробация результатов

Все этапы диссертационной работы выполнены при непосредственном участии автора. Автором самостоятельно проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Автор лично

проводил набор материала и анализ историй болезни обследуемых пациентов.

Степень достоверности результатов диссертационного исследования основана на полном соответствии с запланированным дизайном исследования, достаточном количестве обследованных пациентов (102 больных раком желудка), использовании современных лабораторных методик, которые полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Работа выполнена в соответствии с общепринятыми этическими и научными принципами. Полученные в ходе исследования данные обработаны с использованием современных методов статистического анализа. Интерпретация и обсуждение полученных результатов выполнены на основании изучения достаточного количества отечественных и зарубежных работ (212 литературных источников). Выводы и практические рекомендации логичны, подкреплены убедительными фактическими данными, вытекают из результатов проведенных исследований и полностью соответствуют цели и задачам диссертационной работы.

Материалы диссертации представлены на IV Российском конгрессе лабораторной медицины (г. Москва, 3-5 октября 2018 г.), IV Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (г. Москва 17-19 декабря, 2018 г.), XXIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Традиции и новации клинической лабораторной диагностики» (г. Москва, 20-22 марта 2018 г.); XXVI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Клиническая лаборатория: от аналитики к диагнозу» (г. Москва, 12-14 мая 2021 г.).

Результаты исследования внедрены в практику лаборатории клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Материалы диссертации используются на лекциях и семинарских занятиях с курсантами циклов повышения квалификации врачей на кафедре клинической биохимии и лабораторной диагностики ГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России.

Апробация диссертации состоялась 21 сентября 2021 г. на совместной

научной конференции онкологического отделения хирургических методов лечения № 6 (абдоминальной онкологии), онкологического отделения хирургических методов лечения №7 (опухолей гепатопанкреатобилиарной зоны), лаборатории клинической биохимии отдела клинико-лабораторной диагностики НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 4 в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности 3.1.6 Онкология, лучевая терапия.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследований», главы «Результатов собственных исследований», обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и указателя цитируемой литературы. Общий объем диссертации 165 листов машинописного текста, иллюстрирован 49 таблицами и 59 рисунками. Указатель литературы содержит 212 источников отечественных и зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ПРОАНГИОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ И МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

(Обзор литературы)

Эпидемиологические данные последних лет свидетельствуют, что рак желудка (РЖ) является пятым наиболее распространенным раком и третьей причиной смерти от злокачественных опухолей у лиц обоего пола. В настоящее время РЖ в России занимает второе место в структуре заболеваемости у мужчин (10,5%) и четвертое – у женщин (7,0%) [7].

Поскольку большинство пациентов на этапе диагностики РЖ поступают с прогрессирующими неоперабельными или метастатическими формами рака желудка, общий клинический результат лечения пациентов остается крайне неудовлетворительным, а показатели пятилетней выживаемости составляют менее 30% [77, 140, 162].

В то же время, в Японии как частота выявления, так и показатели выживаемости больных раком желудка остаются высокими, при этом показатели выживаемости составляют 52% [77, 140, 162].

По данным отечественных онкологов, более чем у 70% первично выявленных пациентов заболевание регистрируется в III-IV стадии, а отдаленные результаты лечения рака желудка продолжают оставаться неудовлетворительными [7]. Показатели пятилетней выживаемости после радикальных вмешательств в большинстве клиник по России не превышают 36% [14, 15, 17, 18].

Несколько десятилетий практические онкологи используют клинико-морфологические признаки первичной опухоли (глубина опухолевой инвазии, гистологический вариант, стадия заболевания (TNM) и др.) как основной инструмент с целью определения риска лимфогенного метастазирования и прогноза заболевания. Однако агрессивность опухолевого процесса не всегда определяется этими критериями [24]. Так, у пациентов с одинаковой стадией TNM РЖ часто наблюдают различные клинические исходы, что указывает на

наличие дополнительных факторов, влияющих на долгосрочные результаты [24]. И среди этих факторов могут быть различные генетические и эпигенетические нарушения. Поэтому важно иметь более полное представление о молекулярных переменных, которые влияют на пути развития РЖ, чтобы разработать соответствующие подходы к его диагностике и лечению [77].

Известно, что РЖ представляет собой биологически гетерогенное заболевание, которое развивается на фоне различных генетических и эпигенетических изменений [29]. Предполагают, что РЖ является следствием последовательного накопления молекулярных и генетических изменений в эпителиальных клетках желудка [198] с вовлечением целого ряда сигнальных путей (например, семейства рецепторов ERBB - PI3K/AKT, Ras/Raf/MAPK, JAK/STAT, PKC) [127]. Однако механизмы опухолевой трансформации и этапы канцерогенеза остаются довольно сложными и недостаточно изученными проблемами [133, 166].

В настоящее время проводится активный поиск дополнительных маркеров, которые предсказывают высокий риск опухолевой прогрессии РЖ, среди них:

- E-кадгерин [26];
- рецептор фактора роста фибробластов FGFR [57];
- рецептор фактора роста гепатоцитов (HGFR, MET) [57];
- рецептор фактора роста рапамицина (mTOR), HER2, активаторы программированной гибели клеток (PD-1/PD-L1, PD-L2) [149];
- ангиогенеза (VEGF/VEGFR) и метастазирования (матриксные металлопротеиназы [29, 118, 149, 182];
- TP53 [30];
- микросателлитная нестабильность (MSI) [178];
- микроРНК [182];
- длинные некодирующие РНК (LncRNAs) [118].

Кроме того, ряд клеточных явлений, таких как микроокружение опухоли, воспаление, окислительный стресс и гипоксия, действуют параллельно с различными молекулярными событиями, чтобы способствовать инициации,

прогрессированию и метастазированию РЖ [106, 118].

Правильная оценка биологических факторов, коррелирующих с метастатическим и инвазивным потенциалом опухоли, прогнозом заболевания и продолжительностью жизни пациентов, важна как при локализованных, так и при местно-распространенных и диссеминированных формах РЖ [3].

Исследование особенностей биологического поведения опухоли является в настоящее время одной из наиболее актуальных проблем онкологии [12]. Среди большого числа молекулярно-биологических показателей, которые могут влиять на клиническое течение РЖ, особое место отводится поиску биологических маркеров, характеризующих пролиферативную и инвазивную активности опухоли, ее метастатический потенциал [29].

1.1 Проангиогенные факторы при онкологических заболеваниях

Одним из наиболее перспективных направлений молекулярно-направленного лечения различных онкологических заболеваний считается антиангиогенная терапия, подавляющая процесс образования новой капиллярной сосудистой сети, снабжающей опухоль кислородом и питательными веществами. Большинство используемых в настоящее время антиангиогенных препаратов направлено на ингибирование активности сигнального пути ключевого стимулятора ангиогенеза – фактора роста эндотелия сосудов (VEGF - vascular endothelial growth factor). Эта система помимо самого VEGF, имеющего несколько молекулярных форм (VEGF A, B, C и D), включает также 3 трансмембранных тирозинкиназных рецептора, из которых наиболее значимыми для регуляции роста кровеносных сосудов являются рецепторы 1 и 2 типа (VEGFR1 и VEGFR2). Основной молекулярной формой самого VEGF, осуществляющей его ангиогенные эффекты, является VEGF A.

Антиангиогенная терапия успешно применяется при таких заболеваниях как рак почки, рак толстой кишки, гепатоцеллюлярный рак и др. [35, 128, 164]. В последнее время предпринимаются также различные более или менее удачные попытки применения антиангиогенных препаратов, в частности, ингибиторов

активности VEGFR2 при РЖ [21, 125]. При этом одной из важнейших проблем при использовании анти-VEGF/VEGFR препаратов до сих пор остается отсутствие четкой взаимосвязи между экспрессией таргетных молекул и эффективностью соответствующего лечения. Экспрессия VEGF и его рецепторов в опухолевой ткани также активно изучается в качестве фактора прогноза онкологических заболеваний, в том числе РЖ [102, 108, 121], независимо от наличия или отсутствия антиангиогенного компонента в схеме лечения.

Помимо изучения тканевой экспрессии регуляторов ангиогенеза, большое внимание уделяется исследованию клинического значения уровня циркулирующих в периферической крови VEGF и растворимых (s) форм его рецепторов при различных онкологических заболеваниях [2, 31, 66, 67, 100, 135]. Эти показатели рассматриваются не только как потенциальные диагностические, прогностические или предикторные маркеры, но и как полезные инструменты для мониторинга эффективности антиангиогенной терапии.

Исследование роли VEGF при РЖ началось в конце 90-х г.г. XX века, когда с одной стороны, была продемонстрирована взаимосвязь экспрессии основной формы VEGF - VEGF A - в опухоли с активностью ангиогенеза, оцениваемой по плотности микрососудов (microvascular density - MVD), и метастазированием в лимфоузлы [84, 122, 165, 172], с другой стороны, было показано, что уровни VEGF в сыворотке крови повышены по сравнению со здоровым контролем, положительно коррелируют со стадией заболевания, глубиной инвазии опухоли в окружающие ткани и наличием отдаленных метастазов [87, 200].

Корреляция уровня VEGF A в сыворотке крови и его экспрессии в опухоли с показателями распространенности РЖ была вскоре подтверждена еще в нескольких исследованиях [50, 63, 94, 96, 138].

1.2 Клиническое значение экспрессии VEGF в ткани рака желудка

Наиболее значимые исследования, посвященные значению экспрессии VEGF A в опухолевой ткани РЖ, и опубликованные за последние 15 лет, представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1 - Работы, посвященные исследованию взаимосвязи экспрессии VEGF A в опухоли с прогнозом клинического течения рака желудка

Ссылка	Число больных	% VEGF+ образцов	Критерий	Пороговый уровень	Результат
Ozdemir F. et al., 2006 [141]	51	56,9	ОВ	> 10%	положительный
Ding S. et al., 2007 [49]	51	66,7	ОВ	> 5%	положительный
Vidal O. et al., 2008 [180]	148	76,4	БРВ	> 0%	положительный
Lee S.J. et al., 2009 [30]	374	90,1	ОВ, БРВ	> 10%	отрицательный
Wang X. et al., 2010 [186]	128	45,3	БРВ	> 30%	положительный
Zhou Y. et al., 2010 [212]	200	81,5	ОВ	> 0%	положительный
Yin L. et al., 2013 [200]	142	61,3	клинико-морфологические корреляции	2-3 балла	положительный
Chen J. et al., 2013, 2014 [36, 37]	214	54,2	ОВ	> 10%	положительный
Hsu J. et al., 2017 [80]	64 HER2+	21,8	ОВ	≥ 6 баллов	положительный
Pang L. et al., 2018 [142]	120	-	клинико-морфологические корреляции	-	положительный

Продолжение таблицы 1.1

Ссылка	Число больных	% VEGF+ образцов	Критерий	Пороговый уровень	Результат
Zhang Y. et al., 2020 [210]	79	70,9	клинико- морфоло- гические корреля- ции	> 5%	положи- тельный

Примечание: БРВ – безрецидивная выживаемость; ОВ – общая выживаемость; положительный результат – высокая экспрессия VEGF A ухудшает выживаемость и/или коррелирует с неблагоприятными прогностическими факторами (стадия, глубина инвазии, наличие регионарных и отдаленных метастазов); отрицательный – не влияет на выживаемость.

Как следует из данных, представленных в таблице 1.1, проведенные исследования значительно различаются по количеству обследованных пациентов (51-174 человек), проценту VEGF+ образцов (21,8–90,1%), критериям положительной (высокой) экспрессии – от >0 до >30%. В одной из работ [80] анализировали только HER2+ опухоли и в качестве критерия использовали балльную систему. Основным критерием оценки прогностической значимости служил показатель общей выживаемости пациентов (ОВ). В этой подборке публикаций только одна группа не смогла подтвердить неблагоприятное влияние высокой экспрессии VEGF A на прогноз РЖ [102]. При этом важно отметить, что именно в это исследование включено наибольшее количество пациентов (n=374).

В 2011-2014 г.г. было опубликовано несколько работ, посвященных мета-анализу всех имевшихся к этому времени данных о взаимосвязи экспрессии VEGF в опухоли с клиническим течением РЖ [38, 83, 115, 145].

Наиболее репрезентативное исследование 2012 г. [115] включало анализ 44 публикаций, в которых описаны данные обследования 4794 пациентов с резецированным РЖ, однако только в 27 из этих работ оценивали тканевую

экспрессию VEGF A; в трех исследованиях изучали уровни циркулирующего VEGF, в остальных – экспрессию других изоформ VEGF – C и D, регулирующих преимущественно лимфоангиогенез.

Тканевая экспрессия VEGF A была оценена у 3411 больных. Соотношение рисков (hazard ratio – HR) при гиперэкспрессии VEGF A в ткани РЖ составило во всей группе для ОВ 1,96 (95% ДИ, 1,70–2,25), для безрецидивной выживаемости (БРВ) – 2,04 (95% ДИ, 1,59–2,60). Отдельно оценили подгруппы с критериями VEGF-положительности превышающими 10% и менее 10%: HR составило 1,82 (95% ДИ, 1,53–2,17) и 2,89 (95% ДИ, 2,21–3,79) соответственно. Интересно отметить, что в данном исследовании было также показано, что экспрессия VEGF A в значительно большей степени влияет на прогноз РЖ у пациентов азиатского происхождения, чем в неазиатской популяции.

Согласно наиболее позднему мета-анализу [83], включавшему 20 публикаций, в 14 из которых был проведен многофакторный анализ, только 13 исследовательских групп (65%) продемонстрировали неблагоприятный эффект гиперэкспрессии VEGF A на прогноз клинического течения РЖ. По результатам мета-анализа HR для ОВ при гиперэкспрессии VEGF A в ткани РЖ составляет 1,57 (95% ДИ, 1,30–1,84), для БРВ – 1,85 (95% ДИ, 1,39–2,32).

Таким образом, значительное количество исследований, несмотря на различия в критериях и репрезентативности выборок, достаточно согласованно свидетельствуют о неблагоприятной роли высокой тканевой экспрессии VEGF A в прогнозе РЖ.

Как уже отмечено, в нескольких исследованиях было проанализировано клиническое значение экспрессии более редких изоформ VEGF - C и D - при РЖ. В 10 работах, посвященных экспрессии VEGF C [34, 49, 70, 86, 95, 102, 175, 185, 201], было обследовано 1164 пациента, размер выборок колебался от 50 до 371 больных; критерий положительного окрашивания - от >5% до >50%; доля VEGF C положительных образцов – от 25,5 до 75%. Неблагоприятное влияние высокой экспрессии VEGF C на прогноз общей выживаемости больных РЖ выявлено в 8 из 10 исследований. По данным мета-анализа [115], HR для ОВ составило 2,21

(95% ДИ, 1,58-3,09); БРВ не анализировали.

Экспрессия VEGF D изучена в 6 исследованиях [46, 85, 155, 160, 201], включавших суммарно 567 пациентов. Размер выборок колебался от 72 до 143 больных; критерий положительного окрашивания - от >0 до >10%; доля VEGF D положительных образцов – от 36,4 до 72,2%. В трех работах оценивали только ОВ, в двух – только БРВ, и в одной – оба показателя. По данным мета-анализа [115], HR для ОВ составило 1,73 (95% ДИ, 1,25-2,40); для БРВ - 2,30 (95% ДИ, 1,66-3,18). Совсем недавно было показано, что негативный эффект на прогноз РЖ оказывает также высокая экспрессия VEGF B [120].

Таким образом, неблагоприятную роль в пост-операционном течении РЖ играют, по-видимому, все изоформы VEGF, однако для подтверждения этих выводов требуются дальнейшие более развернутые и структурированные исследования.

1.3 Клиническое значение VEGF, циркулирующего в периферической крови больных раком желудка

Всего в базе данных PubMed за период с 2000г. по 2021г. найдена 21 публикация, посвященная исследованию значения уровня VEGF в сыворотке или плазме крови больных РЖ. Основная информация об этих исследованиях суммирована в таблице 2.1.

Таблица 1.2 - Работы, посвященные исследованию клинического значения VEGF, циркулирующего в периферической крови больных раком желудка

Ссылка	Число больных	Исследованный материал	Диапазон значений	Пороговый уровень*	Результат
Yoshikawa T. et al., 2000 [202]	54	плазма	-	10 пг/мл	корреляция с неблагоприятными прогностическими факторами и плохим прогнозом

Karayianna- kis A.J. et al., 2002[87]	58	сыворот- ка	282–730 пг/мл	533 пг/мл	достоверное по- вышение относи- тельно контроля; корреляция с не- благоприятными прогностическими факторами и пло- хим прогнозом
Ohta M. et al., 2003 [138] Konno H. et al., 2003 [96]	37	сыворот- ка и плазма	100-910 пг/мл (сыворот- ка); 0-225 пг/мл (плазма)	320 пг/мл (сыворот- ка); 37 пг/мл (плазма)	достоверное по- вышение относи- тельно контроля (только плазма); нет корреляции с клинико- морфологически- ми факторами и прогнозом
Kim H.K. et al., 2003 [94]	109	плазма	21,9–34,4 пг/мл (Q1-Q3)	28,6 пг/мл	достоверно не от- личается от кон- троля; при IV ста- дии значимо вы- ше, чем при I; маркер отдален- ных метастазов
Ding S. et al., 2005 [50]	135	сыворот- ка и плазма	342,1±277,8 пг/мл (сыворот- ка); 74,1±96 пг/мл (плазма)	-	достоверное по- вышение относи- тельно контроля; снижение после удаления опухоли

Продолжение таблицы 1.2

Ding S. et al., 2005 [50]	135	сыворотка и плазма	342,1±277,8 пг/мл (сыворотка); 74,1±96 пг/мл (плазма)	-	достоверное повышение относительно контроля; снижение после удаления опухоли
Oh S.Y. et al., 2008 [136]	114	сыворотка	6–1076 пг/мл	105 пг/мл	корреляция с размером опухоли и наличием метастазов в лимфоузлах; не влияет на выживаемость
Vidal O. et al., 2009[179]	97	сыворотка	28–1862 пг/мл	320 пг/мл	достоверное повышение относительно контроля; корреляция с неблагоприятными прогностическими факторами и прогнозом
Seo H.Y. et al., 2010 [156]	181	сыворотка	30,5–1784 пг/мл	1,626 пг/10 ⁶ тромбоцитов	высокий уровень ухудшает прогноз ОВ и БРВ при неоперабельном раке
Tsirlis T.D. et al., 2010 [174]	40	сыворотка	-	VEGF-C/VEGF-D <2,7	соотношение VEGF-C/VEGF-D можно рассматривать как диагностический маркер
Oh S.Y. et al., 2012 [137]	100	сыворотка	50,0–1647 пг/мл	398,6 пг/мл	высокий исходный уровень VEGF – фактор неблагоприятного прогноза распространенного рака при химиотерапии

Halmaciu I. Et al., 2012 [72]	38	сыворотка	376,1±247,1	173 пг/мл	повышение относительно контроля; ухудшение выживаемости
Wu J. Et al., 2013 [191]	60	сыворотка	132,9 ± 10,5 пг/мл	-	достоверное повышение относительно контроля; корреляция с неблагоприятными прогностическими факторами
Villarejo-Campos P. et al., 2013 [181]	59	сыворотка	405,4±298,3 пг/мл	761 пг/мл	корреляция с неблагоприятным прогнозом; снижение через 6 мес после удаления опухоли
Bilgic C.I. et al., 2015 [31]	30	сыворотка	-	-	корреляция с неблагоприятными прогностическими факторами
Ock C.Y. et al., 2015 [135]	70	сыворотка	1,2–1146,8 пг/мл	207,0 пг/мл	корреляция с неблагоприятным прогнозом
Han K. et al., 2016 [74]	1172	плазма	-	111 пг/мл	корреляция с неблагоприятным прогнозом ОВ; лучший эффект бевацизумаба у пациентов с высоким уровнем VEGF

Cheng, R. et al., 2017 [41]	92	сыворотка	65,2±9,2 пг/мл	-	снижение после химиотерапии, включающей со-рафениб
Chen Z. et al., 2018 [40]	150	сыворотка	406±37,6 пг/мл	-	снижение на фоне терапии FOLFOX4 в комбинации с эмульсией Brucea javanica
Feng X. et al., 2020 [61]	147	сыворотка	-	138±12 и 89,0±6,9 пг/мл	средний уровень в группе с рецидивом выше, чем в группе без рецидива

Примечание: *пороговый уровень при оценке влияния циркулирующего VEGF на выживаемость

Как показывают данные таблицы 1.2, опубликованные работы весьма неоднородны. Количество обследованных больных РЖ в подавляющем большинстве исследований колебалось в пределах от 30 до 181 (медиана – 81 пациент). Исключение представляет исследование [74], в которое вошли 1172 пациента, лечившихся по протоколу AVAGAST клинических испытаний анти-VEGF направленного препарата бевацизумаб. В трёх исследованиях использовали только плазму крови [74, 94, 202], в 3 – и сыворотку, и плазму [96, 138, 50], в остальных 14 – только сыворотку. В большинстве исследований уровень циркулирующего VEGF определяли с помощью наборов для прямого иммуноферментного анализа Quantikine® (R&D Systems, США), в четырех – другими методами ИФА [40, 41, 61, 74], а С.У.Оск et al. (2015, 2016) использовали мультиплексный ИФА.

В нескольких работах сопоставляли уровни циркулирующего VEGF у больных раком желудка с показателями практически здоровых людей и/или пациентов с неопухолевыми заболеваниями желудка. Статистически значимое

увеличение концентрации маркера относительно как здорового, так и патологического контроля выявлено в шести исследованиях [50, 72, 87, 138, 179, 191]. В 2003 году Н.К. Kim совместно с другими учёными не нашли отличий уровней VEGF в плазме крови больных РЖ от показателей контроля [94], а М. Ohta [138], исследовавший параллельно и сыворотку, и плазму крови, выявил значимое различие только для показателей плазмы. Следует отметить, что ни в одном из этих исследований не было найдено порогового уровня, позволяющего использовать VEGF в качестве диагностического серологического маркера РЖ. Только в 2012 году Т. D. Tsirlis с группой учёных, изучавший уровни VEGF-C и VEGF-D в сыворотке крови у 40 больных РЖ и 40 пациентов без опухолевой патологии, предложили соотношение концентраций этих двух изоформ VEGF $< 2,7$ в качестве диагностического критерия [174].

В то же время в нескольких исследованиях отмечено значимое снижение уровня VEGF после удаления первичной опухоли [50, 87, 181] или на фоне успешного консервативного лечения, что позволяет рассматривать его в качестве маркера для мониторинга и оценки эффективности лечения РЖ. Так, в работе [87], включавшей 58 больных раком желудка, установлено, что уровень VEGF в сыворотке крови снижается через 7-30 дней после радикальной резекции опухоли. В 2005 году А. Ding S. с группой учёных, определявших содержание VEGF А в плазме и сыворотке крови у 135 больных раком и 48 пациентов с доброкачественными заболеваниями желудка, показали, что уровень этого маркера не меняется на протяжении семи дней наблюдения без оперативного вмешательства, но значительно снижается после удаления опухоли [50].

В качестве критериев прогностической значимости оценивали либо просто взаимосвязь с клинико-морфологическими факторами прогноза РЖ, либо общую и /или безрецидивную выживаемость. В большинстве исследований, за исключением [96, 138], выявлена взаимосвязь повышения уровня VEGF в сыворотке или плазме крови с такими неблагоприятными прогностическими факторами, как поздняя стадия заболевания, значительное распространение первичной опухоли и ее инвазия в окружающие ткани (индекс Т), наличие

метастазов в лимфоузлах (индекс N) и отдаленных метастазов (индекс M). В 2003 году Н.К.Ким, в соавторстве [94], даже предложил использовать уровень VEGF в плазме крови в качестве маркера наличия отдаленных метастазов.

Ухудшение выживаемости пациентов при высоких уровнях VEGF A в сыворотке или плазме крови обнаружено в 8 исследованиях [72, 74, 87, 135, 137, 156, 179, 181], а в двух работах такой взаимосвязи не найдено [136, 138]. На ранних этапах исследования изучали, в основном прогноз течения РЖ после радикальной резекции, позднее стали оценивать также влияние исходных уровней VEGF на прогноз неоперабельного рака на фоне традиционной химиотерапии [137, 156], а в исследованиях последних лет изучали, как правило, взаимосвязь исходных уровней VEGF и их динамики с эффектом различных антиангиогенных препаратов [40, 41, 74]. В качестве пороговых значений при оценке влияния VEGF на выживаемость пациентов использовали, как правило, показатель медианы в общей группе больных РЖ. Эти пороговые значения колебались в различных исследованиях для сыворотки крови в пределах от 105 до 761 пг/мл (медиана – 320 пг/мл); для плазмы – 10–111 пг/мл (медиана – 32,8 пг/мл).

В целом, несмотря на ограниченное число пациентов, включенных в большую часть исследований (Таблица 2), различия в количественных критериях и показателях, использованных для оценки прогноза заболевания, можно заключить, что повышенный уровень VEGF A, циркулирующего в периферической крови больных РЖ, свидетельствует о неблагоприятном прогнозе заболевания как при хирургическом, так и при консервативном лечении. Этот маркер не является диагностически значимым, но может успешно использоваться для мониторинга эффекта лечения (в первую очередь специфическими антиангиогенными препаратами) и/или для выявления рецидива.

1.4 Клиническое значение рецепторов VEGF при раке желудка

В доступной литературе удалось найти лишь единичные публикации, в которых представлены результаты изучения рецепторов VEGF в ткани РЖ или содержания их растворимых форм в сыворотке крови.

В единственной работе, посвященной экспрессии VEGFR2 (KDR) в опухоли, F.Ozdemir с некоторыми учёными в 2006 году изучали ее влияние на выживаемость 51 больного РЖ после радикальной или субтотальной резекции. Взаимосвязи экспрессии VEGFR2 с полом пациентов, типом операции, наличием лимфогенных или гематогенных метастазов, инвазией в слизистую оболочку, а также выживаемостью после $24,2 \pm 15,3$ месяцев наблюдения выявлено не было.

Еще в двух исследованиях была изучена экспрессия VEGFR 3, вовлеченного в регуляцию лимфоангиогенеза. В частности, J.Sung с соавторами в 2008 году [169] обследовали 109 больных РЖ, в опухолях 19 (17,4%) из них была выявлена экспрессия VEGFR 3, которая коррелировала с классификацией по Лорен (68,4% при интестинальном, 31,6% - при диффузном типе РЖ, $p=0,058$). VEGFR 3 чаще выявлялся при ранних, чем при распространенных стадиях (28 и 16,2% соответственно), его экспрессия была ассоциирована с улучшением ОВ больных распространенным раком в однофакторном анализе и сохраняла прогностическое значение при многофакторном анализе. В то же время F.Nan с соавторами в 2006 году, обследовавшие 188 больных РЖ обнаружили более высокую экспрессию VEGFR 3 в опухолях пациентов с метастазами в лимфоузлах, чем у пациентов без таких метастазов [73].

Всего в одном исследовании, наряду с множеством других показателей, включая VEGF A, изучали содержание растворимой формы VEGFR 2 (sVEGFR 2) в сыворотке крови больных РЖ [135]. В исследование было включено 70 пациентов, уровень sVEGFR 2 определяли стандартными наборами серии Quantikine[®] (R&D Systems, США). Содержание маркера в сыворотке крови колебалось в пределах от 742,8 до 2172,8 (медиана – 1324,6) пг/мл. Не было выявлено корреляционной связи уровней sVEGFR 2 и VEGF. Сам по себе sVEGFR 2 не оказывал влияния на выживаемость больных РЖ, однако прогностическое значение VEGF, продемонстрированное в этом исследовании по разному проявлялось в подгруппах пациентов с высоким (выше медианы) и низким содержанием sVEGFR 2 в сыворотке крови: у пациентов с высоким уровнем рецептора прогностическое значение VEGF не проявлялось, а у больных

с низким уровнем sVEGFR 2 медиана ОВ больных с высоким уровнем VEGF составила 10,9 месяцев, с низким – 16,8 месяцев ($p=0,036$). Значимое влияние на выживаемость больных РЖ оказывало соотношение VEGF/sVEGFR 2: медиана 11,2 месяцев при соотношении более 0,75 и 16,7 месяцев - при более низких показателях. Это соотношение сохраняло прогностическое значение и в многофакторном анализе.

1.5 Анти-VEGF направленная терапия при раке желудка

Возможности использования различных видов антиангиогенных препаратов для улучшения результатов лечения РЖ довольно активно изучаются в последнее десятилетие. В экспериментальных исследованиях на клетках РЖ *in vitro* и ксенографтах опухолей человека *in vivo*, доказана возможность подавления или торможения его пролиферации с помощью моноклональных антител к самому фактору роста и/или его рецепторам [93, 110, 124, 163], специфических и неспецифических ингибиторов VEGFR-тирозинкиназ [65], антисмысловых мРНК к различным компонентам сигнального пути VEGF [113, 143, 167], а также некоторых микроРНК [39, 44, 82, 130, 209].

Клинические испытания проходили пока только классические анти-VEGF/VEGFR препараты – моноклональные антитела и ингибиторы тирозинкиназ. Рассмотрим последовательно результаты этих испытаний, которые суммированы в настоящее время в нескольких обзорных и мета-аналитических исследованиях [21, 125, 147].

1.6 Моноклональные антитела

Бевацизумаб (Авастин) – моноклональное антитело к VEGF (наиболее известный и широко применяемый антиангиогенный препарат) - исследован в двух протоколах III [139, 159] и трех - II фазы клинических испытаний. Самое большое исследование бевацизумаба при РЖ проводили по протоколу III фазы AVAGAST [74, 139, 177]. В нем сравнивали две группы по 387 пациентов с распространенным РЖ, одна из которых получала только комбинацию цисплатина и капецитабина, а вторая перед началом химиотерапии получала

бевацизумаб. Добавление антиангиогенного препарата незначительно, но статистически значимо улучшало как ОВ (медианы соответственно 12,1 и 10,1 месяцев) и выживаемость без прогрессирования (медианы соответственно 6,7 и 5,3 месяцев), так и суммарный ответ на терапию (46,0% против 37,4%; $p=0,0315$). Авторы также показали, что эффект бевацизумаба в большей степени проявлялся у пациентов с диффузным и дистальным недиффузным РЖ, чем у больных с проксимальным недиффузным типом заболевания.

В то же время, в исследовании II фазы [157], включавшем 202 больных распространенным РЖ, в котором изучали влияние бевацизумаба на эффективность комбинации иринотекана с цисплатином, не было выявлено положительного влияния антиангиогенного препарата на эффект лечения.

Рамуцирумаб - моноклональное антитело к VEGFR2 – было включено в арсенал препаратов, используемых для лечения распространенного РЖ, на основании протокола REGARD, где его исследовали в качестве монотерапии для ранее леченных больных распространенным РЖ и гастро-эзофагального перехода [188]. В исследование вошли 355 пациентов с прогрессированием заболевания после ранее проведенной терапии первой линии на основе препаратов платины и фтор-пиримидинов. Медиана ОВ составила 5,2 месяцев у больных, получавших рамуцирумаб, и 3,8 месяца в группе плацебо (HR 0,776; 95% ДИ; 0,603-0,998; $p=0,047$). Положительный эффект препарата сохранялся и при многофакторном анализе.

В глобальном исследовании RAINBOW [64, 161] сравнивали монотерапию паклитакселом с комбинацией пацлитаксела и рамуцирумаба. По предварительным данным, добавление рамуцирумаба увеличивало медиану ОВ с 7,36 до 9,63 месяцев, а выживаемость без прогрессирования - с 2,9 до 4,4 месяца.

1.7 Ингибиторы тирозинкиназы VEGFR

Сунитиниб исследовали в трёх протоколах II фазы, как в качестве монотерапии, так и в комбинации с доксетакселом [28, 107, 129]. Ни в одном из них не было обнаружено достоверного улучшения выживаемости без

прогрессирования у больных распространенным РЖ.

Сорафениб изучали в комбинации с доксетакселом и цисплатином по протоколу II фазы ECOG (ECOG 5203) [168] у больных распространенным раком желудка и гастро-эзофагального сочленения. В исследование вошло 44 пациента, не получавших ранее химиотерапию. Авторы полагают, что получены обнадеживающие результаты по эффективности и приемлемой токсичности.

I-II фазу клинических испытаний прошли еще два ингибитора тирозинкиназ – седираниб и апатиниб. Для первого из них продемонстрирована приемлемая токсичность и предполагаемый противоопухолевый эффект при дозе 20 мг/день в сочетании с цисплатином и капецитабином [195]. Для апатиниба, использовавшегося в режиме монотерапии, выявлено статистически значимое улучшение ОВ и выживаемости без прогрессирования у больных химиорезистентным РЖ [105].

Таким образом, сигнальный путь VEGF играет важную роль при РЖ. Компоненты этого сигнального пути – в первую очередь, VEGF A и VEGFR 2 - являются значимыми факторами прогноза заболевания, а также могут быть полезны для мониторинга эффективности проводимого лечения. Особое значение исследование этих маркеров приобретает в настоящее время, когда активно развиваются различные методы антиангиогенной терапии, некоторые из которых уже показали определенную эффективность при РЖ.

1.8 Клиническое значение MMP в инвазии и метастазировании опухолей желудка

В настоящее время уже не вызывает сомнения тот факт, что способность к инвазии окружающие ткани и метастазирование в отдаленные органы – одна из ведущих характеристик злокачественных новообразований, связанных с разрушением окружающей базальной мембраны и внеклеточного матрикса (ВКМ) ассоциированными с опухолью протеазами, которые участвуют также в опухолевом ангиогенезе, способствуя распространению новых капиллярных сосудов [75, 117]. Деградацию ВКМ считают неотъемлемым этапом опухолевой

прогрессии.

ВКМ является ключевым компонентом, оказывающим активный эффект на все признаки рака, включая ангиогенез. E. Andreuzzi в соавторстве в 2020 году суммировал текущие знания о роли ВКМ и его влиянии на функцию эндотелиальных клеток и внутриопухолевую васкуляризацию в контексте РЖ. ВКМ воздействует как непосредственно на эндотелиальные, так и опосредованно на опухолевые клетки путем его ремоделирования и последующего высвобождения факторов роста. Авторы полагают, что более глубокое понимание роли ВКМ и его ремоделирования во время прогрессирования РЖ имеет ключевое значение для разработки новых, более эффективных, целенаправленных методов лечения [27]. Фактически, природа микросреды в различных отделах желудка может существенно влиять не только на развитие опухоли, но и на ее реакцию при лечении. В частности, важным компонентом микросреды и потенциальной терапевтической мишенью является сосудистая сеть.

Некоторые исследователи пытались найти корреляцию между реактивностью MMP/TIMP и экспрессией ангиогенных факторов, а также взаимосвязь между этими параметрами и клинико-патологическими особенностями больных РЖ [51]. Авторы выявили, что низкие уровни экспрессии MMP-2 в опухолевых и стромальных компартментах были в значительной степени связаны с неблагоприятным прогнозом - вероятность того, что пациент умрет в течение 60 месяцев после операции составляла около 80%, если экспрессия MMP-2 была низкой, как в неопластическом, так и в стромальном компартментах.

Кроме того, стало известно, что некоторые MMP, в частности желатиназы MMP-2, MMP-9 и MMP мембранного типа 1 (MT1-MMP), связаны с ангиогенезом. Потенциальная роль этих протеаз вовремя ангиогенного процесса включает деградацию базальной мембраны и периваскулярных компонентов ВКМ, освобождение скрытых биологически релевантных сайтов в компонентах ВКМ, модуляцию ангиогенных факторов и продукцию эндогенных ингибиторов ангиогенеза. Один из наиболее ранних обзоров M.M.Handsley с группой учёных в

2005 году объединяет то, что в настоящее время известно о функциях MMP и тесно связанных с ними ADAM (домен дезинтегрин и металлопротеиназы) и ADAMTS (дезинтегрин и металлопротеиназа с тромбоспондиновыми мотивами) в ангиогенезе, и рассматривает, как эта информация может быть полезна при манипуляциях с ангиогенным процессом с целью ограничения прогрессирования опухоли [76].

Известно, что MMP – семейство, состоящее из более 20 секретируемых или связанных с поверхностью клетки цинк-зависимых эндопептидаз, способных гидролизовать практически все компоненты ВКМ - вовлечены во все этапы прогрессирования опухолевого процесса [123]. В зависимости от структурно-функциональных особенностей все MMP делят на несколько подсемейств. Основными подсемействами MMP являются коллагеназы широкого спектра действия (например, MMP-1, MMP-8, MMP-13), желатиназы/специфические коллагеназы коллагена IV типа (MMP-2 и MMP-9), стромелизины (MMP-3 и MMP-10), матрилизины (MMP-7 и MMP-26) и MMP мембранного типа [183].

Известно, что активация MMP в межклеточном пространстве специфически подавляется эндогенными тканевыми ингибиторами (ТИМП), четырьмя структурно родственными белками, которые соединяются с цинк-связывающими участками активных MMP в эквимолярном соотношении [148].

Роль MMP в прогрессии и метастазировании опухолей впервые определена L.A.Liotta с группой учёных в начале 1980-х годов, когда был обнаружен протеолиз коллагена IV типа в процессе инвазии и метастазирования меланомы кожи и стало ясно, что он обусловлен, главным образом, протеолитической активностью MMP-2 и/или MMP-9. Первоначально предполагали, что опухолевые клетки самостоятельно вырабатывают MMP, а стромальные клетки индуцируют секрецию MMP опухолями. Позднее была сформулирована концепция о том, что стромальные клетки сами также могут экспрессировать MMP. Анализ методом гибридизации *in situ* показал, что стромальные клетки экспрессируют MMP даже чаще, чем опухолевые. Выделение многих MMP клетками соединительной ткани, включая фибробласты и воспалительные клетки,

является ответной реакцией на возникновение опухоли. Однако существуют исключения, например: матрилизин (ММР-7), как правило, экспрессируется эпителиальными клетками опухоли, а в случае ММР-2 известно, что ее мРНК продуцируется преимущественно стромальными клетками, но сам фермент секретируется и активируется на границе опухолевой и нормальной ткани [47].

Кроме того, функцией ММР может быть активация других металлопротеиназ, усиливающая процесс деградации ВКМ, в результате которого опухолевая клетка может свободно мигрировать в строму и дальше интравазировать в кровеносное русло с последующей экстравазацией, основывая новый метастатический очаг. Опухолевая клетка находится в тесном контакте с ВКМ на всех этапах инвазии и метастазирования. Регуляторные пути, влияющие на деградацию ВКМ в процессе канцерогенеза, как правило, нарушаются или отмечается патологическая экспрессия регуляторных белков, провоспалительных цитокинов, что помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования [117].

В экспериментальных исследованиях доказана взаимосвязь между повышением экспрессии ММР опухолевыми и/или стромальными клетками с прогрессией, метастазированием и ангиогенезом новообразований [48]. Для многих ММР и ТИМП продемонстрировано увеличение экспрессии в опухолях различного генеза, причем активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы [47].

В ретроспективных клинических исследованиях отмечена повышенная экспрессия различных ММР в первичном опухолевом очаге и/или метастазах, ассоциированная со степенью дифференцировки опухоли, глубиной инвазии, развитием отдаленных метастазов, а также с неблагоприятным прогнозом и низкой выживаемостью больных различными злокачественными новообразованиями [47, 187]. В связи с этим, различные представители семейства ММР рассматриваются в настоящее время в качестве возможных биологических маркеров прогноза и лекарственной чувствительности злокачественных опухолей,

а использование природных и синтетических ингибиторов ММР считается перспективным подходом к противоопухолевой терапии [53].

В некоторых исследованиях показано также, что повышение уровня ММР в сыворотке/плазме крови онкологических больных коррелирует с активностью метастатического процесса и может рассматриваться, как фактор плохого прогноза [4-6, 13]. В то же время, известно, что растворимые ММР в периферической крови находятся, в основном, в форме профермента или в комплексе с природными ингибиторами, такими как, ТИМП или α 2-макроглобулин, поэтому повышенная экспрессия ММР часто сопровождается увеличением экспрессии соответствующих ТИМП [51], а функциональное значение циркулирующих в периферической крови ММР в прогрессии опухоли до конца не ясно.

Рак желудка – одна из наиболее инвазивных злокачественных опухолей, причем у большинства больных заболевание диагностируется на поздних стадиях, когда опухоль уже распространена по брюшине [18]. Трудности ранней диагностики и высокий метастатический и инвазивный потенциал определяют необходимость углубленного изучения механизмов распространения РЖ, знание которых могло бы стать основой для создания новых препаратов, целенаправленно воздействующих на процессы метастазирования и инвазии. В этой связи исследование ММР при РЖ – одно из наиболее клинически перспективных направлений в области изучения роли этой протеолитической системы при новообразованиях у человека.

Наиболее изучены желатиназы А (ММР-2) и желатиназа В (ММР-9), известные также как протеазы, гидролизующие коллаген IV типа – основной компонент базальной мембраны эпителиальных опухолей. Это специфические коллагеназы, но они также разрушают другие существенные компоненты ВКМ и обладают желатинолитической (желатиназной) активностью. Регуляция активности коллагеназ является сложным и до сих пор до конца не изученным процессом, важнейшую роль в котором играют ТИМП. В экспериментальных исследованиях продемонстрирована важная роль ММР-2 и ММР-9 в

формировании инвазивного потенциала клеток опухолей [89, 90], причем индукция MMP является одним из ключевых механизмов проявления проинвазивных эффектов эпидермального [58, 59] и β -трансформирующего факторов роста [151]. Показано также, что эти протеазы находятся в комплексном взаимодействии с ключевым активатором ангиогенеза – VEGF: с одной стороны, коллагеназы индуцируют секрецию VEGF опухолевыми клетками, что способствует, в частности, образованию асцита [68], с другой стороны, секретлируемый опухолью VEGF регулирует экспрессию коллагеназ в строме, влияя на инвазивную способность опухоли [59]. Известно, что активность MMP-2 и MMP-9 в культивируемых клетках опухолей увеличивается и под действием гормонов стресса (катехоламинов), при этом в два – три раза возрастает инвазивность опухолевых клеток в тестах *in vitro* [119].

Рядом исследований было продемонстрировано, что высокий уровень экспрессии и активности желатиназ наблюдается в злокачественных новообразованиях человека различных локализаций, таких как опухоли головы и шеи, рак легкого, толстой кишки, поджелудочной железы, мочевого пузыря, почки, яичников, пищевода, тела матки и желудка [10, 11, 22, 23, 88, 109, 158, 176, 194, 211].

Многие исследователи в своих работах отмечали повышенную экспрессию MMP-2 и MMP-9 в ткани первичных опухолей желудка по сравнению с образцами гистологически неизменной слизистой желудка [78, 97, 131, 189, 203, 207]. Подтверждая роль желатиназ (MMP-2 и MMP-9) в опухолевой прогрессии, авторы указывают на различную роль каждого фермента в этом процессе. Существует мнение, что MMP-9 является более ценным маркером, чем MMP-2, для оценки прогноза заболевания у больных РЖ [206].

Z.Y. Wu с группой учёных в 2006 году исследовали одновременно экспрессию MMP в первичной опухоли и метастазах в регионарных лимфоузлах больных РЖ [193]. В частности, в этой работе изучали экспрессию MMP-2 в 850 лимфоузлах и клетках первичной опухоли желудка 30 больных после проведенной гастрэктомии с лимфоаденэктомией. Гиперэкспрессия MMP-2

выявлена у 21 пациента (70%), при этом наблюдали статистически значимую взаимосвязь маркера с глубиной инвазии опухоли, наличием метастазов в регионарных лимфоузлах и степенью дифференцировки опухоли. Микрочастоты обнаружены в 77 (12,5%) лимфоузлах и у 14 (46,7%) пациентов. У больных с повышенной экспрессии MMP-2 в первичной опухоли микрочастоты в лимфоузлах наблюдали гораздо чаще, однако уровень не достиг статистической значимости.

Следует подчеркнуть, что система MMP/TIMP, и в первую очередь, коллагеназы, играют ключевую роль в процессах ремоделирования ВКМ [32, 69, 146, 150, 184].

В. Mroszko с группой учёных в 2009 году провели сравнительный анализ концентраций MMP-9 и TIMP-1 в плазме и сыворотке крови 73 больных РЖ и у 61 здорового донора [132]. Результаты показали более высокие уровни TIMP-1 и MMP-9 в плазме и сыворотке крови больных РЖ по сравнению с контролем. При этом, для TIMP-1 было выявлено, что площадь под кривой ROC ($AUC=0,961$) с диагностической чувствительностью (89%) и специфичностью (91%) в плазме крови была выше, чем для MMP-9. Эти данные свидетельствуют о том, что TIMP-1 в плазме крови является лучшим биомаркером, чем TIMP-1 в сыворотке, и может быть полезен для диагностики РЖ и оценки прогноза общей выживаемости.

S. Peduk с соавторами в 2018 году показали, что уровни СК18, MMP-9 и TIMP-1 положительно коррелировали с патологическим N и стадией РЖ ($p<0,05$). Было обнаружено, что средние значения СК-18, MMP-9 и TIMP-1 в метастатических регионарных лимфоузлах и на клинической стадии 3 были выше, чем средние значения для пациентов с отрицательными клиническими лимфатическими узлами и на клинической стадии 2 ($p<0,05$). Авторы отметили, хотя предоперационные измерения сывороточных СК18, MMP-9 и TIMP-1 у больных РЖ, которым назначена операция, не помогли оценить резектабельность опухоли, они были полезны для прогнозирования РЖ при стадии N3 [144].

При иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании выраженную

экспрессию MMP-2 и MMP-9 наблюдали не только в цитоплазме опухолевых клеток, но и в матриксе вокруг них, и довольно часто обнаруживали в инвазивном фронте опухолей. По данным авторов существует статистически значимая взаимосвязь между уровнями экспрессии MMP-2 и MMP-9 в ткани РЖ и степенью дифференцировки опухоли, глубиной инвазии, стадией TNM (UICC, 2002) [60, 154, 192]. Однако эти данные подтверждаются не во всех исследованиях.

Большинство работ сосредоточено на изучении влияния экспрессии MMP-2 и MMP-9 на метастатический потенциал РЖ. Авторами показана важная роль ферментов в лимфогенном распространении опухоли. Выявлены корреляционные взаимодействия между экспрессией MMP-2 и MMP-9 в первичной опухоли и наличием у больных РЖ не только метастазов, но и микрометастазов в регионарных лимфоузлах [45, 79, 131, 192, 206].

В некоторых работах отмечено, что для больных РЖ с повышенной экспрессией MMP-2 и MMP-9 в опухоли после ее хирургического удаления характерно снижение показателей как общей, так и безрецидивной выживаемости, по сравнению с пациентами с низкой активностью ферментов [25, 42, 45, 52]. С другой стороны, не все исследователи обнаруживали значимую взаимосвязь между экспрессией MMP-2 и выживаемостью больных РЖ [98, 131].

Р. Kumar с группой учёных в 2021 году обнаружили экспрессию мРНК VEGF, E-кадгерина и MMP (MMP-1, MMP-2, MMP-9) в 73 тканях РЖ и 27 нормальных контрольных тканях с помощью PCR-RT [99]. Для определения диагностической значимости VEGF, MMP и E-кадгерина авторы провели анализ чувствительности и специфичности этих маркеров. Впоследствии была проанализирована связь экспрессии VEGF, MMP и E-кадгерина с клинико-патологическими характеристиками и прогнозом РЖ. Результаты экспрессии мРНК показали, что E-кадгерин был значимо подавлен в 47,9% РЖ по сравнению с контролем. В 90,4% случаев РЖ изменений в экспрессии VEGF не наблюдали, а MMP-1, MMP-2, MMP-9 были гиперэкспрессированы в 13,7%, 28,8% и 11% РЖ, соответственно, со статистически значимым изменением в MMP-2 ($p \leq 0,0001$) и

ММР-9 ($p=0,027$) по сравнению с контролем. Наши результаты подтверждают необходимость дополнительных исследований для выяснения прогностической роли этих факторов в развитии РЖ.

Некоторые исследователи выявили связь экспрессия ММР-7 в РЖ с N стадией опухоли, а много факторный анализ Кокса показал, что только совместная экспрессия ММР-7 и ТИМР-1 могут служить потенциальным независимым прогностическим фактором общей выживаемости у больных РЖ ($HR=1,74$; 95% ДИ; 1,08–2,80). Результаты стратифицированного анализа также показали, что прогностическая ценность коэкспрессии ММР-7 и ТИМР-1 была выше у пациентов с показателем N3 и не получавших химиотерапию [211].

Особый интерес вызывают тканевые ингибиторы ММР - ТИМР. Так, в работе 2021 года Z.Li, в соавторстве, исследовал диагностическую и прогностическую роль ТИМР (включая ТИМР-1, ТИМР-2, ТИМР-3 и ТИМР-4) [109]. Авторы выявили, что экспрессия ТИМР-1 в ткани РЖ была выше, чем в нормальной слизистой желудка. При этом уровни экспрессии ТИМР-3 и ТИМР-4 в нормальной слизистой желудка были выше, чем в ткани РЖ. Обнаружено, что ТИМР-1, ТИМР-3, ТИМР-4 имеют потенциальную диагностическую значимость ($AUC=0,842, 0,729, 0,786$ соответственно; все $p < 0,01$). Низкая экспрессия ТИМР-2 и ТИМР-3 связана с благоприятной общей выживаемостью больных РЖ (все $p < 0,05$). Также обнаружено, что ТИМР-2 и ТИМР-3, которые значительно влияли на прогноз, выполняли некоторые функции, такие как обработка тРНК, обработка нкРНК пути клеточного цикла. Подавление ТИМР-3 может ингибировать миграцию и инвазию клеток РЖ. Авторы полагают, что ТИМР-1 и ТИМР-2 могут быть использованы в качестве диагностических биомаркеров при РЖ, а ТИМР-2 и ТИМР-3 - в качестве потенциальных маркеров для оценки прогноза РЖ.

Известно, что ММР-2, ММР-14, а также ТИМР-2 участвуют в эпителиально-мезенхимальном переходе и прогрессии опухоли при многих формах рака, в том числе и РЖ [71]. Авторы представили данные по исследованию экспрессии ММР-2, ММР-14, ТИМР-2 в РЖ и метастазах у 83 пациентов, а также анализ корреляционных взаимосвязей между этими ферментами и их возможного

участие в прогрессировании опухолевого процесса. Показано, что экспрессия TIMP-2 в связанных с опухолью макрофагах встречалась чаще, чем в нормальной слизистой желудка ($p=0,0128$). У женщин в опухолях выявлена более высокая экспрессия MMP-2 ($p=0,0248$), тогда как TIMP-2 обнаруживали в основном у пациентов в возрасте старше 50 лет ($p=0,0034$). Исследователи показали, что экспрессия MMP-2 выше в макрофагах первичной опухоли, чем в неопластических клетках ($p=0,0118$), а также обнаружена в макрофагах из пораженных метастазами регионарных лимфоузлов и при диффузном гистотипе РЖ ($p=0,0006$). Исследователи полагают, что экспрессия MMP-2, MMP-14 и TIMP-2 в мононуклеарных клетках может коррелировать с прогрессированием РЖ, а продукция MMP-14 макрофагами, по-видимому, больше участвует в прогрессировании диффузного типа РЖ.

Некоторые исследователи пытались использовать MMP в диагностике РЖ. Так, исследование A.Laitinen с группой учёных, в 2018 году, было посвящено анализу прогностической ценности MMP-8 в сыворотке крови, TIMP-1 и тканевой MMP-8 у больных РЖ [101]. Авторы провели ретроспективный анализ дооперационных образцов сыворотки крови от 233 больных РЖ и уровень экспрессии MMP-8 в 276 опухолях и выявили, что пациенты с низким (<31 нг/мл) или высоким (>131 нг/мл) уровнем сывороточной MMP-8 имели статистически значимо неблагоприятный прогноз ($p=0,002$). У больных РЖ с высоким (≥ 170 нг/мл) TIMP-1 в сыворотке крови прогноз также был плохим ($p<0,001$) и оставался значимым при многофакторном анализе (HR составило 1,85; 95% ДИ; 1,26–2,72; $p=0,002$). При этом, молярное соотношение сывороточной MMP-8 и TIMP-1 с низким ($<0,07$) или высоким ($>0,30$) уровнем предсказывало худший прогноз ($p=0,020$). Авторы полагают, что сывороточная MMP-8, TIMP-1 и соотношение MMP-8/TIMP-1 могут служить полезными биомаркерами для оценки прогноза у больных РЖ.

J.Liu с группой учёных в 2020 году изучали клиническую ценность массива антител к MMP в диагностике РЖ, анализируя проспективно образцы сыворотки крови больных РЖ ($n=66$) и неопухолевыми заболеваниями желудка (НЗЖ; $n=34$).

Количественное измерение 10 белков, связанных с ММР, проводили с использованием массивов ММР и сравнивали между двумя группами. Авторы отметили, что сывороточные уровни ММР-3, ММР-8, ММР-9 и ТИМП-1, ТИМП-2 были значительно выше в группе больных РЖ, чем в группе с НЗЖ ($p < 0,05$). Площадь под кривой (AUC) 10 белков ММР для диагностики РЖ варьировала от 0,500 до 0,658. Общая AUC всех ММР составила 0,897 (95% ДИ, 0,837-0,957). Общая AUC из пяти ММР (ММР-3, ММР-8, ММР-9, ТИМП-1, ТИМП-2) составила 0,821 (95% ДИ, 0,733–0,909) для диагностики РЖ. Кроме того, 10-факторные и 5-факторные прогностические модели обладали хорошей диагностической способностью для раннего РЖ с AUC 0,865 (95% ДИ, 0,753–0,977) и 0,749 (95% ДИ, 0,600–0,898), соответственно. Авторы полагают, что обнаружение множественных сывороточных ММР с помощью технологии белковых биочипов, имеет перспективу для использования в качестве нового неинвазивного инструмента с целью облегчения ранней диагностики или скрининга РЖ [112].

В 2012 году Q.W.Cai с группой учёных исследовали с помощью PCR-OT экспрессию мРНК и белков STAT3, ММР-1, ТИМП-1 в тканях РЖ ($n=30$), прилегающих нормальных тканях ($n=30$) и тканях поверхностного гастрита (ПГ, $n=30$), а также оценили корреляционную связь между патологическими признаками РЖ и STAT3, ММР-1, ТИМП-1 [33]. Экспрессия мРНК STAT3 в тканях РЖ ($0,821 \pm 0,128$) была статистически значимо выше по сравнению с таковой в соседних нормальных тканях ($0,355 \pm 0,100$) и тканях ПГ ($0,398 \pm 0,096$) ($p < 0,05$). Так, например, экспрессия мРНК ММР-1 в тканях РЖ ($0,749 \pm 0,133$) была значимо увеличена по сравнению с соседними нормальными тканями ($0,335 \pm 0,106$) и тканями ПГ ($0,345 \pm 0,063$) ($p < 0,05$). Экспрессия мРНК ТИМП-1 в тканях РЖ ($0,386 \pm 0,125$) была сопоставима с таковой в соседних нормальных тканях ($0,343 \pm 0,078$) и тканях ПГ ($0,345 \pm 0,061$), при этом экспрессия мРНК ТИМП-1 в тканях РЖ коррелировала с дифференцировкой клеток опухоли и наличием метастазов РЖ в регионарных лимфоузлах. Кроме того, STAT3, ММР-1, ТИМП-1 были в значительной степени связаны с дифференцировкой клеток РЖ и метастазами в регионарных лимфоузлах, но не связаны с возрастом, полом и

размером первичной опухоли. Положительная скорость экспрессии нефосфорилированного STAT3 была значительно выше в тканях РЖ (86,7%) по сравнению с таковой в соседних нормальных тканях (16,7%) и тканях ПГ (10,0%) ($p < 0,05$). Положительный уровень экспрессии белка MMP-1 в тканях РЖ (63,3%) был статистически значимо выше по сравнению с таковым в соседних нормальных тканях (13,3%) и тканях ПГ (16,7%) ($p < 0,05$). Однако авторы не наблюдали различий в частоте положительного окрашивания на TIMP-1 среди трех обследованных групп (23,3, 16,7 и 10,0% соответственно; $p > 0,05$). Авторы полагают, что STAT3 и MMP-1 могут участвовать в развитии и метастазировании РЖ, а лечение, нацеленное на TIMP-1, может быть многообещающей стратегией.

Представлены данные сравнительного анализа частоты распределения генотипов локуса MMP-2-735C / T между группами ($p > 0,05$) с включением 254 больных РЖ и 250 здоровых доноров, составивших группу контроля [205]. При этом, распределения аллелей и частот генотипов MMP-2-1306C / T, TIMP-2-303G / A и -418G / C продемонстрировали статистически значимые различия (все $p < 0,05$). Полиморфизм гена MMP-2-1306C / T статистически значимо коррелировал с экспрессией белка MMP-2 ($p < 0,05$); такой же результат был получен и в отношении TIMP-2-303G / A ($p < 0,05$). Исследователи полагают, что варианты MMP-2-1306C / T, TIMP-2-303G / A и -418G / C могут коррелировать с чувствительностью к РЖ, а уровни MMP-2 и TIMP-2 в сыворотке крови могут быть также связаны с чувствительностью к РЖ. Кроме того, гаплотип РЖ может быть фактором риска этого заболевания [205].

Известно, что белок Vav3 – ГТФ-аза, регулирующая обмен гуаниновых нуклеотидов - связан с ростом опухоли, апоптозом, инвазией, метастазированием и ангиогенезом. В исследовании [171] авторы обнаружили экспрессию Vav3 в тканях РЖ и изучили его роль в инвазии, метастазировании и прогнозе заболевания. Уровни экспрессии Vav3, MMP-2, MMP-9, TIMP-1 и TIMP-2 в первичных очагах поражения и перикарциноматозных тканях больных РЖ тестировали с помощью ИГХ и вестерн-блоттинга. Результаты показали более высокую экспрессию Vav3 в первичном РЖ, чем в перикарциноматозной ткани,

при этом экспрессия Vav3 значительно коррелировала с MMP-2, MMP-9 и TIMP-1 в тканях РЖ. Гиперэкспрессия Vav3 была связана с худшей дифференцировкой, распространенной клинической стадии РЖ, большей глубиной инфильтрации, регионарными метастазами и периневральной инвазией. Анализ методом Каплана-Мейера подтвердил, что избыточная экспрессия Vav3 связана с худшим прогнозом и более коротким временем выживания. Более того, модель пропорциональных рисков Кокса показала, что избыточная экспрессия Vav3 была независимым фактором прогностического риска для больных РЖ. В целом, авторы пришли к выводу, что гиперэкспрессия Vav3 является независимым фактором прогноза РЖ и может использоваться в качестве прогностического маркера. Это, вероятно, обусловлено тем, что Vav3 может регулировать гены, связанные с инвазией и метастазированием опухолей, в том числе и РЖ.

J. Zhang с учёными в 2020 году показали, что ассоциированные с опухолью фибробласты (АОФ) как активированные клетки стромы, способствуют прогрессированию опухоли за счет высвобождения цитокинов, факторов роста и гормонов [204]. Однако ни факторы, продуцируемые АОФ, ни молекулярные механизмы не были хорошо освещены при РЖ. Анализ данных, полученных авторами, показал, что высокие АОФ в тканях РЖ положительно коррелировали с распространенными стадиями (TNM) и периневральной инвазией РЖ. Кроме того, больные РЖ с высоким уровнем АОФ в опухоли имели худшую общую выживаемость. Многофакторный анализ показал, что высокие АОФ в тканях РЖ могут служить независимым фактором оценки общей выживаемости. Исследователи выявили, что после совместного культивирования с клетками РЖ АОФ экспрессировали значительное количество IL-17a. Кроме того, АОФ заметно усиливали способность клеток AGS и SGC-7901 к миграции и инвазии. Более того, совместное культивирование с АОФ приводило к увеличению уровней MMP-2/MMP-9, снижению экспрессии TIMP-1/TIMP-2 и активации сигнального пути JAK2/STAT3 в клетках РЖ. Нейтрализующее антитело к IL-17a или ингибитор JAK2 AG490 способствовали значительному ингибированию эффектов АОФ на пути миграции, инвазии и экспрессии MMP-2/MMP-9, TIMP-1/TIMP-2 и

JAK2/STAT3 клетками РЖ. Авторы полагают, что АОФ коррелируют с неблагоприятными клиническими проявлениями и плохим прогнозом у больных РЖ. Кроме того, секреция АОФ IL-17a способствует миграции и инвазии клеток РЖ через активацию передачи сигналов JAK2/STAT3. Полученные результаты указывают, что определение IL-17a может служить прогностическим маркером и сам цитокин - терапевтической мишенью для РЖ.

Исследование F.Wu с группой учёных в 2021 году также подтверждает тот факт, что прогрессия РЖ в значительной степени зависит от окружающей опухолевой микросреды (ОМС), в частности, АОФ, ввиду их универсальной роли в ремоделировании ВКМ, поддержании стволовости опухолевых клеток, формировании кровеносных сосудов и модуляции метаболических процессов в опухоли, а также иммунного ответа и стимулирования пролиферации, миграции, инвазии и терапевтической резистентности раковых клеток [190]. АОФ представляют собой высокогетерогенные стромальные клетки, и их взаимодействие с раковыми клетками опосредуется сложной сигнальной сетью, состоящей из ТФР-бета, фосфоинозитид-3-киназы/АКТ/мишени рапамицина у млекопитающих, митоген-активируемой протеинкиназы, Wnt, Janus киназы/преобразователи сигналов и активаторы транскрипции, EGFR, Hippo и ядерного фактора, усиливающего легкую каппа-цепь активированных В-клеток и другие сигнальные пути. Эти сигналы в АОФ проявляют свои особые характеристики во время прогрессирования рака и потенциально могут быть нацелены на противоопухолевую терапию. Следовательно, всестороннее понимание этих сигнальных каскадов во взаимодействиях между раковыми клетками и АОФ необходимо для полного осознания их ключевой роли при РЖ. Авторы суммировали огромное количество данных о сигналах, опосредующих перекрестные взаимодействия АОФ с раковыми клетками и связанными с ними мишенями. Кроме того, они выдвинули гипотезу о трех потенциальных стратегиях направленного воздействия на АОФ, а именно: использование общих с опухолевыми клетками эпителиально-мезенхимальных мишеней, последовательное возмущение мишеней, и направленные на перекрестные помехи

сигнальные мишени.

По мнению большинства исследователей, определение индивидуального прогноза у больных РЖ задача очень сложная, поэтому потребность в новых биомаркерах и их тщательное изучение имеют решающее значение.

1.9 Матриксные металлопротеиназы как потенциальные мишени для таргетной терапии

На экспериментальных моделях разработано несколько подходов к использованию ММП в качестве мишеней для противоопухолевой терапии:

- блокирование синтеза ММП;
- подавление взаимодействия ММП с молекулами, направляющими их к клеточной поверхности и межклеточному пространству;
- ингибирование ферментативной активности ММП.

Прямое подавление синтеза ММП осуществляется с помощью трансфекции в клетки антисмысловых (ас) мРНК или олигонуклеотидов. В частности, показано, что антисмысловая мРНК к ММП-9 снижает инвазивность культивируемых клеток рака яичников и их прикрепление к поверхностям, покрытым фибронектином [90]. Использование ас-мРНК против ММП-7 снижало количество этого фермента в культивируемых клетках рака яичников и подавляло их инвазию, индуцированную лизофосфатидиловой кислотой [190]. Ас-мРНК против МТ1-ММП подавляли не только инвазию, но и пролиферацию культуры клеток рака яичников SW626. Однако вопрос о возможности использования подобных технологий в клинической практике остается пока открытым. Кроме того, на уровень экспрессии ММП могут опосредованно повлиять препараты, направленные на передачу сигналов различных тирозинкиназных рецепторов (факторов роста, цитокинов) [13]. Подавление взаимодействия ММП с белками клеточной поверхности также может заблокировать важные для инвазии проявления их активности в межклеточном пространстве.

Ингибирование ферментативной активности ММП – самый прямой путь влияния на их проинвазивную и прометастатическую активность. Первоначально

наиболее очевидным подходом представлялось использование их природных тканевых ингибиторов. В экспериментальных исследованиях был даже продемонстрирован противоопухолевый эффект TIMP-2 и TIMP-4, однако возможности системного введения TIMP ограничены тем, что они обладают независимой от MMP проканцерогенной и проангиогенной активностью [48, 148]. В связи с этим разрабатываются синтетические высокоспецифичные ингибиторы MMP (большинство из них – производные гидроксамовой кислоты), которые могли бы достигать эффективных концентраций в крови и вызывать регрессию опухоли. Клинические испытания проходили пять ингибиторов MMP:

- Маримастат – исследовался при ранних стадиях рака поджелудочной железы;
- BMS-275291 – при прогрессирующем немелкоклеточном раке легкого;
- Приномастат – при ранних стадиях различных солидных опухолей;
- Метастат (тетрациклиновые ингибиторы ММН) – при саркоме Капоши;
- Неовастат – при неоперабельном раке почки.

Однако при применении этих препаратов возникло много различных проблем. Уже ранние исследования I фазы показали, что длительное введение ингибиторов ММН сопряжено с появлением мышечных болей у 30% больных и воспалительных процессов, которые не наблюдались в доклинических исследованиях. Маримастат и Приномастат показали минимальный эффект у больных с диссеминацией. Клинические исследования ВАУ-129566 были прекращены на ранних этапах исследования из-за низкой выживаемости больных. Следует также отметить, что ингибиторы MMP – цитостатические препараты, и их биологическая активность во II фазе клинических испытаний определялась не по уменьшению размеров опухоли, а по снижению темпов возрастания уровней опухолевых маркеров в сыворотке крови больных (в частности, для Маримастата). Большинство препаратов сразу после испытаний I фазы изучались во II/III фазах без проведения исследований на небольших группах больных. Возможно, именно по этим причинам результаты III фазы клинических испытаний ингибиторов MMP оказались неудовлетворительными. В большинстве

исследований эти препараты оказались неэффективными, а в ряде случаев даже ухудшали результаты химиотерапии.

Предполагается, что неэффективность синтетических ингибиторов ММР может объясняться либо включением в исследование больных на поздних стадиях опухолевого процесса, либо тем, что препараты имели низкую специфичность и возможно ингибировали и ММР с собственной противоопухолевой активностью, либо высокой частотой ревматоидо-подобных воспалительных реакций, что ограничивало возможность продолжить лечения препаратом в эффективных дозах. Осложнения имели обратимый характер, но ограничивали возможность использования доз, продемонстрировавших эффективность в доклинических исследованиях, поэтому в последующем пришлось их уменьшить. До сих пор нерешенным остается и вопрос о том, какие ММР связаны с появлением побочных реакций (мышечные боли), а какие являются мишенью для противоопухолевой терапии.

В настоящее время разрабатываются ингибиторы ММР следующего поколения, обладающие высокой специфичностью к ММР одного типа. Кроме того, изучение спектра, уровня и соотношения экспрессии различных видов ММР и их тканевых ингибиторов, их биологического и прогностического значения может также оказаться полезным для разработки и эффективного применения новых ингибиторов ММР, специфичных для опухолей определенной локализации и/или для конкретного больного.

Таким образом, изучение компонентов сигнального пути основного проангиогенного фактора VEGF и матриксных металлопротеиназ, регулирующих не только инвазию и метастазирование, но и неоангиогенез остается важной задачей современной онкологии, в частности, для такого тяжелого и часто встречающегося заболевания как рак желудка.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика обследованных больных раком желудка и здоровых доноров

В исследование включено 102 больных раком желудка в возрасте от 25 до 81 года, проходивших обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с ноября 2016 года по декабрь 2019 года. У всех пациентов рак желудка выявлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли согласно Международной классификации опухолей желудочно-кишечного тракта [9]. 4 пациента обследованы в динамике – через 1 – 21 неделю после начала лечения.

Всего в группу контроля при исследовании различных показателей вошли 95 практически здоровых доноров в возрасте от 19 до 77 лет, медиана составила 47 лет, из них 30 (31,5%) мужчин и 65 (68,5%) женщин. На рисунке 2.1 представлено распределение больных раком желудка по возрасту на этапе установления диагноза.

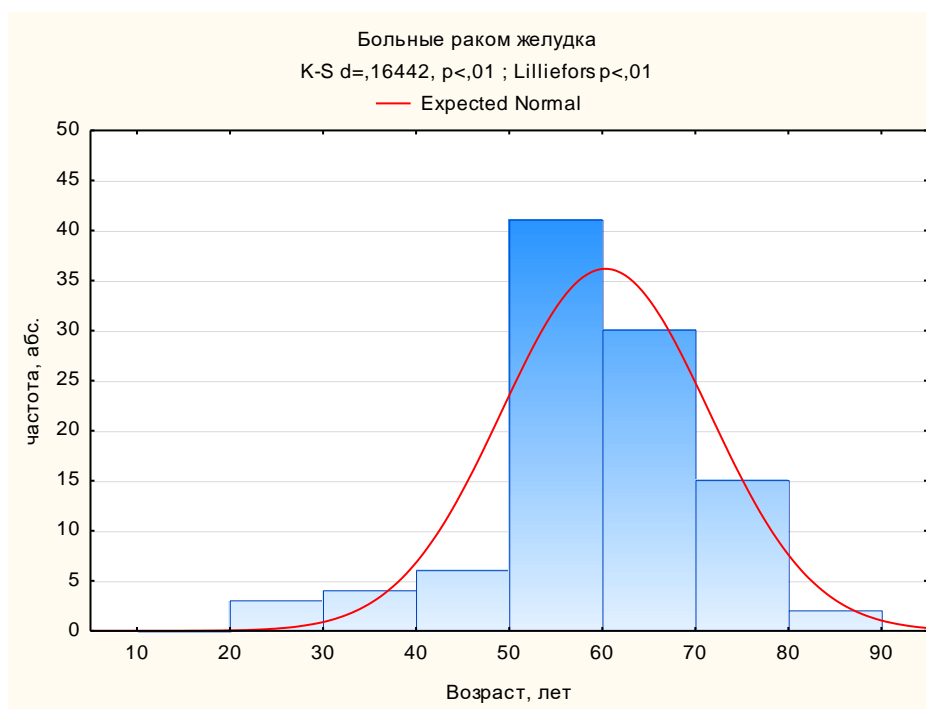


Рисунок 2.1 - Распределение больных раком желудка по возрасту

Показано, что 3 (2,9%) больных были в возрасте моложе 30 лет, 4 (3,9%) -

моложе 40 лет, 6 (5,9%) - в возрасте от 40 до 50 лет, 42 (41,2%) - в возрасте от 50 до 60 лет, 30 (29,4%) - от 60 до 70 лет и 17 (16,7%) пациентов были в возрасте от 70 лет и более. Средний возраст пациентов составил $60,3 \pm 1,1$ лет.

Бессимптомное течение заболевания установлено у 59 больных раком желудка, из них 14 были в IV стадии заболевания. У 16 пациентов отмечена желудочное кровотечение, у 11 – стеноз выходного отдела желудка, у 16 – дисфагия (Рисунок 2.2).

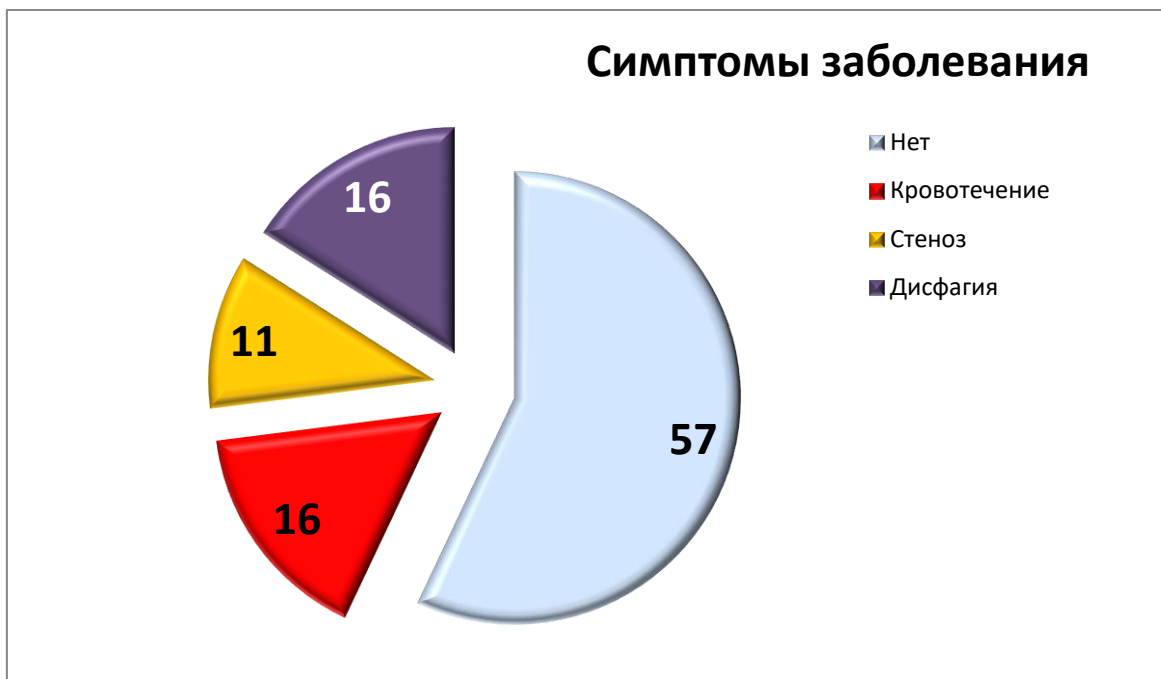


Рисунок 2.2 - Распределение больных раком желудка с учетом клинических симптомов заболевания

Распределение больных раком желудка по полу (мужской/женский), представлено на рисунке 2.3: 59 (57,8%) больных были мужского пола и 43 (42,2%) - женского пола (Рисунок 2.3). Средний возраст больных раком желудка мужчин составил $60,6 \pm 1,5$ лет, женщин – $60,0 \pm 1,7$ лет.

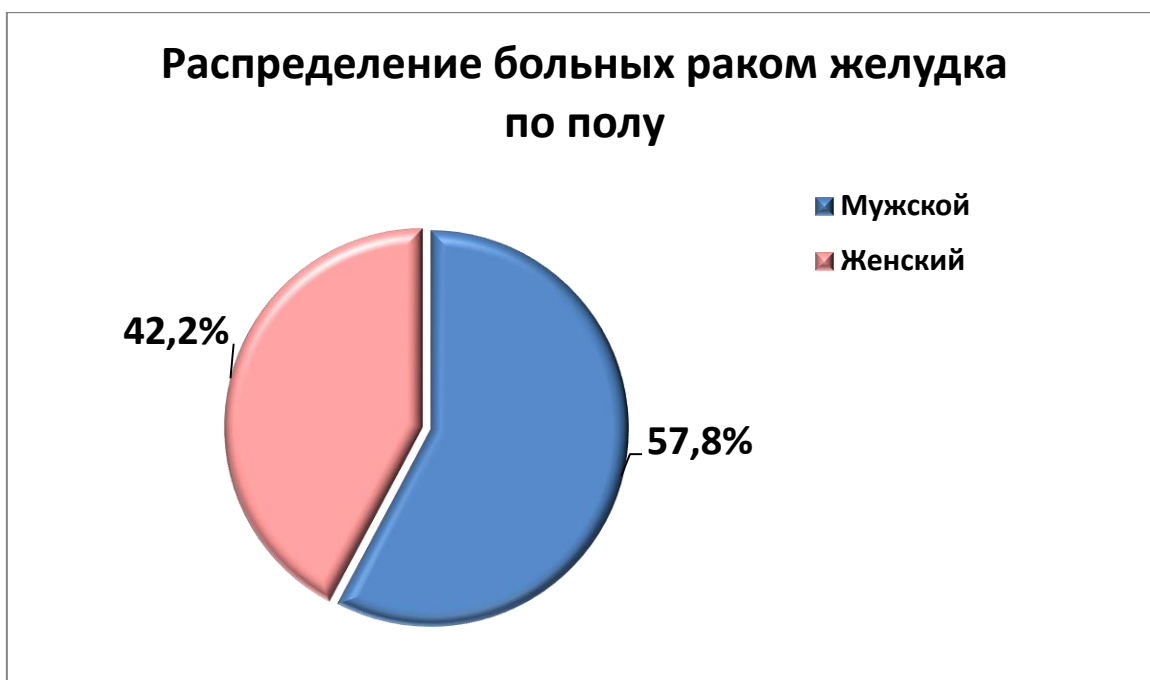


Рисунок 2.3 - Распределение больных раком желудка по полу

В таблице 2.1 представлено распределение больных раком желудка по критериям T, N и M системы TNM. Преобладали пациенты с T4a (48,0%), N0 (50,0%), M0 (76,5%) (Рисунок 2.4).

Таблица 2.1 - Распределение больных раком желудка по критериям системы TNM

Критерий T	Частота, абс. (отн.)	Критерий N	Частота, абс. (отн.)	Критерий M	Частота, абс. (отн.)
T1	19 (18,6%)	N0	51 (50,0%)	M0	78 (76,5%)
T2	4 (3,9%)	N1	17 (16,7%)	M1	24 (23,5%)
T3	21 (20,6%)	N2	22 (21,6%)	-	-
T4a	49 (48,0%)	N3a	12 (11,8%)	-	-
T4b	9 (8,8%)	-	-	-	-

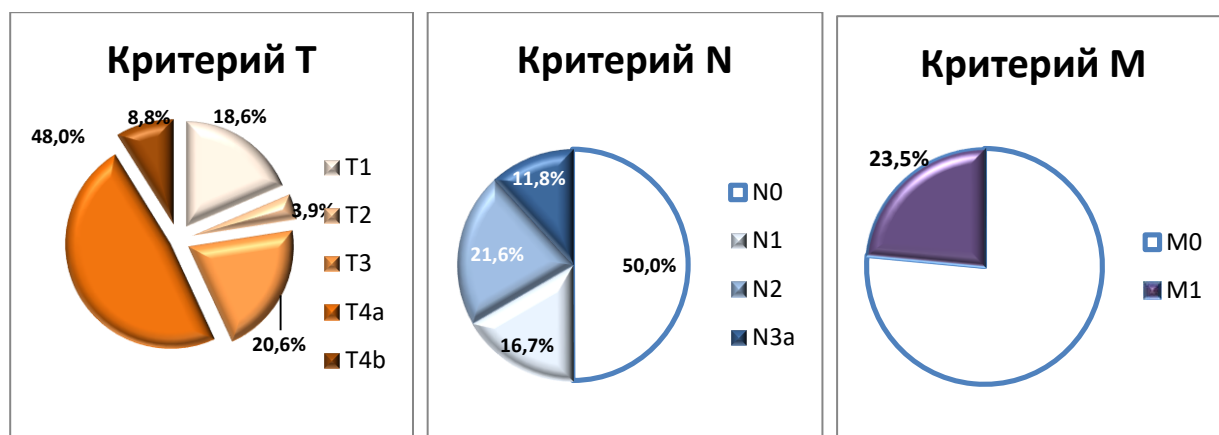


Рисунок 2.4 - Распределение больных раком желудка с учетом критериев системы TNM

В таблице 2.2 и на рисунке 2.5 представлено распределение больных раком желудка по стадиям. На основании анализа полученных нами данных у 16,7% больных был T1N0M0 стадия, у 10,8% пациентов установлена распространенность процесса, соответствующая T3N0M0, столько же пациентов было с распространенностью T4aN2M0, у 8,8% больных выявлена T4aN1M0 стадия, у 7,8% пациентов имела место T4aN0M1 стадия. Остальные сочетания критериев системы TNM у больных раком желудка встречались от 6% и реже.

Таблица 2.2 - Распределение больных раком желудка с учетом стадии

Стадия	Число наблюдений	Возраст, лет M±m
Ia	17 (16,7%)	61,4±2,8
Ib	6 (5,9%)	64,6±3,8
IIa	8 (7,8%)	57,1±2,7
IIb	9 (8,8%)	63,3±3,6
IIIa	10 (9,8%)	61,0±2,1
IIIb	12 (11,8%)	62,3±2,2
IIIc	11 (10,8%)	63,6±2,5
IV	29 (28,4%)	56,6±2,8

Почти у 1/3 пациентов (28,4%, 29/102) рак желудка был выявлен в IV стадия заболевания (Рисунок 2.5). Следует также отметить наименьший средний возраст у больных раком желудка в IV стадии ($56,6 \pm 2,8$ лет). Реже у пациентов был выявлен рак желудка в начальных Ib (5,9%, 6/102), IIa (7,8%, 8/102) и IIb (8,8%, 9/102) стадиях.

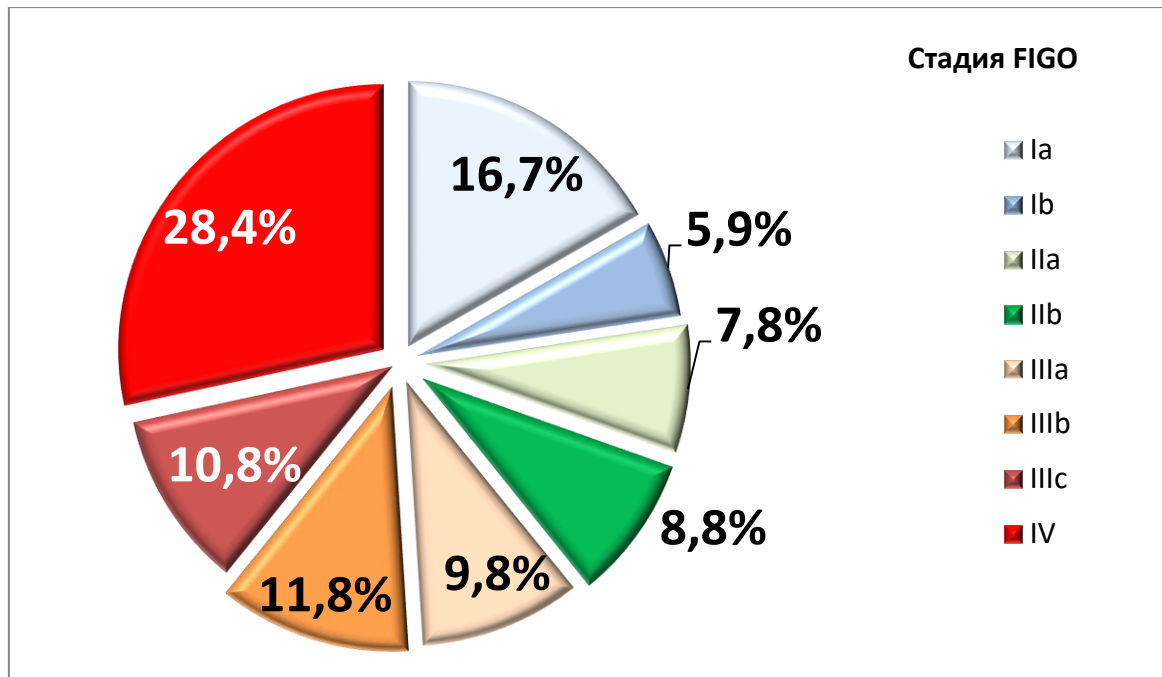


Рисунок 2.5 - Распределение больных раком желудка с учетом стадии опухолевого процесса

В таблице 2.3 представлено распределение больных раком желудка с учетом пола и стадии заболевания.

Таблица 2.3 - Распределение больных раком желудка по полу и стадии заболевания

Пол	Стадия, частота выявления				Всего
	абс. (отн.)				
	I	II	III	IV	
Мужской	11 (18,6%)	8 (13,6%)	19 (32,2%)	21 (35,6%)	59 (100%)
Женский	12 (27,9%)	9 (20,9%)	14 (32,6%)	8 (18,6%)	43 (100%)

В группе пациентов мужского пола реже выявляли начальные I-II стадии заболевания (18,6% и 13,6%, соответственно), по сравнению с женщинами (27,9% и 20,9% соответственно). В то же время IV стадию рака желудка обнаружили почти в 2 раза чаще у мужчин (35,6%), чем у женщин (18,6%) (Рисунок 2.6).

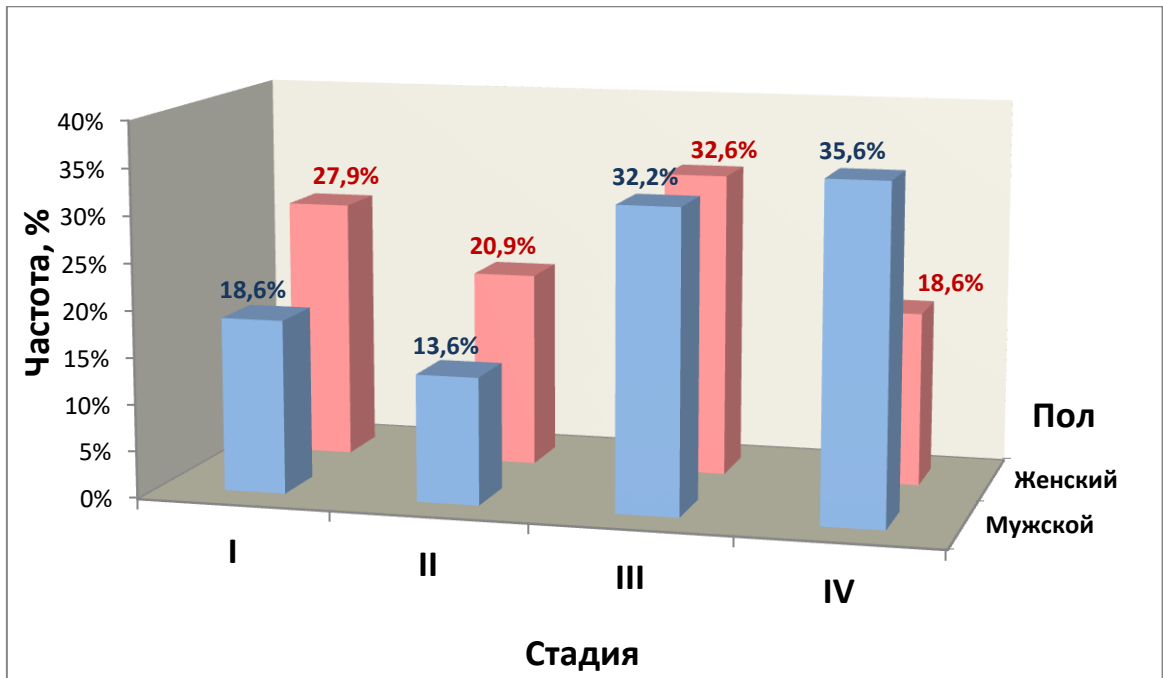


Рисунок 2.6 - Распределение больных раком желудка по полу и стадии заболевания

Распределение больных раком желудка по локализации опухоли представлено в таблице 2.4 и на рисунке 2.7.

Преобладали пациенты с локализацией опухоли в теле желудка (48%), практически с одинаковой частотой в I (20,4%), II (20,4%) и IV (26,5%) стадиях опухолевого процесса, несколько чаще при III стадии (34,7%) (Таблица 2.5., Рисунок 2.7). Тотальное поражение опухолью желудка имело место в 63,6% (7/11) наблюдений при IV стадии заболевания, наиболее редко опухоль локализовалась в дистальном отделе желудка при IV стадии опухолевого процесса - 16,7% (3/18).

Таблица 2.4 - Распределение больных раком желудка по локализации опухоли

Локализация рака желудка	Число больных	Стадия частота выявления абс. (отн.)			
		I	II	III	IV
Проксимальный отдел	21 (20,6%)	3 (14,3%)	4 (19,1%)	8 (38,1%)	6 (28,6%)
Тело желудка	49 (48,0%)	10 (20,4%)	10 (20,4%)	17 (34,7%)	13 (26,5%)
Дистальный Отдел	18 (17,6%)	8 (44,4%)	2 (11,1%)	5 (27,8%)	3 (16,7%)
КЭР	3 (2,9%)	2	-	1	-
Тотальное поражение	11 (10,8%)	-	1 (9,1%)	3 (27,3%)	7 (63,6%)

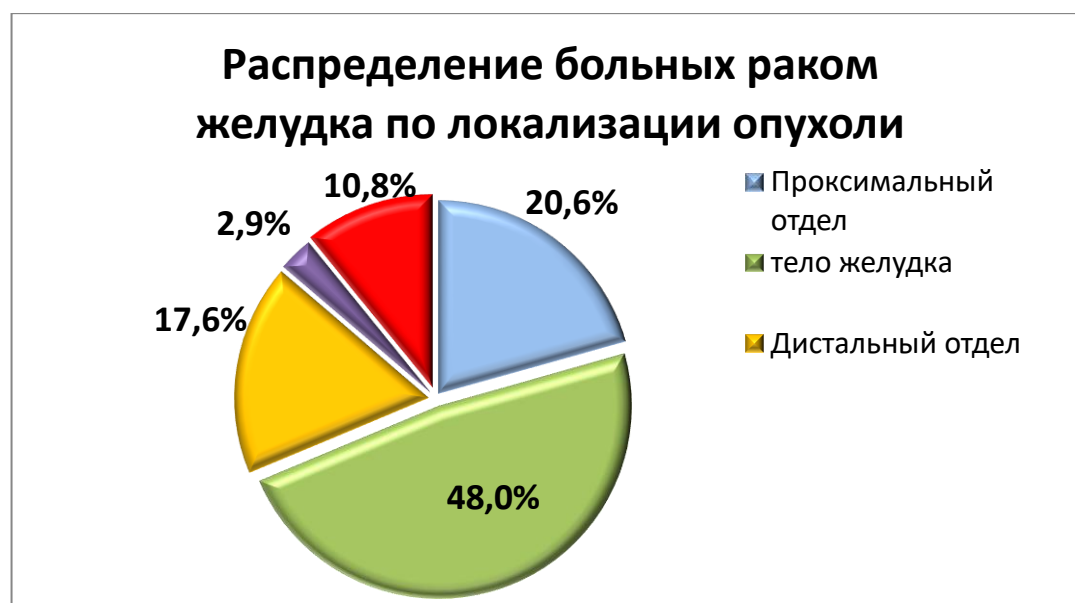


Рисунок 2.7 - Распределение больных раком желудка с учетом локализации опухоли

Распределение больных раком желудка по гистологическому варианту строения опухоли представлено в таблице 2.5 и на рисунке 2.8. Преобладали пациенты с низкодифференцированной аденокарциномой (50,9%). В 88,9%

наблюдений у больных с высокодифференцированной аденокарциномой желудка выявлена I стадия заболевания.

Таблица 2.5 - Распределение больных раком желудка по степени дифференцировки и гистологическому варианту строения опухоли

Локализация опухоли	Число больных	Стадия			
		частота выявления абс. (отн.)			
		I	II	III	IV
Высокодифференцированная аденокарцинома	9 (8,8%)	8 (88,9%)	-	1 (11,1%)	-
Умеренно дифференцированная аденокарцинома	18 (17,6%)	4 (22,2%)	2 (11,1%)	9 (50,0%)	3 (16,7%)
Низкодифференцированная аденокарцинома	52 (50,9%)	9 (17,3%)	13 (25,0%)	13 (25,0%)	17 (32,7%)
Перстневидноклеточный рак	21 (20,6%)	2 (9,5%)	1 (4,5%)	9 (42,9%)	9 (42,9%)
Недифференцированная аденокарцинома	2 (2,0%)	-	1	1	-

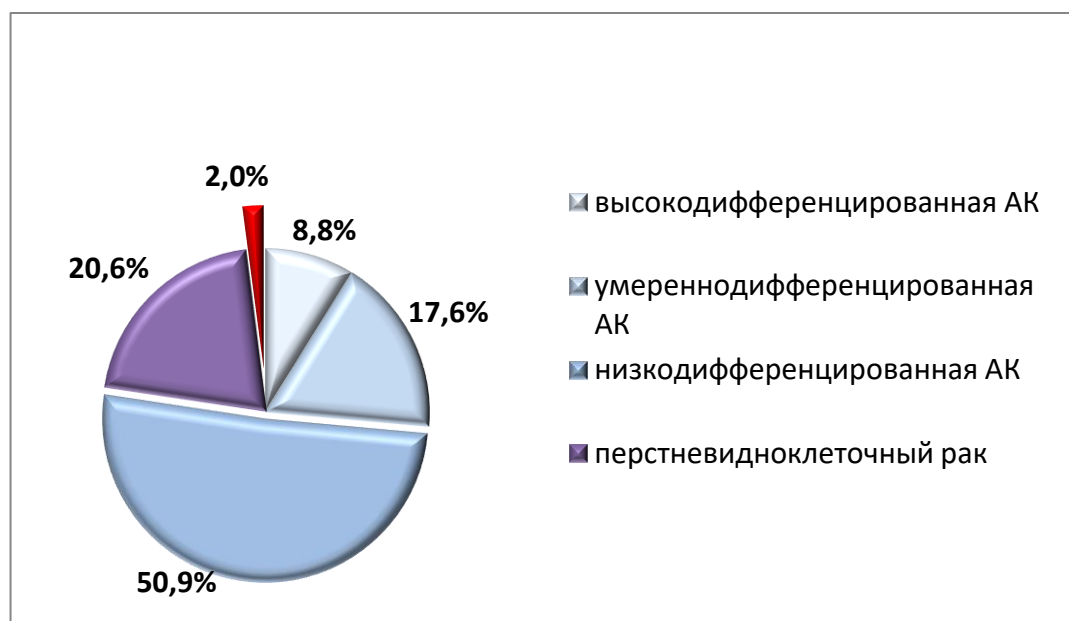


Рисунок 2.8 - Распределение больных раком желудка с учетом степени дифференцировки и гистологического строения опухоли

Среди больных с умеренно дифференцированной аденокарциномой желудка у 50% установлена III стадия заболевания и, напротив, среди больных с низкодифференцированной аденокарциномой наиболее часто (32,7%) выявляли IV стадию заболевания.

В таблице 2.6 представлены данные по виду лечения больных раком желудка. Следует отметить, что в 95,1% наблюдений у пациентов проведено хирургическое лечение. Комбинированную терапию получали больные с III и IV стадиями опухолевого процесса.

Таблица 2.6 - Распределение больных раком желудка по виду лечения

Стадия рака желудка	Число больных	Вид лечения	
		Хирургический	Комбинированный
Ia, Ib, IIa, IIb	40	40 (100,0%)	-
IIIa	10	9 (90,0%)	1 (10,0%)
IIIb	12	12 (100,0%)	-
IIIc	11	10 (90,9%)	1 (9,1%)
IV	29	26 (89,7%)	3 (10,3%)
Всего	102	97 (95,1%)	5 (4,9%)

В таблице 2.7 представлено распределение больных раком желудка с учетом выполненного хирургического вмешательства. У половины обследованных пациентов (n=51, 50,0%) выполнена гастрэктомия, из них только треть (n=17) была с IIIc-IV стадиями. У 28,4% больных раком желудка выполнена дистальная резекция, 14,7% - лапароскопия и 2,0% - эксплоративная лапаротомия (больные с IV стадией), 4,9% - проксимальная резекция (Рисунок 2.9).

Лимфодиссекция D1 выполнена трём пациентам, остальным – D2. Количество регионарных метастатических лимфоузлов оценено у 83 больных раком желудка и колебалось от 0 до 17, составляя в среднем $2,8 \pm 0,4$. При этом в группе больных I и II стадий количество метастатических узлов равнялось $0,05 \pm 0,04$; IIIa - $2,5 \pm 0,5$; IIIb - $4,9 \pm 0,9$; IIIc - $8,4 \pm 1,4$; IV - $4,7 \pm 1,0$ (Рисунок 2.10).

Таблица 2.7 - Распределение больных раком желудка с учетом объема выполненного хирургического вмешательства

Объем хирургического вмешательства	Стадия рака желудка частота выполнения абс. (отн.)				Итого
	I, II	IIIa,b	IIIc	IV	
Проксимальная резекция	3 (60%)	-	2 (40,0%)	-	5 (4,9%)
Дистальная резекция	20 (69,0%)	5 (17,2%)	1 (3,4%)	3 (10,3%)	29 (28,4%)
Гастрэктомия	17 (33,3%)	17 (33,3%)	8 (15,7%)	9 (17,6%)	51 (50,0%)
Эксплоративная лапаротомия	-	-	-	2	2 (2,0%)
Лапароскопия	-	-	-	15 (100,0%)	15 (14,7%)
Всего	40	22	11	29	102

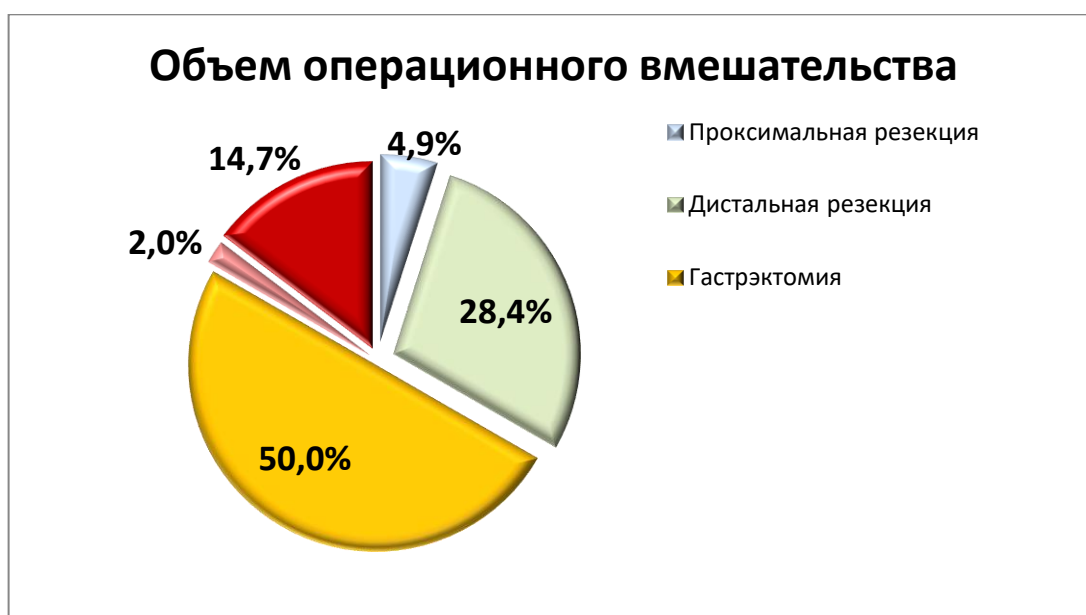


Рисунок 2.9 - Распределение больных раком желудка с учетом объема хирургического вмешательства

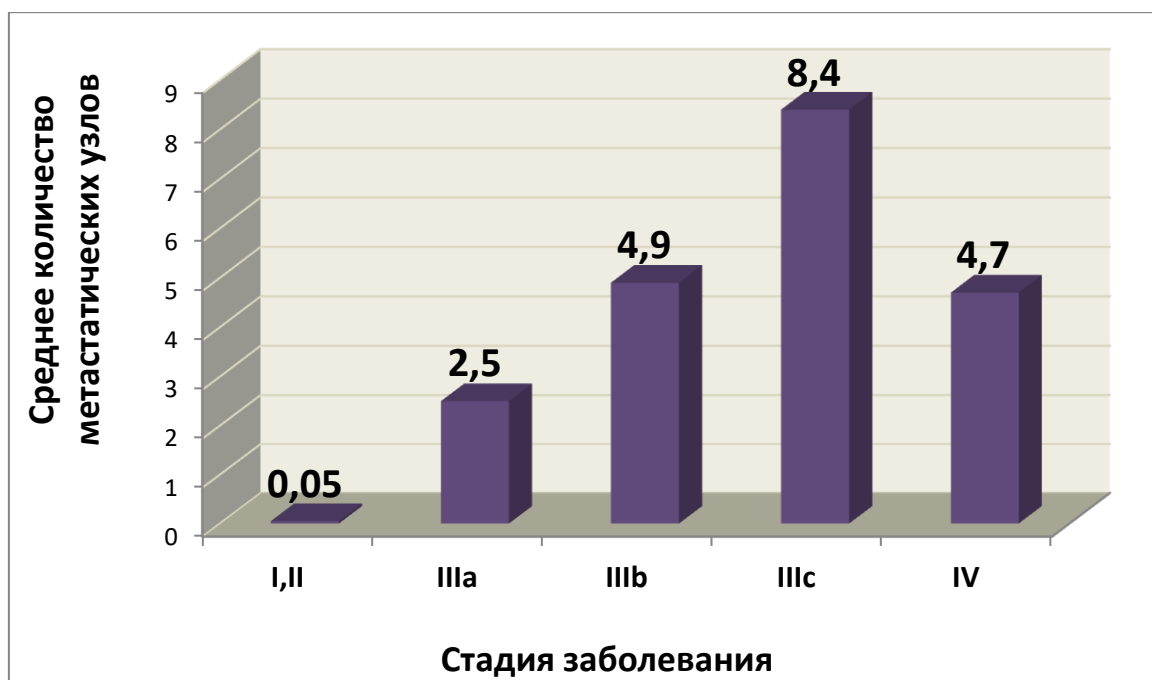


Рисунок 2.10 - Количество метастатических узлов у больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания

Спленэктомия была выполнена 11% больным раком желудка. У 9 больных раком желудка в послеоперационном периоде развились осложнения (по 1 наблюдению: нагноение послеоперационной раны, панкреатический свищ, лимфорея, тонкокишечная непроходимость, плеврит, алиментарная кахексия, панкреатический свищ с плевритом и тромбозом сосудов нижних конечностей), перфорация тонкой кишки с перитонитом, панкреатический свищ с нагноением послеоперационной раны.

Предоперационная полихимиотерапия (ПХТ) проведена пяти больным раком желудка по схеме DCF-1, FOLFOX-1, FLOT-3. У трёх пациентов наблюдали частичный регресс, у остальных – стабилизацию опухолевого процесса.

Адьювантная ПХТ проведена 32 больным раком желудка. У 24 по схеме XELOX, у 3 – FLOT FOLFOX, по 1 – DCF, капецитабин.

2.2 Лабораторные методы исследования

Содержание исследуемых маркеров определяли в образцах сыворотки крови, взятой у здоровых доноров и у больных раком желудка до проведения

лечения. Образцы крови забирали натощак из кубитальной вены в пробирки с активатором свертывания и центрифугировали в течение 10 минут со скоростью 3000 об/мин, разливали на 3-4 аликвоты объемом 300-400 мкл в пластиковые пробирки и хранили при -40°C до проведения иммуноферментного анализа.

Определение маркеров проводили с помощью реактивов для прямого иммуноферментного анализа, данные о которых представлены в таблице 2.8, в соответствии с инструкциями производителя.

Таблица 2.8 - Реактивы для ИФА маркеров сыворотки крови, использованные в работе

Показатель	Название набора	Производитель
Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)	Quantikine [®] , «Human VEGF»	R&D systems, США
Рецептор фактора роста эндотелия сосудов 1 типа (VEGFR1)	Quantikine [®] , «Human VEGFR1»	R&D systems, США
Рецептор фактора роста эндотелия сосудов 2 типа (VEGFR2)	Quantikine [®] , «Human VEGFR2»	R&D systems, США
Матриксная металлопротеиназа 2 (MMP-2)	Quantikine [®] , «Human MMP-2 (total) ELISA»	R&D systems, США
Матриксная металлопротеиназа 7 (MMP-7)	Quantikine [®] , «Human MMP-7 (total) ELISA»	R&D systems, США
Матриксная металлопротеиназа 9 (MMP-9)	Quantikine [®] , «Human MMP-9 (total) ELISA»	R&D systems, США

Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание VEGF и sVEGFR1 выражали в пикограммах (пг); sVEGFR2, ММП-2, 7, 9 – в нанogramмах (нг) - на 1 мл сыворотки крови.

2.3 Статистические методы исследования

Полученные в результате обработки историй болезни фактические материалы в виде качественных и количественных клинических и биохимических показателей сыворотки крови регистрировали согласно протоколу и составили компьютерную базу данных.

В связи с ненормальным распределением при сравнении средних групповых количественных признаков применяли непараметрический метод. Проверку нормальности распределения проводили двумя методами: графическим (с помощью построения «графиков нормального распределения»), математическим (с помощью вычисления статистик Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро-Уилке).

Значения количественных признаков приведены в таблицах в виде: нижний квартиль (25% выборки) – медиана – верхний квартиль (75% выборки).

Достоверность различия показателей оценивали с помощью непараметрических критериев – Манна-Уитни, медианного, Краскела–Уоллиса. Для расчета порогового уровня и оценки диагностической эффективности применялся метод построения ROC-кривых (Receiver Operating Characteristic) с оценкой площади под кривой AUC (Area Under Curve). В качестве критерия выбора порогового значений использовалось максимальное значение индекса Юдена (Youden index, J_{\max}). Достоверность различий частот в изучаемых признаках оценивали с помощью критерия χ^2 , для малых выборок, рассчитывали непараметрический точный критерий Фишера. Меру линейной связи оценивали с помощью коэффициента корреляции Пирсона, нелинейной – с помощью коэффициента корреляции рангов Spearman.

В однофакторном анализе общую выживаемость рассчитывали методом Каплана-Мейера с оценкой достоверности различий с помощью log-rank теста; многофакторный анализ проводили с использованием регрессионной модели Кокса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Для расчетов и оформления работы использовали персональный

компьютер с операционной системой Windows 7 и прикладными программными пакетами Statistica 7.0, SPSS Statistics 21, MS Office XP.

ГЛАВА 3. КОНЦЕНТРАЦИИ VEGF И ЕГО РЕЦЕПТОРОВ VEGFR1 и VEGFR2 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

3.1 Концентрации VEGF в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

В таблице 3.1 и на рисунке 3.1 представлены статистические характеристики уровней VEGF в контрольной группе здоровых доноров и больных раком желудка.

Таблица 3.1 - Концентрации VEGF в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Группа	N	VEGF, пг/мл			P M-W U Test
		Пределы колебания	Медиана; квартили	95% ДИ	
Контроль	65	42,3-911	275; 182-437	59-688	<0,0001
Рак желудка	102	9,3-1512	419; 292-601	110-1120	

Как следует из данных таблицы 3.1, концентрации VEGF в сыворотке крови практически здоровых доноров группы контроля были статистически значимо ниже, чем у больных раком желудка, медианы маркера составили соответственно 275 и 419 пг/мл ($p < 0,0001$) (рис. 3.1). Однако следует отметить, что пределы колебания концентрации VEGF в контрольной группе были довольно широкими (от 42,3 до 911 пг/мл), при этом верхний 95% ДИ концентраций VEGF у здоровых доноров составил 688 пг/мл.

Для поиска порога, разделяющего группы контроля и больных раком желудка по уровню VEGF в сыворотке крови применяли построение ROC кривых. Нам не удалось найти пороговое значение VEGF, приемлемым образом разделяющего группу здоровых доноров от больных раком желудка. Так,

показателю чувствительности, равному 75,5% соответствовала специфичность 53,8%. Значению специфичности, равной 75,4% соответствовала чувствительность 42,2%. Таким образом, данный маркер не обладал диагностической ценностью у больных раком желудка. Только у 21 (20,6%) больного раком желудка концентрации VEGF в сыворотке крови превышали 95% ДИ в контроле, равный 688 пг/мл ($p=0,004$).

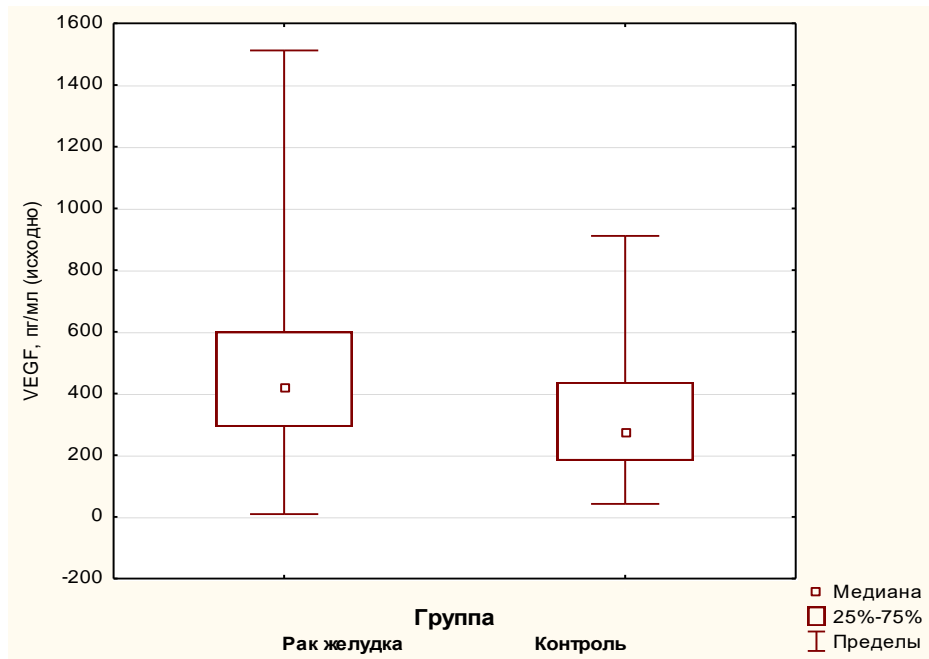


Рисунок 3.1 - Концентрации VEGF в сыворотке крови больных раком желудка и в группе контроля

При разделении концентраций VEGF, ориентируясь на медиану и квартили в группе контроля (Таблица 3.2) установили, что значения выше 441 пг/мл выявлены примерно в 1,7 раза чаще в группе больных раком желудка и, напротив, значения менее 180 пг/мл выявлены примерно в 2,8 раза чаще в группе здоровых доноров по сравнению с группой больных раком желудка (соответственно, 24,6% против 8,8%) (Рисунок 3.2).

У четырёх больных раком желудка после проведенного лечения медиана концентрации VEGF и квартили маркера практически не изменились и составили 418 (квартили 381 и 646) пг/мл.

Таблица 3.2 - Частота выявления различных уровней VEGF в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Уровни VEGF, пг/мл	Частота, абс (отн.)		P
	Контроль	Рак желудка	
≤180	16 (24,6%)	9 (8,8%)	0,002
181-275	17 (26,2%)	14 (13,7%)	
276-440	16 (24,6%)	36 (35,3%)	
≥441	16 (24,6%)	43 (42,2%)	
Всего	65	102	

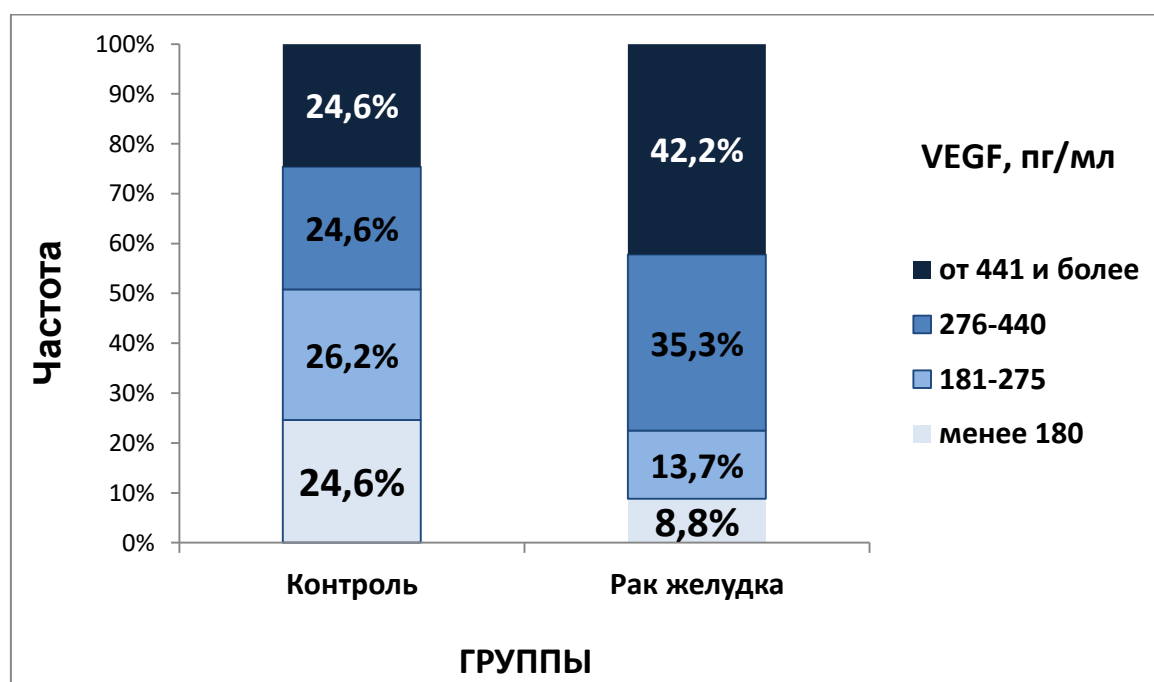


Рисунок 3.2 - Частота выявлений различных уровней VEGF в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

В таблице 3.3 представлены концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля и у больных раком желудка.

Таблица 3.3 - Концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Группа	Число больных	sVEGFR1, пг/мл			P M-W U Test
		Пределы колебания	Медиана; квартили	95% ДИ	
Контроль	30	0-508	102; 67-167	0-467	0,029
Рак желудка	102	54,5-1487	116; 93,9-363	73,9-498	

Установлены статистически значимо большие концентрации sVEGFR1 в группе больных раком желудка (медиана 116 пг/мл) по сравнению с контролем (медиана 102 пг/мл; $p=0,0029$) (Рисунок 3.3).

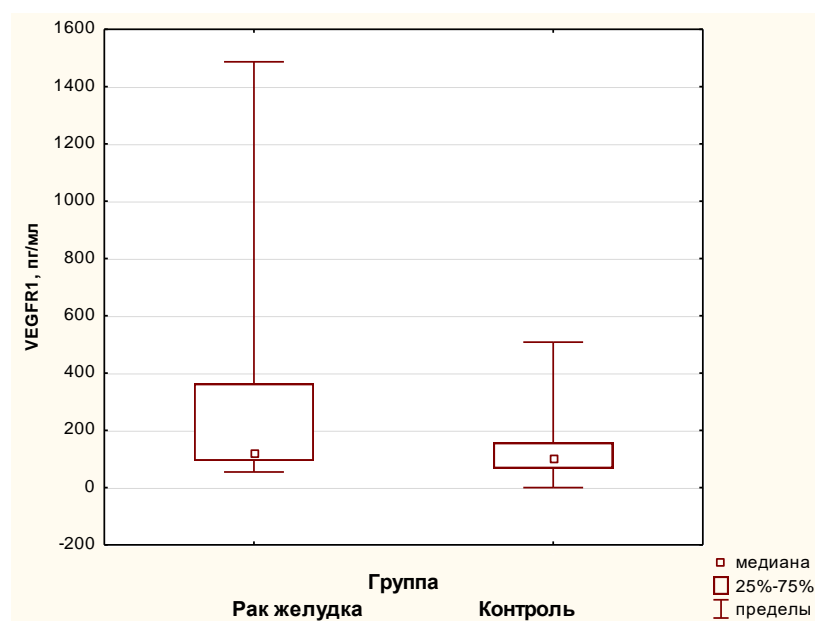


Рисунок 3.3 - Концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Не удалось найти пороговое значение sVEGFR1, приемлемым образом разделяющее группы больных раком желудка и здоровых доноров. Так, показателю чувствительности, равного 76,5% соответствовала специфичность 46,7%. Значению специфичности, равной 76,7% соответствовала

чувствительность 32,4%. Таким образом, маркер sVEGFR1 не обладал диагностической ценностью у больных раком желудка.

При анализе выявленных концентраций sVEGFR1 в сыворотке крови, ориентируясь на медиану и квартили в группе контроля (Таблица 3.4), установили, что концентрации маркера менее 70 пг/мл не характерны для больных раком желудка (1,0%) (Рисунок 3.4).

Таблица 3.4 - Частота выявления различных концентраций sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Уровни sVEGFR1, пг/мл	Частота, абс (отн.)		P
	Контроль	Рак желудка	
≤70	10 (33,3%)	1 (1,0%)	<0,0001
71-100	5 (16,7%)	31 (30,4%)	
101-170	8 (26,7%)	38 (37,3%)	
≥171	7 (23,3%)	32 (31,4%)	
Всего	30	102	

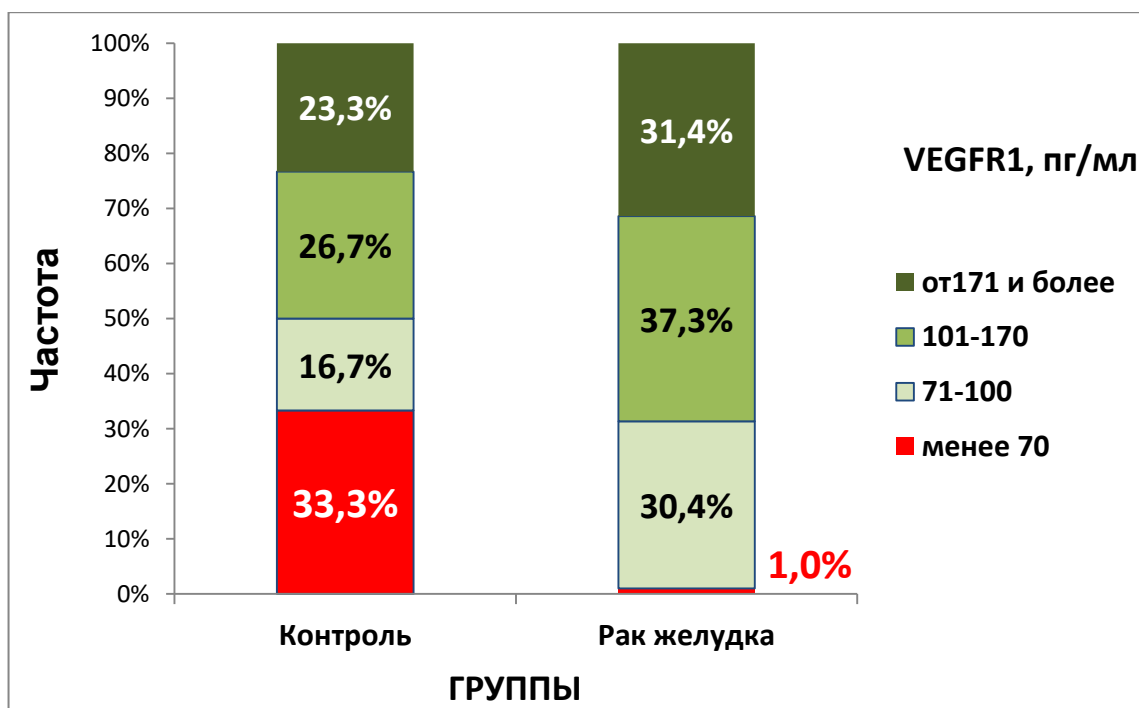


Рисунок 3.4 - Частота выявлений различных концентраций sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

У четырёх больных раком желудка после проведенного лечения медиана концентрации sVEGFR1 заметно снизилась и составила 99,2 (квартили 76,5 и 128) пг/мл, и была сопоставима с таковым показателем в группе контроля.

В таблице 3.5 представлены концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля и у больных раком желудка.

Таблица 3.5 - Концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Группа	Число больных	sVEGFR2, нг/мл			P M-W U Test
		Пределы колебания	Медиана; квартили	95% ДИ	
Контроль	85	4,4-23,1	10,6; 9,1-13,3	6,8-19,1	<0,0001
Рак желудка	102	0,1-17,7	8,9; 7,5-10,1	5,8-13,2	

Выявлены статистически значимо меньшие уровни рецептора в группе больных раком желудка (медиана 8,9 нг/мл) по сравнению с контролем (медиана 10,6 нг/мл; $p < 0,0001$) (Рисунок 3.5).

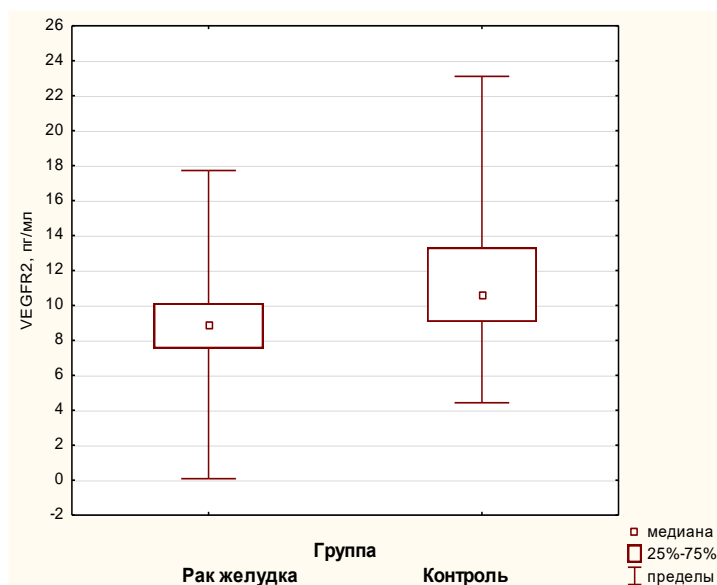


Рисунок 3.5 - Концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Не удалось найти пороговое значение концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови, приемлемым образом разделяющее группу здоровых доноров и больных раком желудка. Так значению чувствительности равному 75,5% соответствовала специфичность 11,8%. Значению специфичности равной 75,3% соответствовала чувствительность 54,9%. Таким образом, показатель sVEGFR2 в сыворотке крови не обладал необходимой диагностической ценностью у больных раком желудка.

При разделении концентраций sVEGFR2 в сыворотке крови, ориентируясь на медиану и квантили в группе контроля (Таблица 3.6) установлено, что значения рецептора менее 9,0 нг/мл выявлены в 2,3 раза чаще в группе больных раком желудка (54,3%) по сравнению с группой здоровых доноров в контроле (23,5%) и, напротив, значения рецептора более 13 нг/мл не характерны для больных раком желудка (6,9%) и встречались в 3,9 раза реже, чем в группе контроля (27,1%).

Таблица 3.6 - Частота выявления различных уровней sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Уровни sVEGFR2, нг/мл	Частота, абс (%)		P
	Контроль	Рак желудка	
≤9,0	20 (23,5%)	56 (54,3%)	<0,0001
9,1-11,0	25 (29,4%)	28 (27,5%)	
11,1-13,0	17 (20,0%)	11 (10,8%)	
≥13,1	23 (27,1%)	7 (6,9%)	
Всего	85	102	

В то же время частота обнаружения значений sVEGFR2 в пределах от 9 до 11 нг/мл в сыворотке крови обеих групп имела место примерно в одинаковом проценте случаев (29,4% - в контроле и 27,5% - у больных раком желудка). Более наглядно эти данные представлены на рисунке 3.6.

У четырёх больных раком желудка после проведенного лечения медиана концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови практически не изменилась и составила 8,3 (квантили 7,5 и 9,7) нг/мл.

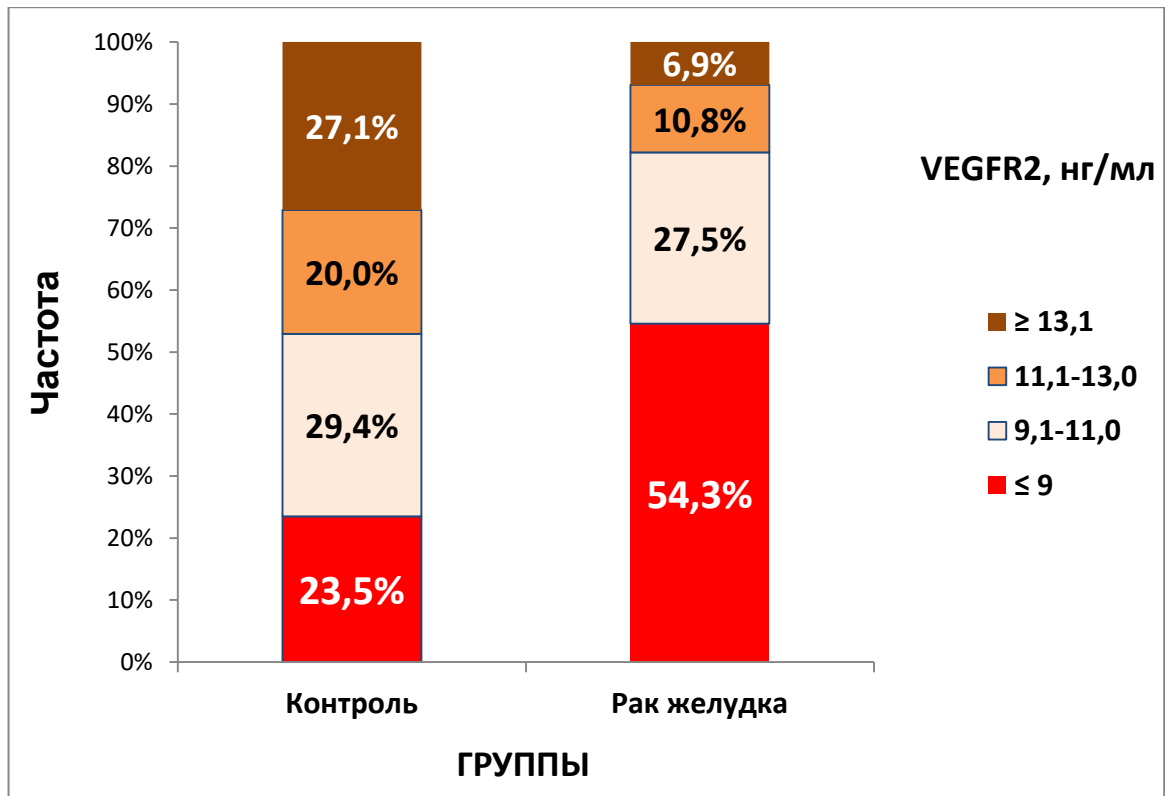


Рисунок 3.6 - Частота выявлений различных концентраций sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Выполненный дискриминантный анализ также не показал приемлемых диагностических результатов: распознавание по всем трём показателям маркеров в сыворотке крови в группе контроля составило 73,3%, в группе больных раком желудка 66,6%.

Таким образом, для больных раком желудка не характерны значения sVEGFR1 ≤ 70 пг/мл, тогда как для группы контроля не характерны значения VEGF > 688 пг/мл. Данное правило позволяет распознать с высокой вероятностью 33,3% здоровых доноров и 20,6% больных раком желудка при ошибке отнесения пациента к группе контроля в 1,0% и ошибке отнесения здорового донора к группе больных раком желудка в 4,6%.

Рассчитали коэффициенты корреляции между показателями системы VEGF в группе контроля и у больных раком желудка (Таблица 3.7). Не обнаружено тесных корреляционных зависимостей между изучаемыми показателями в обеих группах.

Таблица 3.7 - Коэффициенты корреляции между сывороточными концентрациями VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 у здоровых доноров и больных раком желудка

Группа	Rs		
	VEGF-sVEGFR1	VEGF-sVEGFR2	sVEGFR1-sVEGFR2
Контроль	-0,14; p>0,05	0	0,2; p>0,05
Рак желудка	-0,24; p<0,05	0	0,23; p<0,05

Рассчитали соотношения показателей VEGF, sVEGFR1 и sVEGFR2 в группе здоровых доноров и больных раком желудка, данные представлены в таблице 3.8. Показано, что, в обследованных группах статистически значимо различались коэффициенты соотношений VEGF/sVEGFR2 и sVEGFR1/sVEGFR2.

Таблица 3.8 - Соотношения концентраций VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Группа	Пределы колебания; медиана; квартили		
	VEGF/sVEGFR1	VEGF/sVEGFR2	sVEGFR1/sVEGFR2
Контроль	1,4-22,9; 4,0; 2,2-7,0	3,8-135; 29,0; 9,1-13,3	73,1; 8,8; 5,9-14,0
Рак желудка	0,02-15,0; 3,2; 1,1-5,4	1,0-2668; 47,7; 33,0-77,6	5,6-1205; 13,9; 10,6-34,5
P	0,17	<0,0001	<0,0001

Так, медиана соотношения VEGF/sVEGFR2 в группе контроля была ниже, чем у больных раком желудка (29,0 и 47,7, соответственно). Медиана соотношения sVEGFR1/sVEGFR2 также была ниже в контроле по сравнению с больными раком желудка (соответственно, 8,8 и 13,9). Напротив, медиана соотношения VEGF/sVEGFR1 была статистически незначимо выше в группе здоровых доноров по сравнению с больными раком желудка (соответственно 4,0 и 3,2; p>0,05).

3.2 Концентрации VEGF и его рецепторов в зависимости от пола и возраста обследованных в основных группах

Рассчитали концентрации VEGF и его рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в основных группах с учетом пола обследованных (Таблица 3.9). Не выявлено статистически значимой связи всех исследованных нами показателей ангиогенных факторов сыворотки крови с полом обследованных здоровых доноров и больных раком желудка.

Таблица 3.9 - Концентрации VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови обследованных больных раком желудка и в контроле с учетом пола

Группа	Пол	Медиана; квартили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, пг/мл
Контроль	Муж.	282; 139-468	199; 114-411	9,5; 8,8-15,5
	Жен.	280; 201-436	87,5; 60,5-133	10,7; 7,2-13,3
Рак желудка	Муж.	421; 314-618	119; 95,1-334	9,1; 7,9-10,6
	Жен.	382; 236-601	114; 91,5-384	8,4; 7,2-10,1

Рассчитали медианы концентрации VEGF и рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в основных группах с учетом возраста обследованных (Таблица 3.10). Не отмечено статистически значимой связи всех показателей с полом обследованных больных раком желудка и здоровых доноров. Однако следует отметить некоторое повышение концентраций sVEGFR1 и sVEGFR2 в сыворотке крови обследованных лиц в группе контроля с увеличением возраста.

Таблица 3.10 - Концентрации VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови обследованных больных раком желудка и в контроле с учетом возраста

Группа	Возраст, лет	Медиана; квартили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, пг/мл
Контроль	До 30	204; 139-386	82,0; 12,0-88,0	9,2; 7,4-10,0
	30-39	324; 269-512	50,0; 19,0-54,0	10,4; 7,2-15,8

Продолжение таблицы 3.10

Контроль	40-49	251; 212-379	128; 87,0-407	11,5; 8,2-15,4
	50-59	64,0 и 457	157; 114-462	13,3; 9,4-15,8
	60-69	190 и 355	67,0	8,2 и 9,3
	≥70	122 и 468	-	-
Рак желудка	До 30	-	-	-
	30-39	417; 316-588	122; 86,8-332	12,3; 8,1-13,8
	40-49	614; 272-872	114; 93,9-128	8,9; 8,9-11,0
	50-59	358; 201-547	112; 95,1-403	9,0; 8,4-10,2
	60-69	428; 336-676	119; 102-296	8,0; 7,2-9,7
	≥70	420; 297-490	116; 92,7-370	8,8; 7,0-9,8

3.3 Концентрации VEGF и его рецепторов в сыворотке крови

больных раком желудка в зависимости от клинических и морфологических характеристик заболевания

Рассчитали медианы и квартили концентраций VEGF и рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия T системы TNM (Таблица 3.11).

Таблица 3.11 - Концентрации VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с учетом критерия T

Критерий T	N	Медиана; квартили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, нг/мл
T1	19	421; 281-554	119; 96,2-432	8,3; 7,1-11,0
T2	4	296; 266-346	131; 95,9-274	8,5; 7,1-10,5
T3	21	377; 314-532	120; 97,4-296	8,5; 7,0-9,8

T4a	49	420; 272-676	112; 92,1-137	8,9; 8,0-10,0
T4b	9	429; 357-618	334; 122-403	10,7; 8,3-12,5
P		>0,05	>0,05	>0,05

Не установлено статистически значимой связи изученных показателей (VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2) с критерием T у больных раком желудка, однако следует отметить повышенные концентрации маркеров в группе пациентов с наибольшим размером первичной опухоли T4b (Рисунки 3.7а,б,в).

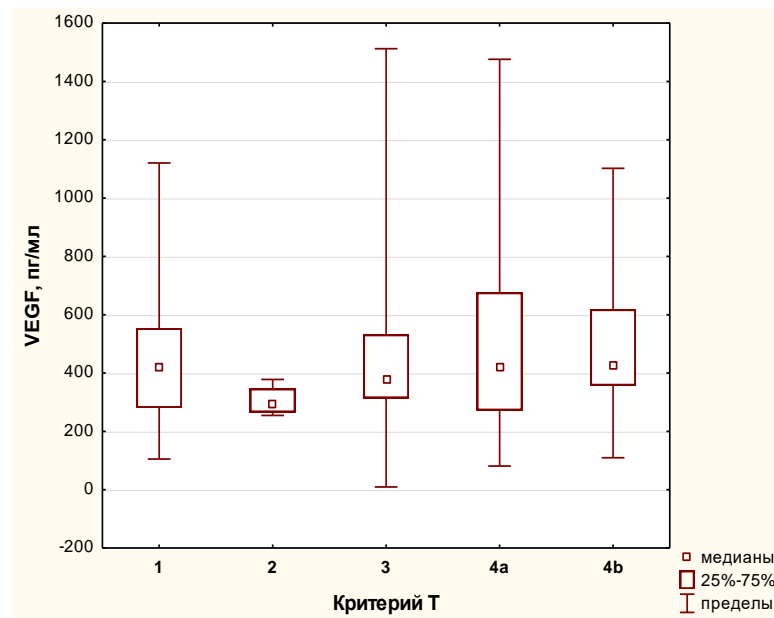


Рисунок 3.7а - Концентрации VEGF в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности T

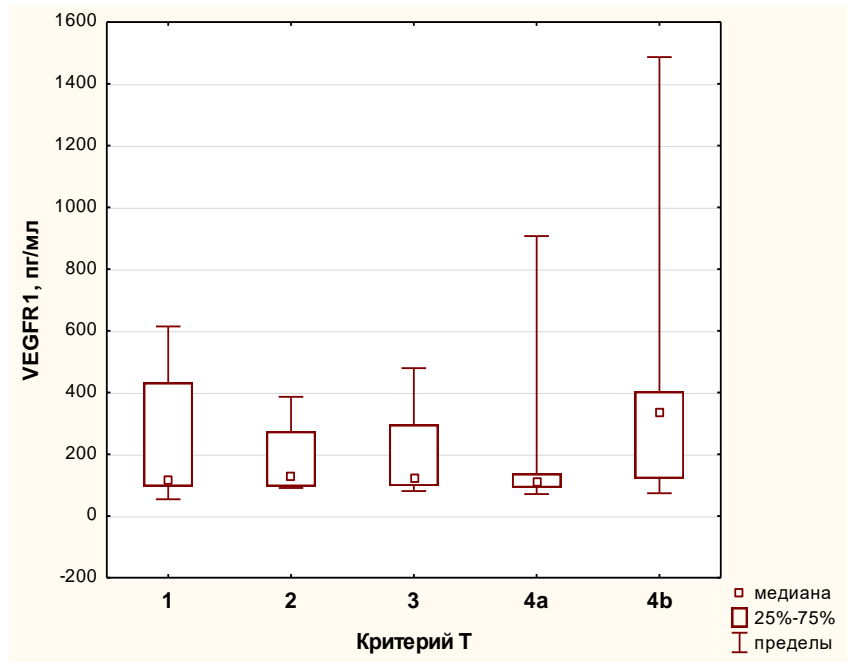


Рисунок 3.7б - Концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности Т

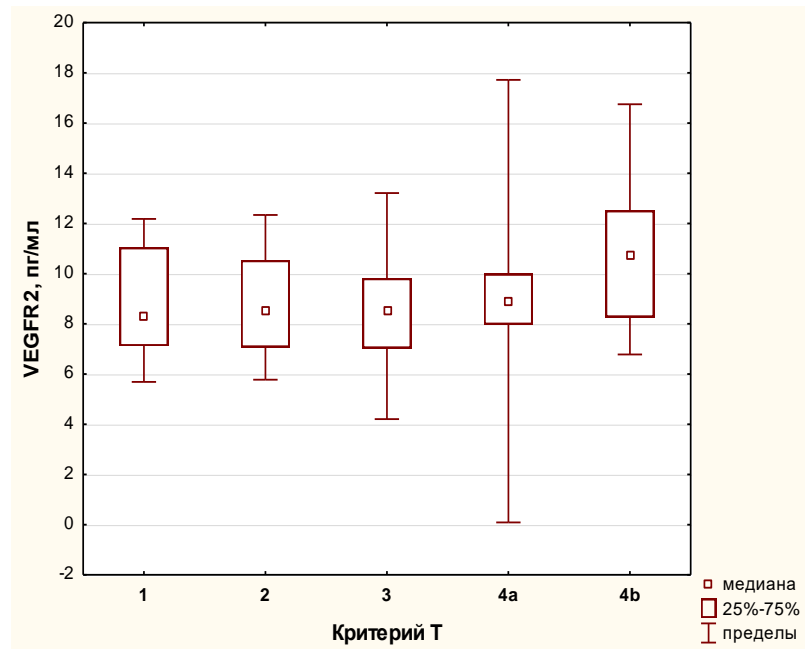


Рисунок 3.7 в - Концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности Т

Рассчитали концентрации VEGF и рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в

сыворотке крови пациентов в зависимости от критерия N системы TNM (Таблица 3.12).

Таблица 3.12 - Концентрации VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с учетом критерия N

Критерий N	N	Медиана; квантили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR,1 пг/мл	sVEGFR2, нг/мл
N0	51	378; 272-532	119; 93,9-401	8,5; 7,0-10,2
N1	17	421; 203-691	120; 105-396	8,8; 8,0-9,7
N2	22	416; 314-547	113; 86,8-126	9,2; 7,9-10,0
N3	12	608; 432-719	116; 91,8-145	8,9; 7,6-10,8

Не установлено значимых различий в концентрациях изученных проангиогенных факторов у больных раком желудка с учетом критерия распространенности опухолевого процесса N. Однако следует отметить заметное увеличение медиан VEGF в сыворотке крови больных раком желудка при критерии N1 (378 пг/мл) и при критерии N3 (608 пг/мл) ($p=0,13$). (Рисунок 3.8 а).

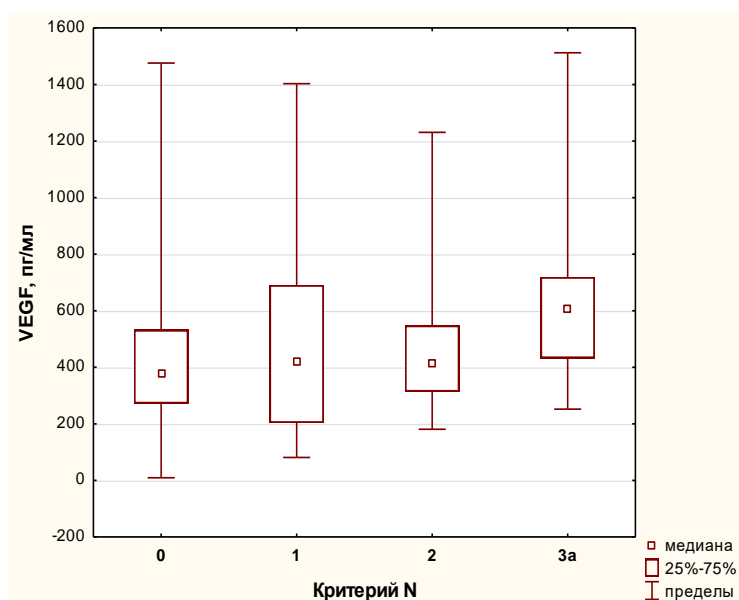


Рисунок 3.8 а - Концентрации VEGF в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности N

Для рецептора sVEGFR1 отмечено его некоторое снижение концентрации в сыворотке крови по мере увеличения критерия N (Рисунок 3.8б). Уровни sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка не зависели от критерия N системы TNM (Рисунок 3.8в).

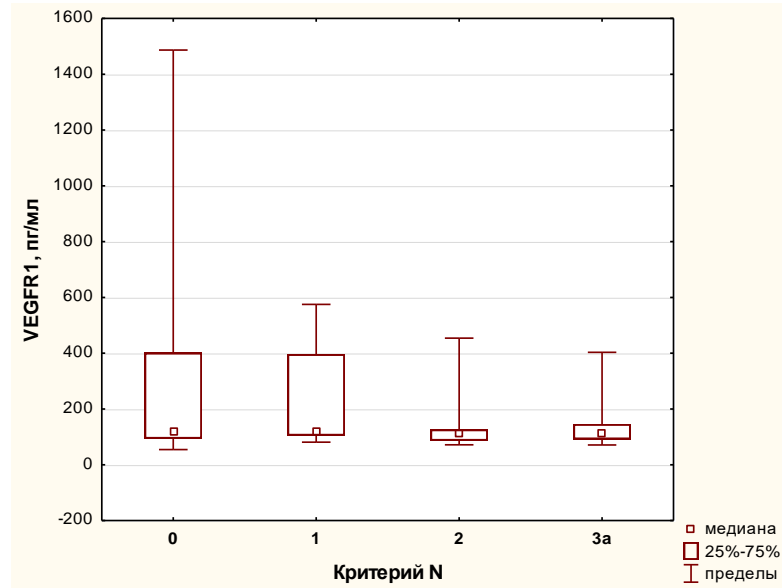


Рисунок 3.8 б - Концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности N

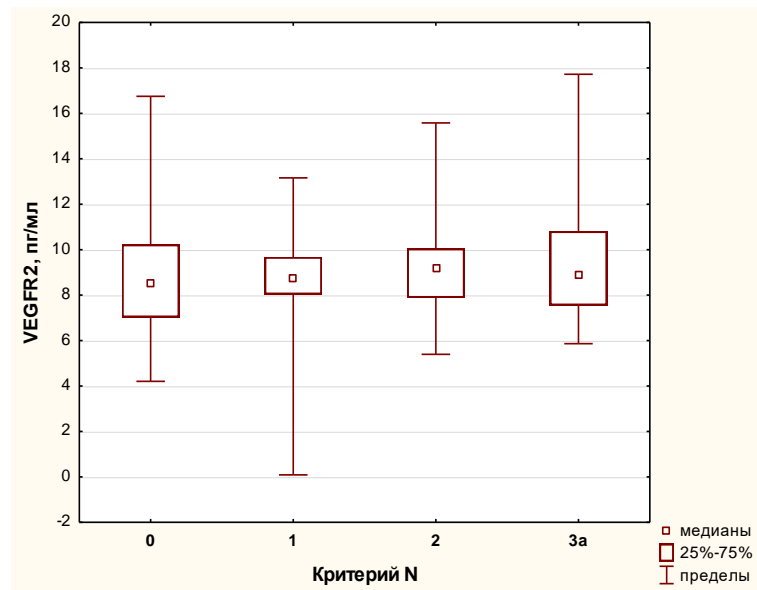


Рисунок 3.8 в - Концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности N

Рассчитали концентрации VEGF и его рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови пациентов в зависимости от критерия M системы TNM, данные представлены в таблице 3.13 и на рисунках 3.9 а, 3.9 б, 3.9 в.

Таблица 3.13 - Концентрации VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с учетом критерия M

Критерий M	N	Медиана; квантили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, нг/мл
M0	78	418; 292-618	122; 101-370	8,7; 7,3-10,1
M1	24	418; 283-539	93,9; 86,8-122	8,9; 8,6-11,2

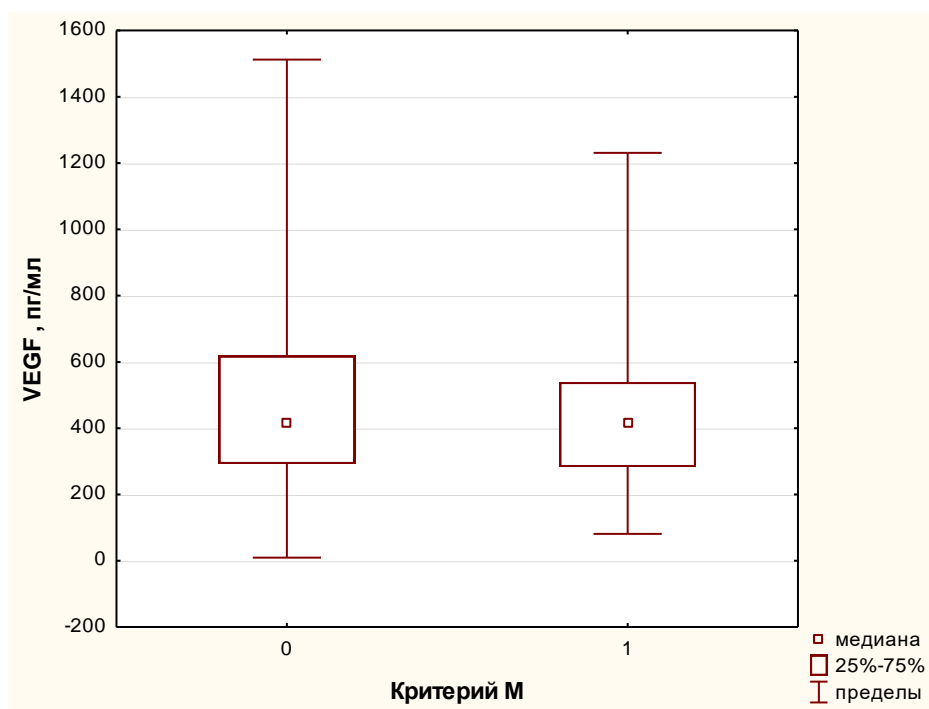


Рисунок 3.9 а - Концентрации VEGF в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности M

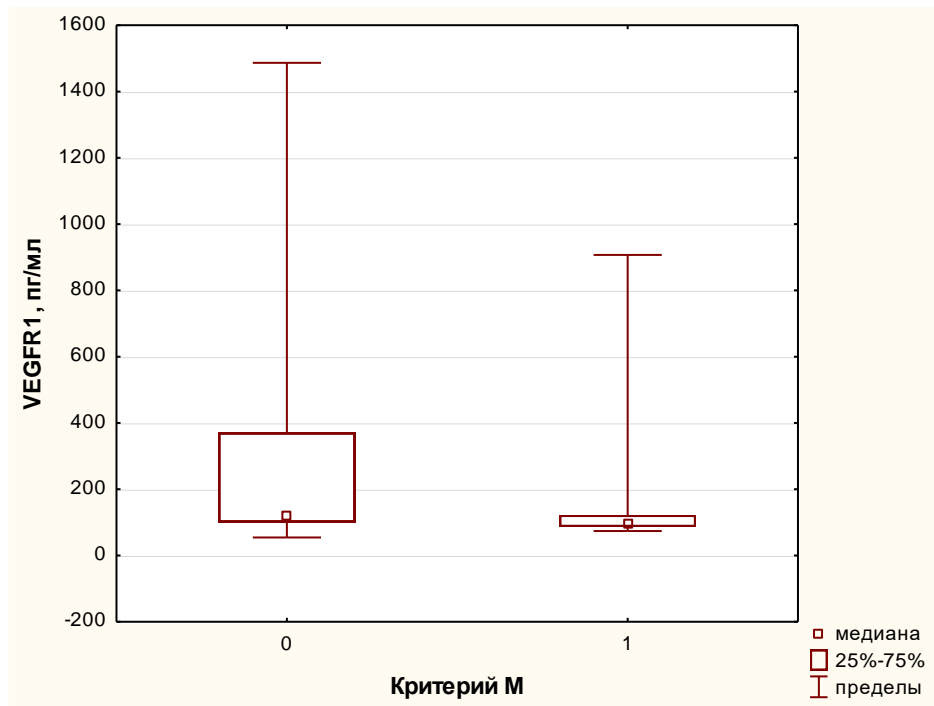


Рисунок 3.9 б - Концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности M

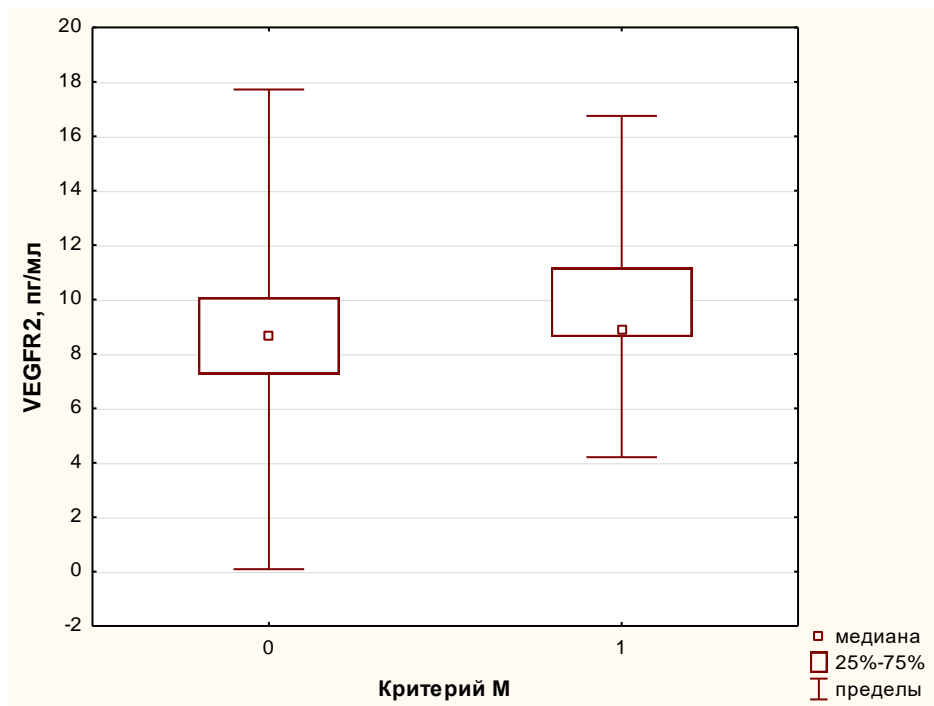


Рисунок 3.9 в - Концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия распространенности M

Рассчитали концентрации VEGF и рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови пациентов в зависимости от клинической стадии заболевания, данные представлены в таблице 3.14.

Таблица 3.14 - Концентрации VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с учетом стадии заболевания

Стадия	N	Медиана; квартили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, нг/мл
Ia	17	421; 295-554	114; 96,2-370	8,1; 7,1-11,0
Ib	6	296; 255-378	274; 101-456	9,2; 8,4-11,0
IIa	8	443; 218-707	124; 116-194	8,2; 8,4-11,0
IIb	9	419; 236-691	116; 98,6-353	9,3; 6,9-9,7
IIIa	10	453; 297-700	104; 95,1-139	8,7; 8,0-9,5
IIIb	12	416; 317-645	125; 115-132	8,9; 7,9-10,1
IIIc	11	442; 357-728	119; 92,1-403	8,9; 7,3-10,9
IV	29	417; 272-490	102; 88,6-396	8,9; 8,5-10,7
P		>0,05	>0,05	>0,05

Примечание: N – число наблюдений.

Не установлено статистически значимой связи концентраций как VEGF, так и рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка со стадией заболевания.

Следует отметить, что частота выявления концентраций VEGF >688 пг/мл, не характерных для группы контроля, составила в группе больных раком желудка с I стадией 2 из 23 (8,7%), повышалась до 5 из 17 (29,4%) при II стадии, до 9 из 33 (27,3%) при III стадии и снижалась до 17,2% (5 из 29) в группе больных с IV стадией.

При расчете концентрации VEGF и его рецепторов в сыворотке крови

пациентов в зависимости от локализации опухоли в желудке не было установлено статистически значимой связи концентраций как VEGF, так и его рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с учетом анатомической локализации опухоли в пораженном органе (Таблица 3.15).

Таблица 3.15 - Концентрации VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с учетом локализации опухоли в пораженном органе

Локализация	N	Медиана; квартили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, нг/мл
Проксимальный отдел	21	420; 330-618	112; 89,2-162	8,8; 7,8-9,7
Тело желудка	48	393; 296-596	122; 95,6-328	8,7; 7,2-10,0
Дистальный отдел	18	444; 251-671	113; 98,6-456	9,4; 7,8-11,0
КЭР	3	436; 314-872	101; 70,9-114	8,4; 5,9-11,0
Тотальное поражение	11	429; 272-532	116; 93,9-455	8,9; 6,5-10,7
P		>0,05	>0,05	>0,05

Были рассчитаны концентрации VEGF и его рецепторов в сыворотке крови пациентов в зависимости от гистологического варианта строения опухоли (Таблица 3.16). Показано, что частота значений VEGF >688 пг/мл, нехарактерных для группы контроля, была наименьшей в группе пациентов с высокодифференцированной аденокарциномой (1 из 9/11,1%). В группе больных с умеренно дифференцированной аденокарциномой желудка частота высоких уровней VEGF была сопоставима (2 из 18/11,2%) с группой высокодифференцированных опухолей, тогда как у больных низкодифференцированной аденокарциномой частота высоких уровней VEGF увеличивалась до 26% (13 из 50).

Таблица 3.16 - Уровни VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с учетом степени дифференцировки и гистологического строения опухоли

Гистологический вариант и степень дифференцировки опухоли	N	Медиана; квартили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, нг/мл
Высокодифференцированная аденокарцинома	9	382; 314-554	101; 75,6-114	8,7; 8,3-11,0
Гистологический вариант и степень дифференцировки опухоли	N	Медиана; квартили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, нг/мл
Умеренно дифференцированная аденокарцинома	18	391; 294-531	119; 93,8-363	7,9; 7,1-9,2
Низкодифференцированная аденокарцинома	50	421; 277-691	118; 95,0-370	8,9; 7,8-10,2
Перстневидноклеточный рак	21	418; 272-592	105; 99,2-137	8,9; 8,3-10,2
Недифференцированный рак	2	340-700	454-479	8,9-10,1

В группе больных перстневидноклеточным раком желудка частота высоких концентраций VEGF также была несколько выше и составила 19,1% (4 из 21).

Не установлено статистически значимых корреляционных зависимостей между концентрациями как VEGF, так и его рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с числом метастазов в регионарных лимфоузлах.

При анализе концентрации VEGF и его рецепторов в сыворотке крови пациентов в зависимости от клинических проявлений заболевания не установлено статистически значимой связи концентраций как VEGF, так и рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с клиническими проявлениями заболевания. Данные представлены в таблице 3.17. Однако следует

отметить, что концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови были наименьшими в группе больных раком желудка с бессимптомным течением (медиана 8,7 пг/мл).

Таблица 3.17 - Концентрации VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка с учетом клинических проявлений опухоли

Клиническое проявление рака желудка	N	Медиана; квартили		
		VEGF, пг/мл	sVEGFR1, пг/мл	sVEGFR2, пг/мл
Бессимптомное течение	56	402; 263-571	116; 94,5-367	8,7; 7,1-10,0
Кровотечение	16	392; 322-719	117; 92,7-269	9,2; 7,9-11,1
Стеноз	11	417; 340-436	123; 92,7-382	10,2; 8,8-12,2
Дисфагия	16	428; 244-835	115; 90,9-261	8,8; 7,4-9,2
P		>0,05	>0,05	0,14

Подводя итоги сравнительного анализа содержания VEGF в сыворотке крови больных раком желудка и здоровых доноров следует отметить, что концентрации VEGF в сыворотке крови практически здоровых доноров группы контроля были статистически значимо ниже, чем у больных раком желудка, медианы составили соответственно 275 и 419 пг/мл ($p < 0,0001$). Показатель VEGF не обладал приемлемой диагностической ценностью, только у 21 (20,6%) больного раком желудка концентрации VEGF в сыворотке крови превышали 95% ДИ в контроле, равный 688 пг/мл. При этом концентрации VEGF в сыворотке крови больных раком желудка не отражали такие признаки как пол, возраст, критерии системы TNM, стадию заболевания, локализацию опухоли в пораженном органе, гистологический вариант строения опухоли и клинические симптомы заболевания.

Анализ уровней sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка выявил следующие особенности. В группе больных раком желудка обнаружены статистически значимо большая медиана концентрации sVEGFR1 (116 пг/мл) по

сравнению с контролем (102 пг/мл; $p=0,0029$). Данный рецептор не обладал приемлемой диагностической ценностью, концентрации sVEGFR1 менее 70 пг/мл не характерны для больных раком желудка (1,0%), но преобладали в контроле 33,3%. При этом, уровни sVEGFR1 в сыворотке крови больных раком желудка не отражали такие признаки как пол и возраст пациентов, критерии системы TNM стадию заболевания, локализацию опухоли в пораженном органе, гистологический вариант строения опухоли и клинические проявления заболевания.

Анализ содержания sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка выявил статистически значимо меньшую медиану концентрации маркера (8,9 пг/мл) по сравнению с группой контроля (10,6 пг/мл; ($p<0,0001$)). Уровни sVEGFR2 в сыворотке крови менее 9,0 пг/мл выявляли в 2,3 раза чаще в группе больных раком желудка (54,3%) по сравнению с контролем (23,5%), и, напротив, значения рецептора sVEGFR2 более 13 пг/мл не были характерны для больных раком желудка (6,9%) и встречались в 3,9 раза реже, чем в контроле (27,1%). При этом, концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови больных раком желудка не отражали такие признаки как пол и возраст пациентов, критерии системы TNM, стадию заболевания, локализацию опухоли в желудке, гистологический вариант строения опухоли и клинические симптомы заболевания.

Кроме того, мы не выявили тесных корреляционных зависимостей между уровнями VEGF и его рецепторами sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови как в группе контроля, так и у больных раком желудка. Однако коэффициент соотношения VEGF/sVEGFR2 в контроле у здоровых доноров был статистически значимо ниже по сравнению с больными раком желудка (соответственно 29,0 и 47,7; $p<0,0001$). При этом коэффициент соотношения sVEGFR1/sVEGFR2 в группе контроля был статистически значимо ниже, чем у больных раком желудка (8,8 и 13,9 соответственно; $p<0,0001$). Коэффициенты соотношения VEGF/sVEGFR1 в контроле и у больных раком желудка не отличались и составили соответственно 4,0 и 3,2 ($p=0,17$).

ГЛАВА 4. КОНЦЕНТРАЦИИ MMP-2, MMP-7, MMP-9 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

4.1 Концентрации MMP-2, 7 и 9 в сыворотке крови здоровых доноров и больных раком желудка

В таблице 4.1 представлены статистические характеристики уровней MMP-2 в основных группах.

Таблица 4.1 - Концентрации MMP-2 в сыворотке крови обследованных больных раком желудка и в контроле

Группа	N	MMP-2, нг/мл			P M-W U Test
		Пределы	Медиана; квантили	95% ДИ	
Контроль	58	161-1594	469; 346-650	233-1089	<0,0001
Рак желудка	101	126-508	212; 188-246	145-360	

Показано, что концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка были статистически значимо ниже, чем в контроле (212 нг/мл и 469 нг/мл, соответственно; $p < 0,0001$) (Рисунок 4.1).

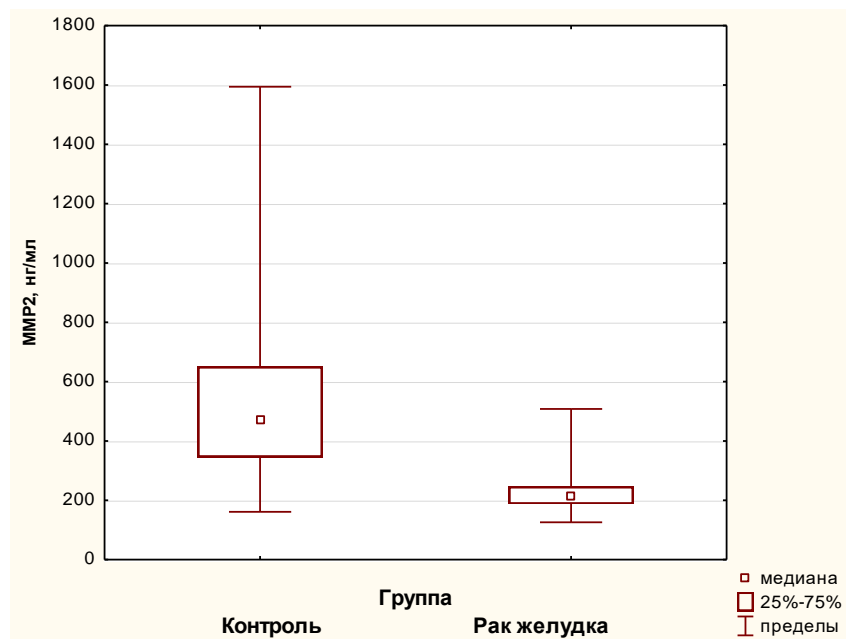


Рисунок 4.1 - Концентрации MMP-2 в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля и больных раком желудка

Верхний 95% ДИ MMP-2 в группе больных раком желудка равнялся 360 нг/мл, в группе контроля нижний 95% ДИ равнялся 233 нг/мл, то есть показатель обладал выраженной диагностической ценностью.

С помощью построения кривых ROC за пороговое значение выбран уровень MMP-2, равный 300 нг/мл. Чувствительность данного порогового уровня при разделении групп больных раком желудка и здоровых доноров составила 89,1%, специфичность 81,7% (Рисунок 4.2).

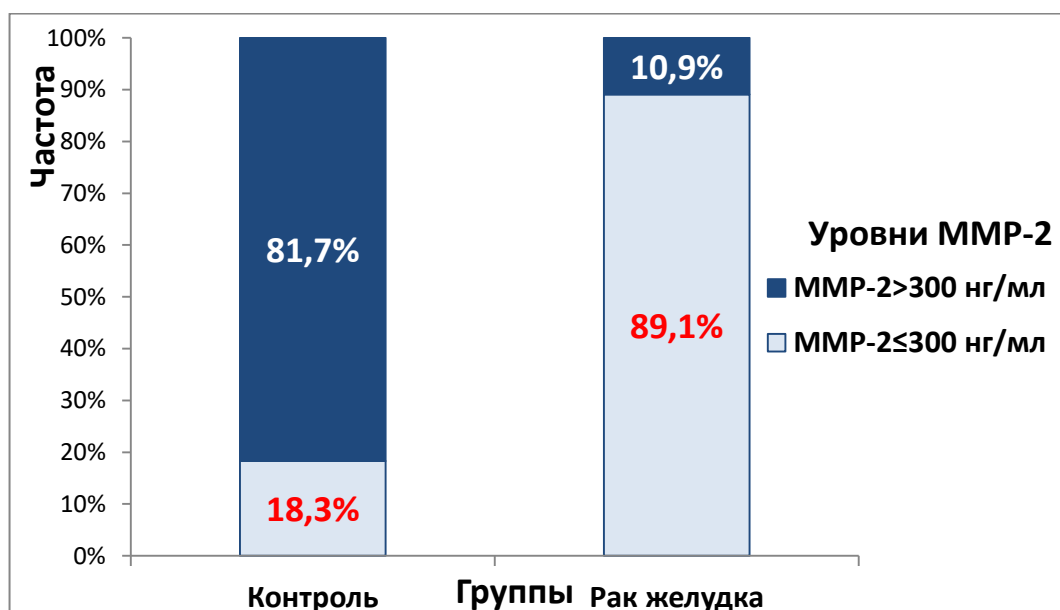


Рисунок 4.2 - Частота выявления значений ММП-2 менее и более 300 нг/мл в группе контроля и у больных раком желудка

У четырёх больных раком желудка с повторными измерениями MMP-2 медиана концентрации показателя составила 304 (176-456 нг/мл), тогда как исходно у этих же пациентов медиана концентрации MMP-2 была заметно ниже (198; 165-214) нг/мл. Повышение показателя выявлено у трёх из четырёх пациентов.

В таблице 4.2 представлены статистические характеристики уровней MMP-7 в основных группах. Медиана концентрации MMP-7 в сыворотке крови больных раком желудка была статистически значимо выше, чем в контроле (соответственно, 5,1 и 2,4 нг/мл; $p < 0,0001$) (Рисунок 4.3).

Таблица 4.2 - Концентрации MMP-7 в сыворотке крови обследованных больных раком желудка и в контроле

Группа	N	MMP-7, нг/мл			P M-W U Test
		Пределы	Медиана; квартили	95% ДИ	
Контроль	32	1,1-9,4	2,4; 1,8-3,6	1,4-6,4	<0,0001
Рак желудка	102	1,1-28,2	5,1; 4,8-6,6	3,2-10,8	

Верхний 95% ДИ MMP-7 в группе контроля равнялся 6,4 нг/мл. Следовательно, концентрации MMP-7 в сыворотке крови более 6,4 нг/мл с высокой вероятностью указывают на рак желудка, доля таких пациентов равнялась 25,5% (26 из 102)

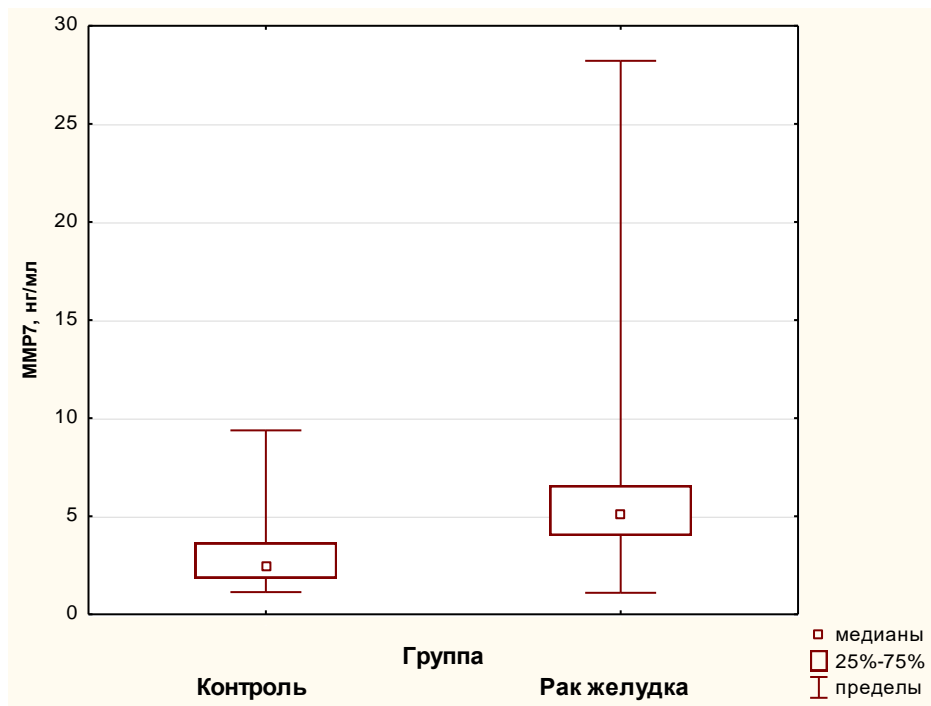


Рисунок 4.3 - Концентрации MMP-7 в сыворотке крови группы контроля и у больных раком желудка

Выполненное построение кривых ROC позволило определить наиболее оптимальное пороговое значение MMP-7, наилучшим образом разделяющее

группы контроля и больных раком желудка. Таким оказалось значение ММР-7, равное 3,8 нг/мл (чувствительность составила 80,4% при специфичности 77,9%). (Рисунок 4.4).

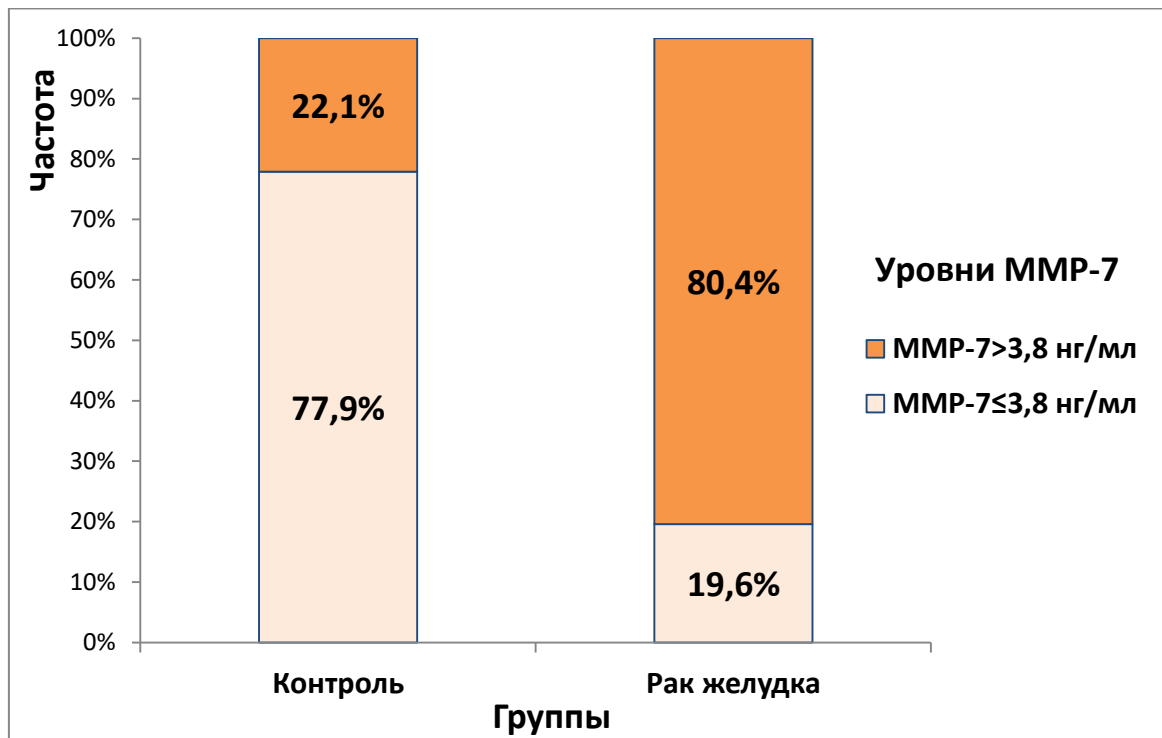


Рисунок 4.4 - Частота выявления значений ММР-7 менее и более 3,8 нг/мл в контроле и в группе больных раком желудка

У четырёх больных раком желудка с повторными измерениями сывороточного ММР-7 после проведенного лечения выявила медиану концентрации показателя равную 6,4; 3,8-10,9 нг/мл, тогда как исходно у этих же пациентов медиана концентрации ММР-9 была ниже 4,8 (3,8-7,8) нг/мл. У двух из четырёх пациентов выявлено незначимое снижение показателя.

В таблице 4.3 представлены статистические характеристики уровней ММР-9 в основных группах.

Из данных, представленных в таблице 4.3 следует, что медиана концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка была незначимо ниже, чем в контроле (соответственно 823 и 966 нг/мл).

Таблица 4.3 - Концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Группа	N	ММР-9, нг/мл			P M-W U Test
		Пределы	Медиана; квартили	95% ДИ	
Контроль	42	239-1732	966; 756-1195	107-1352	>0,1
Рак желудка	74	251-1974	823; 632-1121	287-1582	

У четырёх больных раком желудка с повторными измерениями сывороточного ММР-9 после проведенного лечения выявили, что медиана концентрации маркера составила 642 (90,8-1233) нг/мл, тогда как исходно у этих же пациентов медиана концентрации ММР-9 была заметно выше (994; 489-1415) нг/мл. Снижение показателя выявлено у трёх из четырёх пациентов.

Таким образом, на наличие злокачественной опухоли желудка указывают значения сывороточных ММР-2 ≤ 300 нг/мл, ММР-7 $> 3,8$ нг/мл и, особенно, ММР-7 $> 6,4$ нг/мл. Напротив, уровни ММР-9 ≤ 287 нг/мл не характерны для больных раком желудка.

Данные по коэффициентам соотношений концентраций ММР-2, 7, 9 типа, одновременно измеренные в сыворотке крови здоровых доноров и больных раком желудка, представлены в таблице 4.4. Наиболее значимыми оказались коэффициенты соотношения ММР-2/ММР-7 и соотношение ММР-9/ММР-7.

Таблица 4.4 - Коэффициенты соотношения концентраций ММР-2, 7, 9 типа в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле

Группы	Медиана; квартили		
	ММР-2/ММР-7	ММР-2/ММР-9	ММР-9/ММР-7
Контроль	283; 197-349	0,61; 0,43-0,77	445; 335-576
Рак желудка	41,6; 32,9-55,2	0,26; 0,18-0,46	135; 99,8-212
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Так, у 96,4% здоровых доноров группы контроля (27 из 28) соотношение концентраций ММР-2/ММР-7 не превышало 100 и, напротив, у 96,0% (97 из 101) больных раком желудка данное соотношение было больше 100 ($p < 0,0001$). Следовательно, данное соотношение обладает высокой диагностической ценностью (Рисунок 4.5).

У 89,3% здоровых доноров группы контроля (25 из 28) соотношение концентраций ММР-9/ММР-7 было больше 150 и, напротив, у 83,8% (62 из 74) больных раком желудка данное соотношение не превышало 150 ($p < 0,0001$). Таким образом, данное соотношение также обладает диагностической ценностью. (Рисунок 4.5).

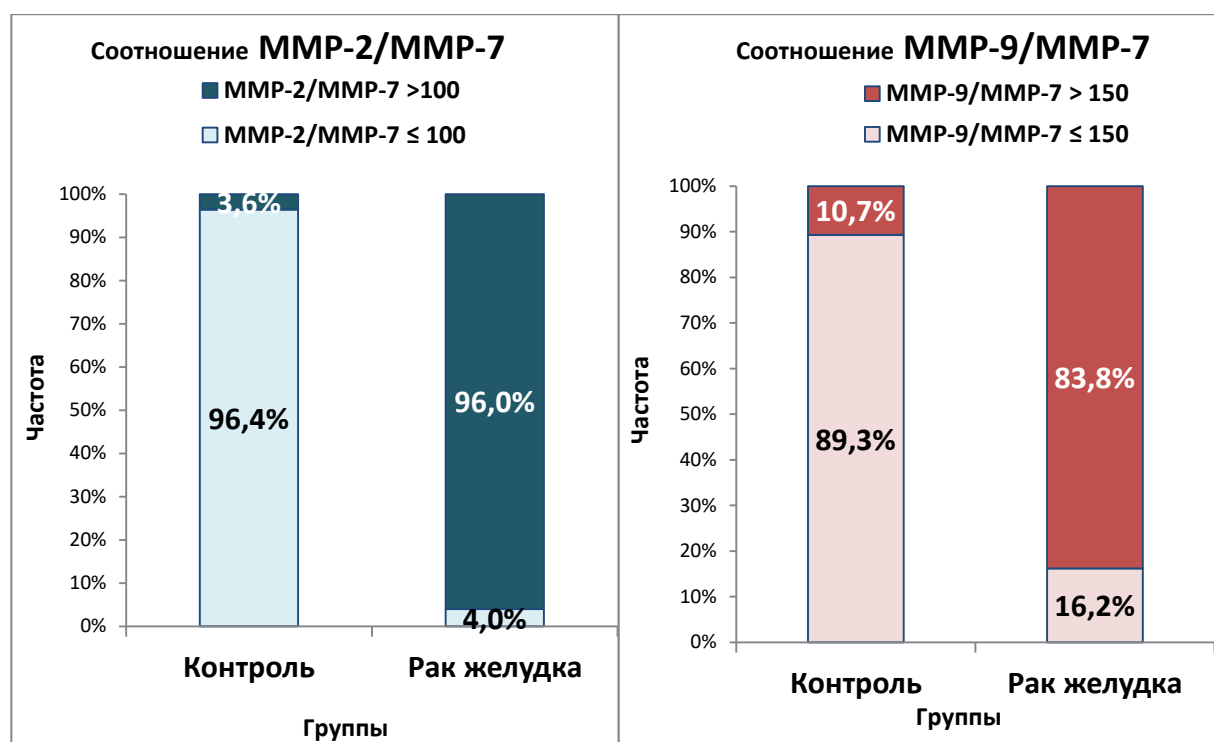


Рисунок 4.5 - Частота выявления значений соотношения ММР-2/ММР-7 менее и более 100 (слева) и ММР-9/ММР-7 менее и более 150 (справа) в группе контроля и в группе больных раком желудка

Эти данные показывают, что измерение показателей ММР-2, 7, 9 типа в сыворотке крови представляется перспективным при уточнении диагноза и наблюдения за больными раком желудка.

В группе контроля не выявлено статистически значимой корреляционной

зависимости между концентрациями ММР-2, 7, 9 типа, измеренными в сыворотке крови. В группе больных раком желудка обнаружена слабая статистически значимая прямая корреляционная зависимость между концентрациями ММР-2 и ММР-7 в сыворотке крови пациентов до лечения ($r_s=0,21$; $p<0,05$).

4.2 Концентрации ММР-2, 7, 9 в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля и больных раком желудка с учетом данных анамнеза

В таблице 4.5 представлены данные сывороточных концентраций ММР-2, 7, 9 в зависимости от пола обследованных здоровых доноров и больных раком желудка.

Таблица 4.5 - Концентрации ММР-2, 7 и 9 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле в зависимости от пола

Группа	Пол	Медиана; квартили		
		ММР-2, нг/мл	ММР-7, нг/мл	ММР-9, нг/мл
Контроль	Муж.	517; 404-649	2,0; 1,7-2,9	1101; 844-1326
	Жен.	535; 360-793	2,4; 1,8-3,8	349; 259-447
P		>0,05	>0,05	<0,0001
Рак желудка	Муж.	214; 176-245	5,0; 3,8-6,2	936; 673-1161
	Жен.	211; 199-254	5,2; 4,3-6,9	757; 428-952
P		>0,05	>0,05	0,01

Концентрации ММР-2 и ММР-7 не различались в сыворотке крови обследованных здоровых доноров и больных раком желудка в зависимости от пола ($p>0,05$), тогда как концентрации ММР-9 у женщин были статистически значимо ниже, чем у мужчин как в группе контроля ($p < 0,0001$), так и у больных раком желудка ($p=0,01$). При этом, в группе больных раком желудка женщин концентрации ММР-9 в сыворотке крови были статистически значимо, чем в контроле (соответственно, 757 нг/мл и 349 нг/мл; $p=0,01$), тогда как для мужчин

таких различий не установлено (936 нг/мл и 1101 нг/мл, соответственно; $p > 0,05$) (Рисунок 4.6).

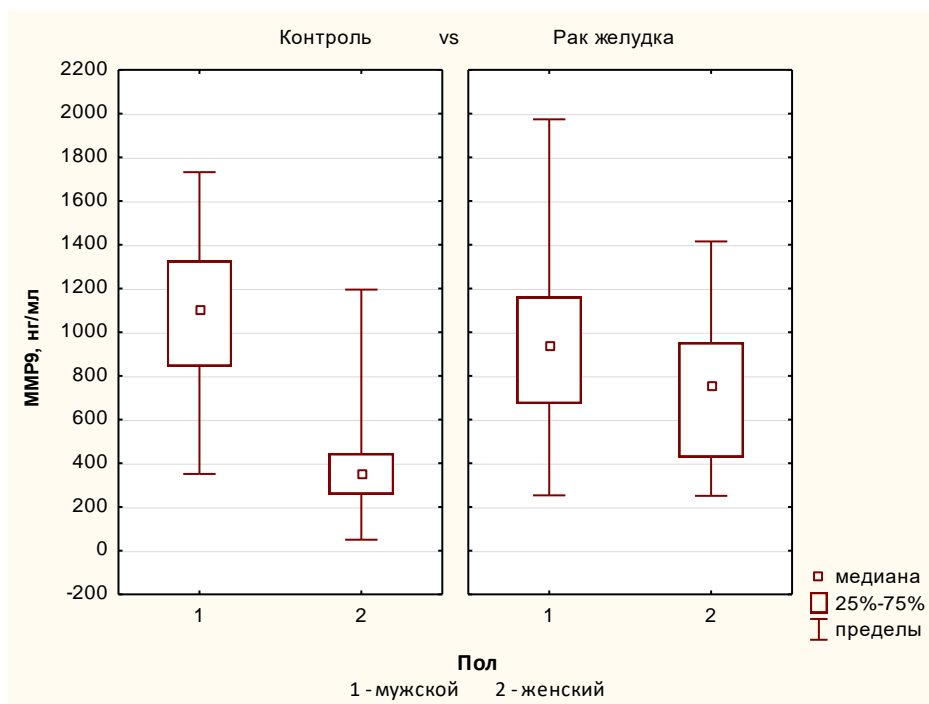


Рисунок 4.6 - Концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле в зависимости от пола

Данные по корреляционной зависимости между возрастом обследованных здоровых и больных раком желудка и концентрациями ММР-2, 7, 9 в сыворотке крови представлены на рисунках 4.7 и 4.8.

В группе контроля обнаружены статистически значимые положительные коэффициенты корреляции между возрастом и ММР-2 ($r_s = 0,39$; $p < 0,05$) и ММР-7 ($r_s = 0,45$; $p < 0,05$). При этом, зависимость между возрастом здоровых доноров и ММР-9 была обратной и незначимой, тогда как у больных раком желудка не обнаружено статистически значимых коэффициентов корреляции ($r = 0$).

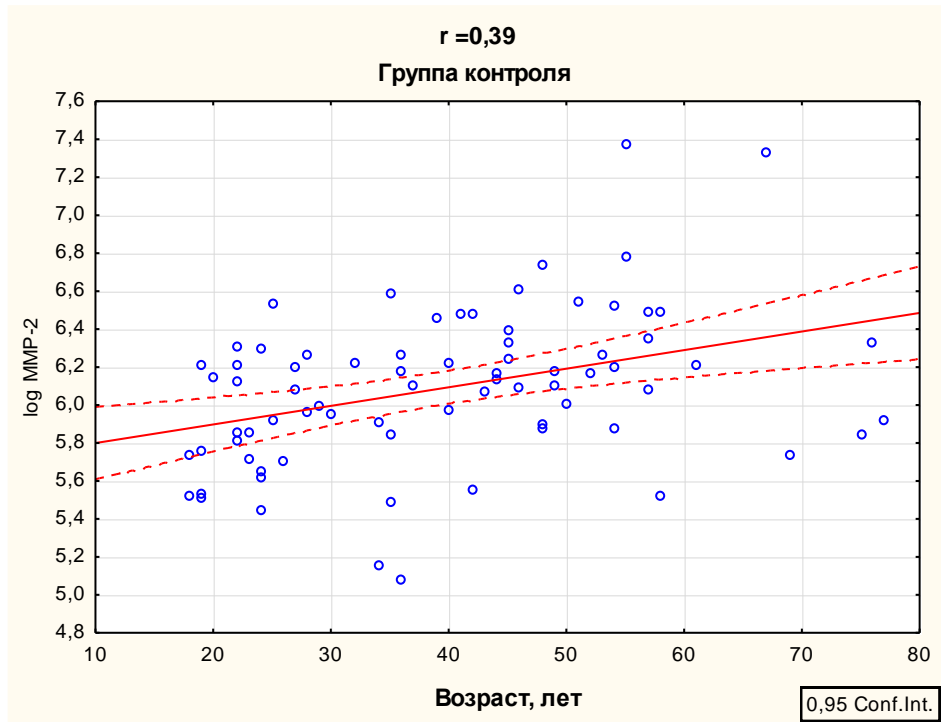


Рисунок 4.7 - Корреляционная зависимость между концентрациями MMP-2 в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля и их возрастом

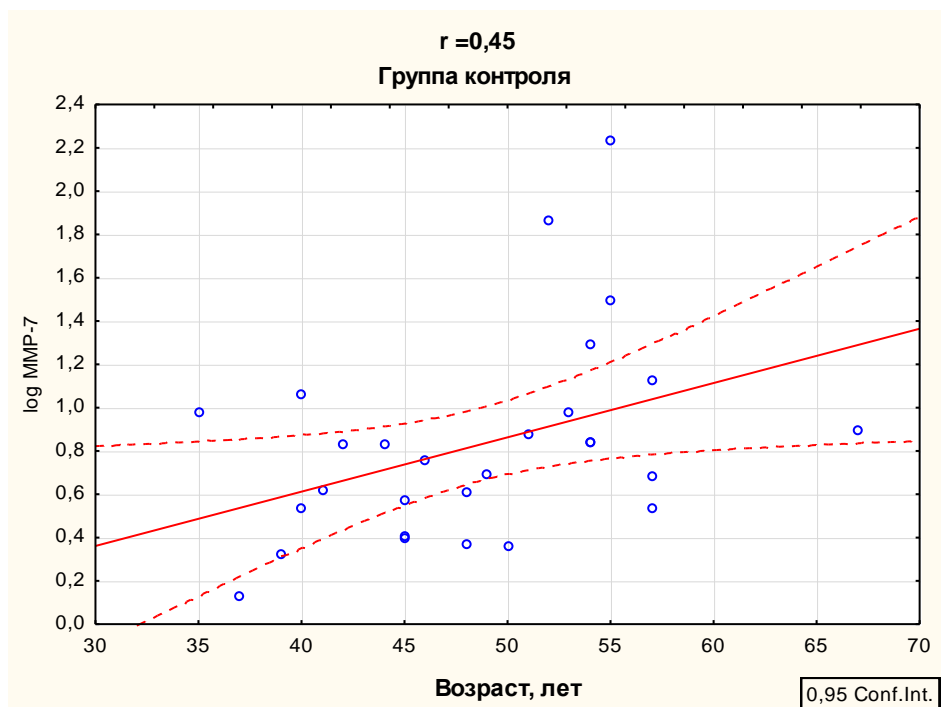


Рисунок 4.8 - Корреляционная зависимость между концентрациями MMP-7 в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля и их возрастом

В таблице 4.6 представлены данные концентраций MMP-2, 7, 9 типа в зави-

симости от возраста обследованных обеих сравниваемых групп. Показано, что в группе контроля дисперсионный анализ показал статистически значимое повышение концентраций ММР-2 ($p=0,02$) и снижение концентраций ММР-9 ($p=0,045$) в сыворотке крови здоровых доноров при увеличении их возраста.

Таблица 4.6 - Концентрации ММР-2, 7, 9 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле в зависимости от возраста

Группа	Возраст, лет	Медиана; квантили		
		ММР-2, нг/мл	ММР-7, нг/мл	ММР-9, нг/мл
Контроль	До 30	361; 302-494	-	-
	30-39	417; 294-515	1,4; 1,1-2,7	1195; 1108-1326
	40-49	478; 435-597	1,8; 1,6-2,2	853; 757-1033
	50-59	548; 436-681	2,5; 2,1-4,9	1021; 853-1297
	60-69	501; 312-1524	2,5*	736; 460-1102
	≥ 70	372; 346-561	-	418; 391-445
Р (К-W)		0,02	0,19	0,045
Рак желудка	До 40	203; 199-234	5,0; 3,1-10,0	1126; 815-1226
	40-49	209; 178-224	4,4; 4,0-5,6	1027; 822-1582
	50-59	220; 198-260	5,6; 4,3-6,6	674; 454-883
	60-69	212; 184-236	5,2; 4,1-6,3	826; 668-1053
	≥ 70	217; 169-261	5,0; 4,0-5,9	981; 772-1114
Р		$>0,05$	$>0,05$	0,2

Примечание: *абсолютное значение.

В группе больных раком желудка не было выявлено взаимосвязи между показателями ММР и возрастом пациентов (Рисунки 4.9; 4.10 и 4.11).

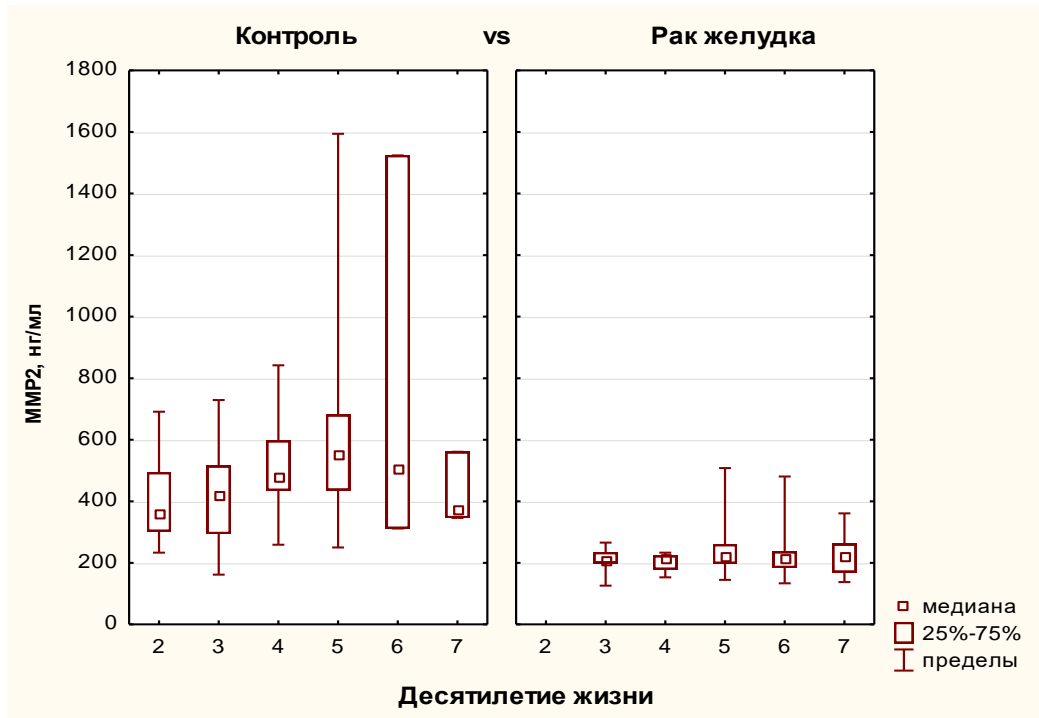


Рисунок 4.9 - Концентрации ММР-2 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле в зависимости от возраста

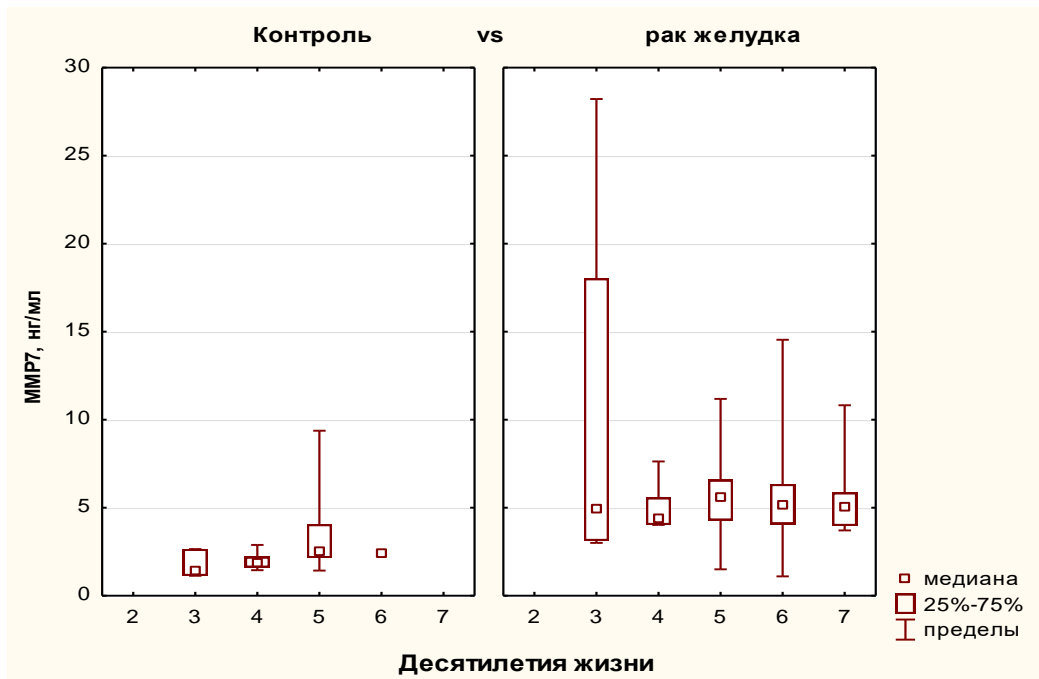


Рисунок 4.10 - Концентрации ММР-7 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле в зависимости от возраста

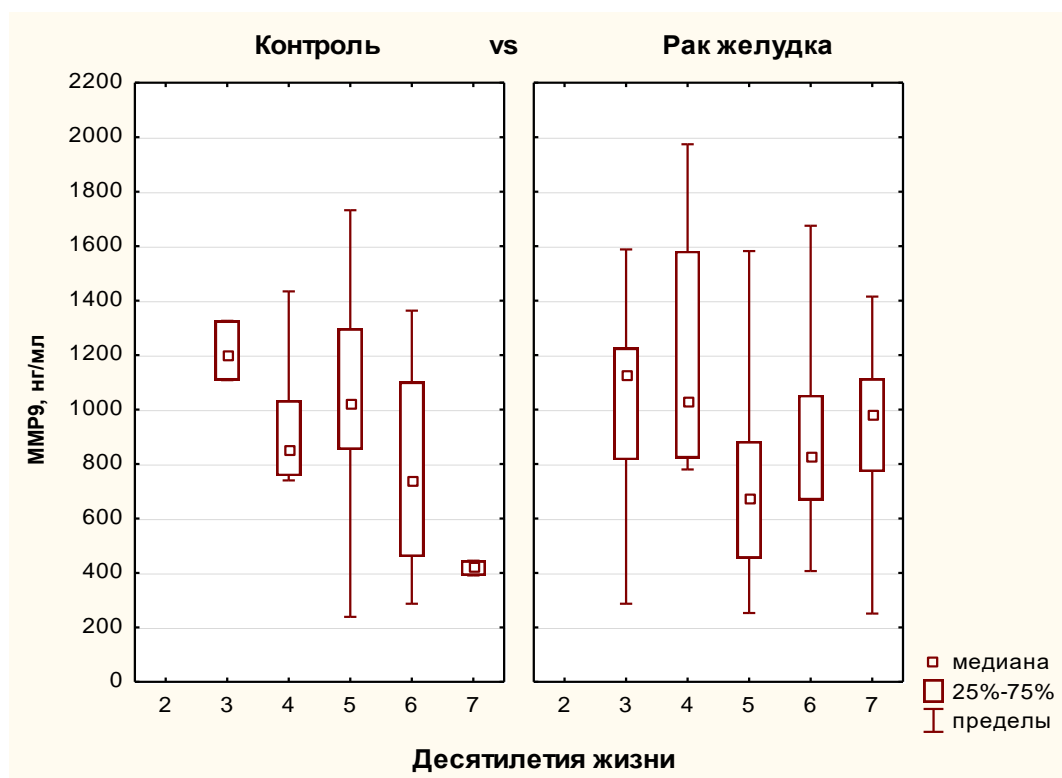


Рисунок 4.11 - Концентрации MMP-9 в сыворотке крови больных раком желудка и в контроле в зависимости от возраста

4.3 Концентрации MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от клинико-морфологических характеристик заболевания

В таблице 4.7 представлены данные о концентрациях MMP-2, MMP-7, MMP-9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия T системы TNM.

Таблица 4.7 - Концентрации MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия T

Критерий	Медиана; квантили		
	MMP-2, нг/мл	MMP-7, нг/мл	MMP-9, нг/мл
T			
T1	(n=18) 201; 163-263	(n=19) 4,1; 3,8-5,4	(n=10) 758; 489-1031

T2	(n=4) 202; 182-209	(n=4) 4,9; 4,3-8,1	(n=3) 472; 407-806
T3	(n=21) 217; 200-260	(n=21) 5,6; 4,0-7,0	(n=17) 758; 500-1053
T4a	(n=49) 211; 188-236	(n=49) 5,6; 4,5-7,4	(n=39) 937; 751-1137
T4b	(n=9) 246; 208-265	(n=9) 4,4; 4,0-4,7	(n=5) 668; 532-1226
P (K-W)	0,2	0,02	>0,05

Следует отметить, что концентрации ММР-2 были наиболее низкими в сыворотке крови больных раком желудка при T1 (медиана 201 нг/мл) и наибольшими при T4b (медиана 246 нг/мл), однако различия статистически незначимы (Рисунок 4.12).

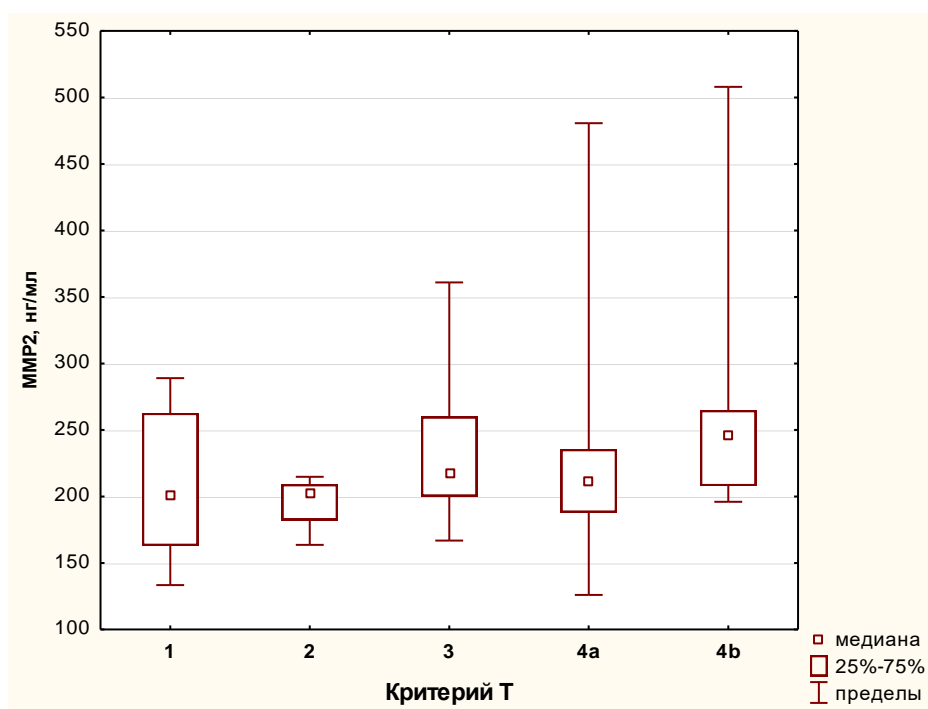


Рисунок 4.12 - Концентрации ММР-2 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия T

Концентрации ММР-7 были наименьшими в сыворотке крови больных раком желудка при Т1 (медиана 4,1 нг/мл) и наибольшими при Т4а (медиана 5,6 нг/мл), различия статистически значимы ($p=0,02$) (Рисунок 4.13).

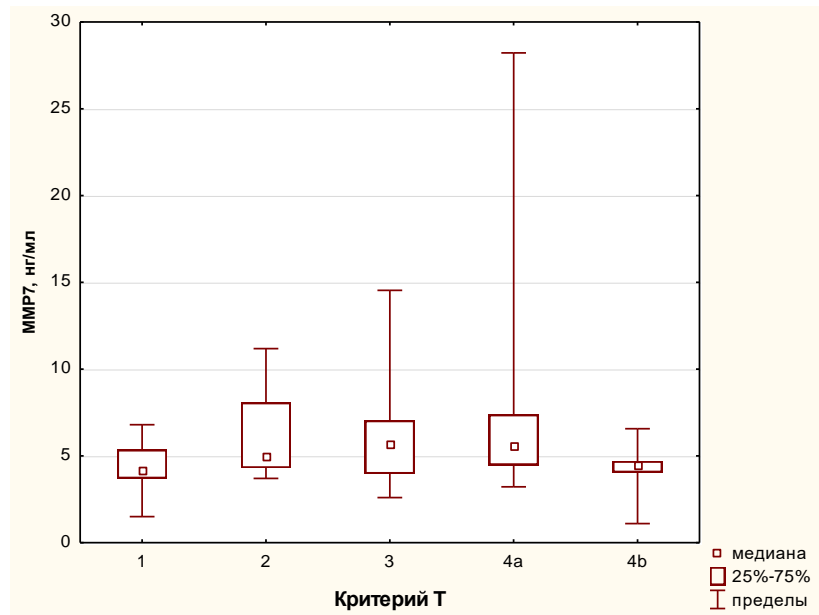


Рисунок 4.13 - Концентрации ММР-7 в сыворотке крови обследованных больных раком желудка в зависимости от критерия Т

Концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка не были связаны с критерием Т (Рисунок 4.14).

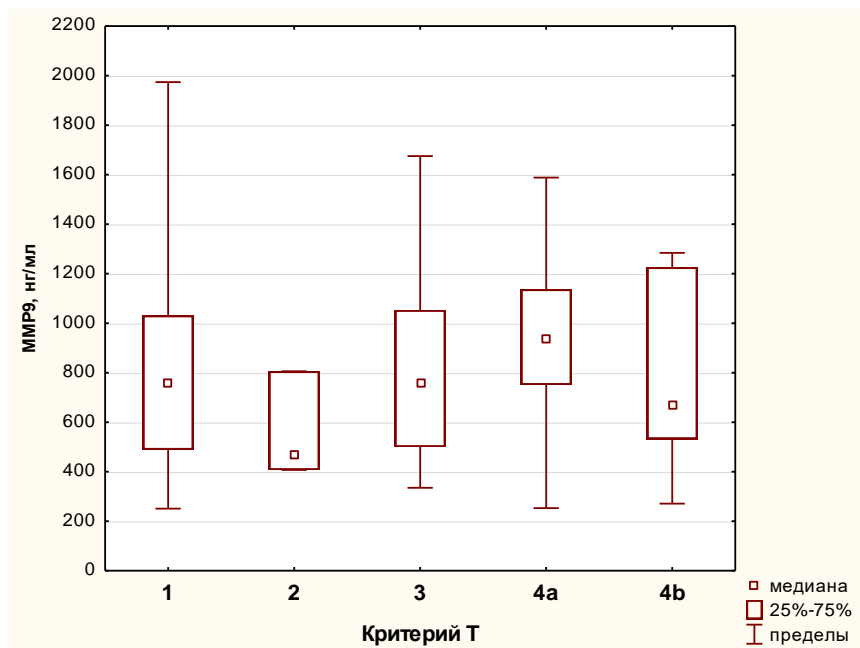


Рисунок 4.14 - Концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия Т

Соотношения маркеров ММР-2, 7, 9 не были связаны с критерием Т, и эти данные не приводим.

В таблице 4.8 представлены результаты анализа концентраций ММР-2, 7, 9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия N системы TNM.

Таблица 4.8 - Концентрации ММР-2,7 и 9 типа в сыворотке крови обследованных больных раком желудка в зависимости от критерия N

Критерий N	Медиана; квартили		
	ММР-2, нг/мл	ММР-7, нг/мл	ММР-9, нг/мл
N0	(n=50) 209; 174-236	(n=51) 4,6; 4,0-6,0	(n=33) 732; 472-1121
N1	(n=17) 189; 181-225	(n=17) 4,9; 3,8-6,3	(n=20) 933; 668-1161
N2	(n=22) 232; 196-245	(n=22) 6,0; 4,0-8,4	(n=17) 944; 754-1127
N3a	(n=12) 245; 204-356	(n=12) 5,7; 4,7-6,9	(n=10) 810; 639-110
P (K-W)	0,036	0,2	>0,05

Как следует из данных таблицы 4.8, при увеличении критерия N концентрация ММР-2 в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо увеличивалась с 209 нг/мл при N1 до 245 нг/мл при N3 ($p=0,036$) (Рисунок 4.15), однако уровни этих маркеров оставались значимо ниже, чем в группе контроля у здоровых доноров.

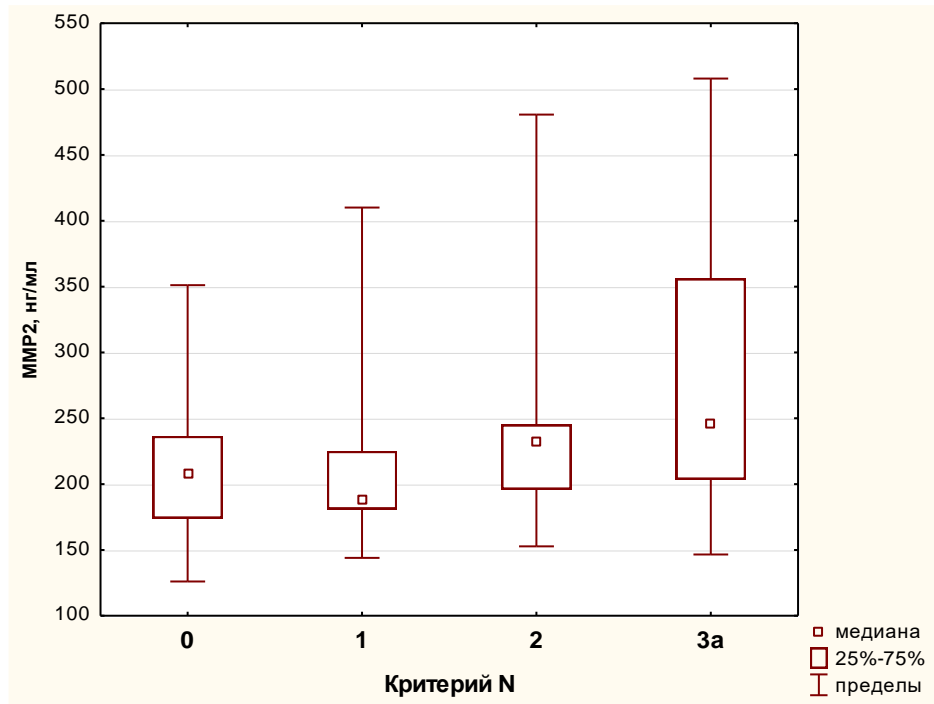


Рисунок 4.15 - Концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия N

При увеличении критерия N концентрации MMP-7 в сыворотке крови больных раком желудка повышались незначимо 4,6 нг/мл - при N1 до 5,7 нг/мл - при N3 ($p=0,2$), данные представлены на рисунке 4.16.

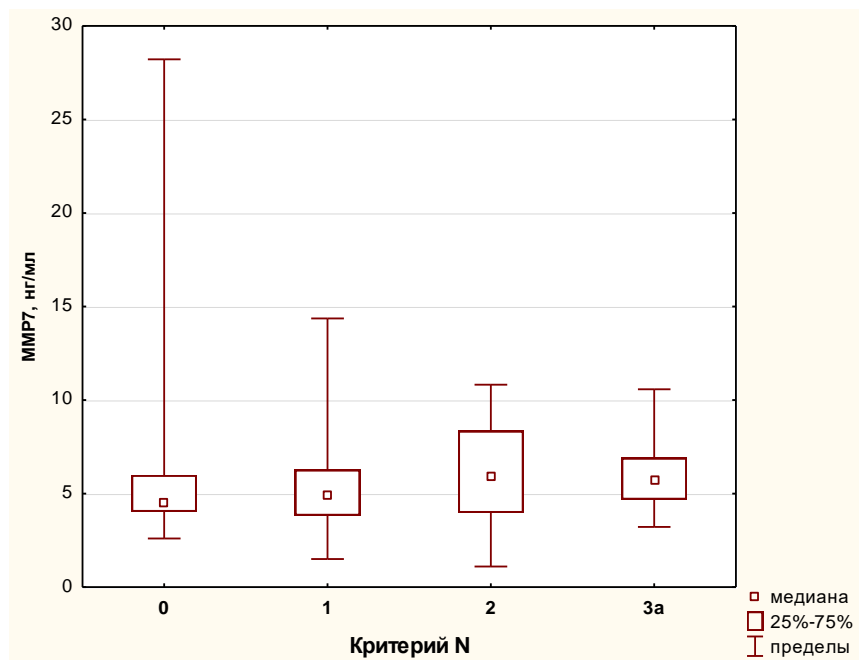


Рисунок 4.16 - Концентрации MMP-7 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия N

Не выявили связи концентраций ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка с критерием N ($p>0,05$). Однако наименьшая медиана маркера имела место при критерии N0 (732 нг/мл) (Рисунок 4.17).

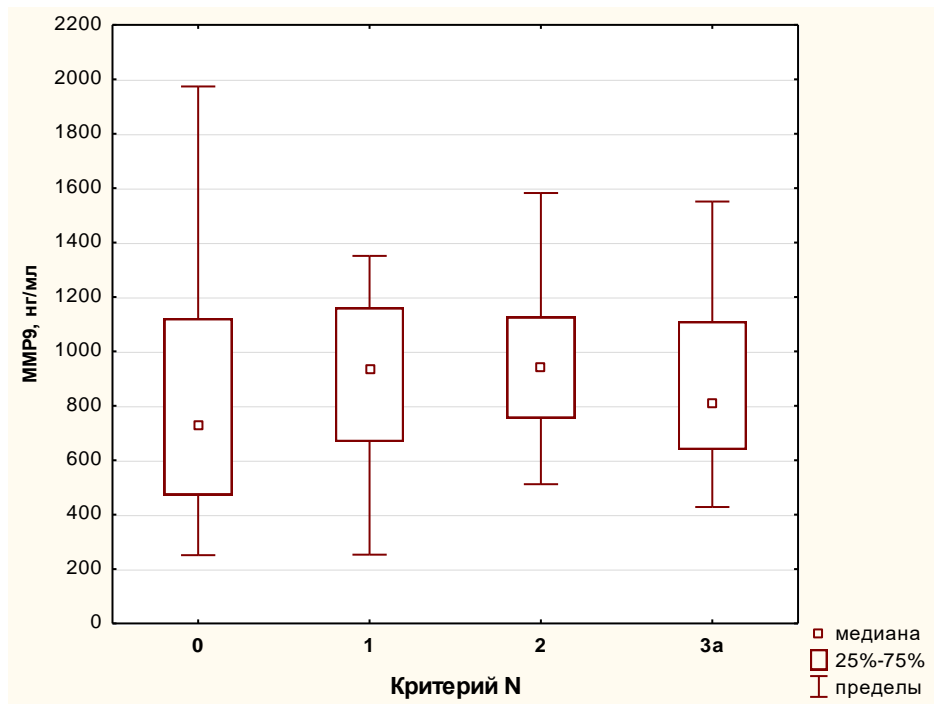


Рисунок 4.17 - Концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия N

Не обнаружено различий в уровнях ММР-2 и ММР-7 в сыворотке крови больных раком желудка при учете критерия M (Таблица 4.9).

Таблица 4.9 - Концентрации ММР-2,7 и 9 типа в сыворотке крови обследованных больных раком желудка в зависимости от критерия M

Критерий	Медиана; квантили		
	ММР-2, нг/мл	ММР-7, нг/мл	ММР-9, нг/мл
M			
M0	(n=77) 215; 192-253	(n=78) 5,2; 4,1-6,3	(n=55) 793; 512-1053
M1	(n=24) 201; 175-222	(n=24) 5,1; 3,9-6,6	(n=19) 960; 668-1256
P (K-W)	0,18	>0,05	0,11

Медиана концентрации ММР-9 была заметно выше в группе пациентов с критерием М1 (960 нг/мл) по сравнению с группой больных с отсутствием метастазов в отдаленных органах (793 нг/мл), однако различия также были статистически незначимы (Рисунок 4.18).

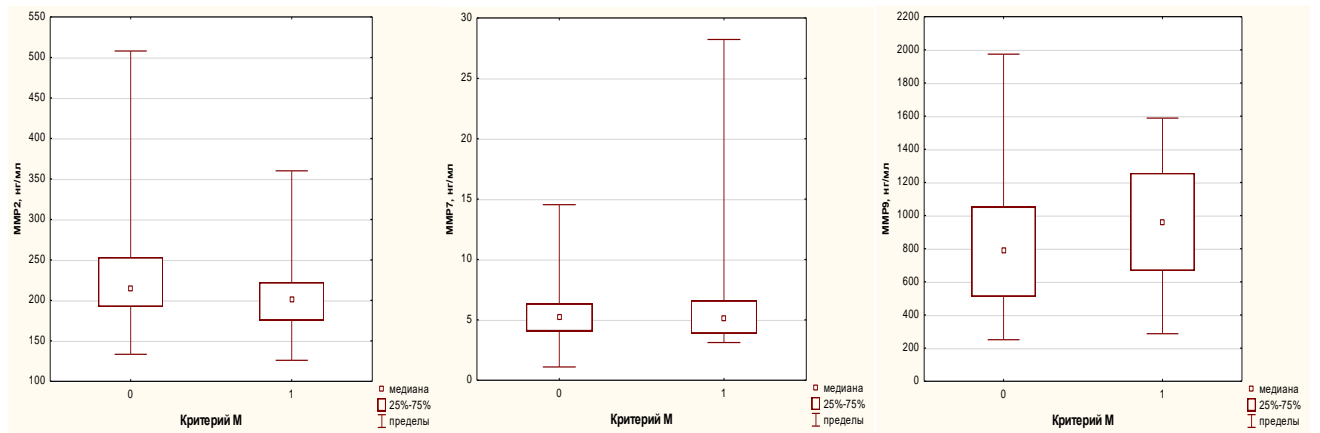


Рисунок 4.18 - Концентрации ММР-2,7,9 типа в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от критерия М

В таблице 4.10 представлены данные сывороточных концентраций ММР-2, 7, 9 в зависимости от стадии рака желудка.

Таблица 4.10 - Концентрации ММР-2, 7 и 9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания

Стадия	Медиана; квантили		
	ММР-2, нг/мл	ММР-7, нг/мл	ММР-9, нг/мл
I a	(n=16) 201; 162-352	(n=17) 4,3; 3,7-5,4	(n=10) 758; 489-1031
I b	(n=6) 202; 181-215	(n=6) 4,4; 3,7-5,0	(n=3) 472; 407-806
II a	(n=8) 217; 200-260	(n=8) 6,5; 3,8-8,3	(n=7) 680; 411-1121
II b	(n=9) 200; 174-211	(n=9) 5,1; 4,1-5,6	(n=5) 1053; 952-1190

III a	(n=10) 226; 198-254	(n=10) 5,8; 4,8-6,9	(n=8) 801; 469-997
III b	(n=12) 235; 232-248	(n=12) 6,8; 4,9-8,4	(n=12) 858; 712-1085
III c	(n=11) 246; 203-352	(n=11) 5,5; 4,5-5,9	(n=9) 793; 530-936
IV	(n=29) 202; 184-219	(n=29) 5,2; 4,0-6,6	(n=20) 981; 675-1241
P (K-W)	0,035	0,15	>0,05

Показано значимое повышение медиан уровней MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка с 201 нг/мл при Ia стадии до 246 нг/мл при IIIc стадии ($p=0,035$), однако следует отметить, что при IV стадии медиана MMP-2 была сопоставима с таковой при I стадии (202 нг/мл) (Рисунок 4.19).



Рисунок 4.19 - Медианы концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания

Несколько меньшие медианы концентраций ММР-7 выявлены в сыворотке крови больных раком желудка у больных с Ia-Ib стадиями (4,3 и 4,4 нг/мл), тогда как при бóльших стадиях медианы маркера составили от 5,1 нг/мл и более, достигая наибольшего значения 6,8 нг/мл при IIIb стадии, однако различия были незначимы ($p=0,15$). (Рисунок 4.20).



Рисунок 4.20 - Медианы концентрации ММР-7 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания

Несколько меньшие концентрации ММР-9 выявлены в сыворотке крови больных раком желудка у больных с I-IIa стадиями (медианы 472-758 нг/мл), тогда как при увеличении стадии рака желудка медианы маркеров составили от 793 до 1053 нг/мл, однако все различия статистически незначимы ($p>0,05$) (Рисунок 4.21).



Рисунок 4.21 - Медианы концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания

В таблице 4.11 представлены данные концентраций ММР-2, 7, 9 типа в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от гистологического строения и степени дифференцировки опухоли.

Таблица 4.11 - Концентрации ММР-2,7 и 9 типа в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от гистологического строения и степени дифференцировки опухоли

Гистол. вариант строения опухоли	Медиана; квантили		
	ММР-2, нг/мл	ММР-7, нг/мл	ММР-9, нг/мл
1	(n=8) 200; 166-240	(n=9) 4,3; 3,7-5,0	(n=7) 530; 543-806
2	(n=18) 219; 188-234	(n=18) 5,6; 4,5-6,6	(n=12) 935; 750-1212
3	(n=50) 214; 196-261	(n=50) 4,9; 3,8-6,2	(n=34) 996; 680-1190

4	(n=21) 202; 176-250	(n=21) 5,9; 4,5-7,6	(n=20) 716; 477-871
5	(n=2) 262; 181-343	(n=2) 5,6; 4,9-6,3	-
P (K-W)	>0,05	>0,05	0,014

Примечание: 1 – высокодифференцированная аденокарцинома, 2 – умеренно дифференцированная аденокарцинома, 3 – низкодифференцированная аденокарцинома, 4 – перстневидноклеточный рак, 5 – недифференцированный рак.

Не установлено связи концентраций ММР-2 и ММР-7 в сыворотке крови больных раком желудка с гистологическим строением и степенью дифференцировки опухоли. Медиана концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных высокодифференцированной аденокарциномой желудка была статистически значимо ниже (530 нг/мл), чем при других вариантах степени дифференцировки опухоли, а также при сравнении с перстневидноклеточным раком желудка. Наиболее высокие значения медианы ММР-9 выявлены при неблагоприятном низкодифференцированном варианте аденокарциномы желудка (996 нг/мл; $p=0,014$) (Рисунок 4.22).

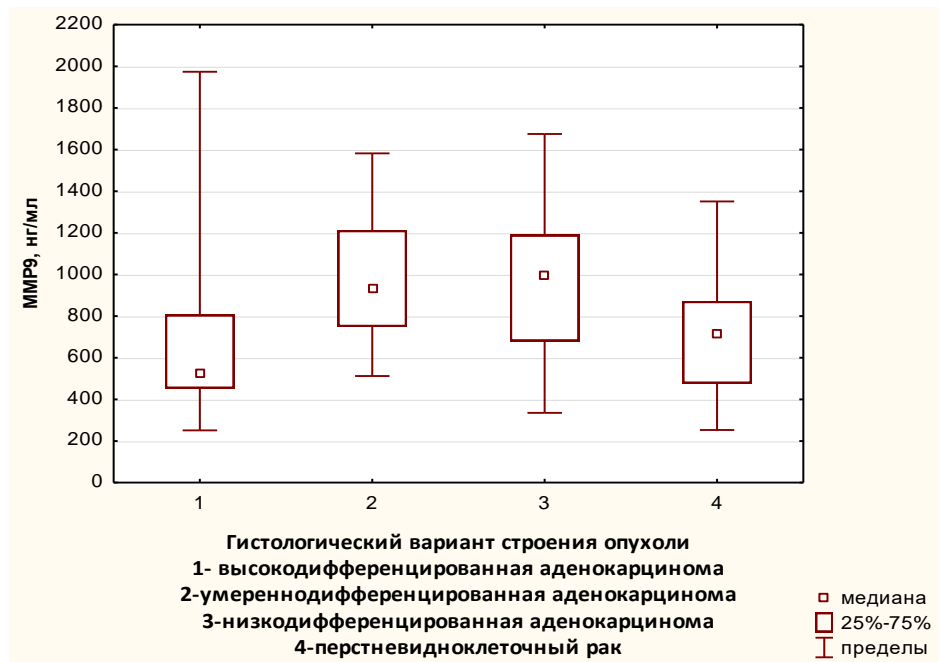


Рисунок 4.22 - Концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от степени дифференцировки и гистологического варианта строения опухоли

В таблице 4.12 представлены данные о медианах концентраций MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от опухоли в пораженном органе. Не установлено связи концентрации всех троих исследованных нами маркеров с локализацией опухоли в желудке ($p>0,05$).

Таблица 4.12 - Концентрации MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от локализации опухоли в пораженном органе

Локализация опухоли	Медиана; квартили		
	MMP-2, нг/мл	MMP-7, нг/мл	MMP-9, нг/мл
1	(n=21) 214; 200-246	(n=21) 5,5; 4,1-7,3	(n=16) 899; 560-1149
2	(n=48) 208; 186-246	(n=48) 5,4; 4,0-6,7	(n=36) 782; 630-1115
3	(n=18) 215; 181-263	(n=18) 4,6; 3,4-6,2	(n=12) 935; 786-1033
4	(n=2) 205; 164-245	(n=3) 4,0; 3,2-5,0	(n=3) 806; 530-1974
5	(n=11) 212; 181-260	(n=11) 4,7; 4,4-6,6	(n=7) 864; 454-1266
P (K-W)	>0,05	>0,05	>0,05

Примечание: 1 – проксимальный отдел, 2 – тело желудка, 3 – дистальный отдел, 4 – КЭР, 5 – тотальное поражение опухолью желудка.

4.4 Связь концентраций VEGF и его рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 с уровнями MMP-2, 7, 9 одновременно измеренными в сыворотке крови больных раком желудка

Рассчитали коэффициенты корреляции между концентрациями VEGF и его рецепторами с показателями MMP-2,7,9 типа, одновременно измеренных в сыворотке крови больных раком желудка (Таблица 4.13) в общей группе. Не установлено значимых корреляционных зависимостей между изучаемыми показателями обеих систем, все коэффициенты были низкими и незначимыми ($p>0,05$). Таким образом, изучаемые показатели системы VEGF и MMP были

взаимонезависимыми.

Таблица 4.13 - Коэффициенты корреляции между концентрациями VEGF и его рецепторами и MMP-2,7,9 типа в сыворотке крови больных раком желудка

Маркеры	r_s	Маркеры	r_s	Маркеры	r_s
VEGF-MMP-2	0	VEGFR1-MMP-2	-0,11	VEGFR2-MMP-2	0
VEGF-MMP-7	0,18	VEGFR1-MMP-7	0,12	VEGFR2-MMP-7	-0,12
VEGF-MMP-9	0,18	VEGFR1-MMP-9	0	VEGFR2-MMP-9	0

Подводя итоги анализа концентраций MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка следует отметить, что концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка были статистически значимо ниже, чем в контроле (медианы составили 212 и 469 нг/мл соответственно, $p < 0,0001$). Показатель обладал выраженной диагностической ценностью, за пороговое значение выбран уровень MMP-2, равный 300 нг/мл. Чувствительность данного порога при разделении групп составила 89,1%, специфичность 81,7%. Однако концентрации MMP-2 не различались значимо в сыворотке крови обследованных больных раком желудка по таким признакам как пол, возраст, критерий T и M, гистологическое строение опухоли, локализация опухоли. Не установлено связи MMP-2 с концентрациями VEGF и его рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2. Вместе с тем, выявлено значимое увеличение концентраций MMP-2 при увеличении критерия N с 209 нг/мл при N0 до 245 нг/мл при N3 ($p = 0,036$). Также обнаружено статистически значимое увеличение концентраций MMP-2 при увеличении стадии заболевания с 201 нг/мл при Ia до 246 нг/мл при IIIc ($p = 0,035$).

Анализ уровней MMP-7 в сыворотке крови больных раком желудка показал, что концентрации маркера у больных раком желудка были статистически значимо выше, чем в контроле (медианы составили 5,1 и 2,4 нг/мл соответственно, $p < 0,0001$). Данный показатель обладал диагностической ценностью, за пороговое значение MMP-7 принят уровень маркера равный 3,8 нг/мл (чувствительность теста составила 80,4% при специфичности 77,9%). Показано статистически

значимое увеличение медианы концентрации MMP-7 в сыворотке крови при увеличении критерия T с 4,1 нг/мл при T1 до 5,6 нг/мл при T3-T4 ($p=0,02$). Кроме того, уровни MMP-7 не различались в сыворотке крови больных раком желудка по таким признакам как пол, возраст, критерий N и M, стадия заболевания, гистологическое строение опухоли и ее локализация в желудке. Не установлено также связи уровней MMP-7 с концентрацией VEGF и его рецепторов sVEGFR1, sVEGFR2 в сыворотке крови.

Анализ исходных уровней MMP-9 в сыворотке крови больных раком желудка обнаружил следующие особенности. Так, концентрации MMP-9 в сыворотке крови больных раком желудка статистически неотличались от контроля. Показатель не обладал диагностической ценностью. Также показано, что концентрации MMP-9 в сыворотке крови больных раком желудка женщин были статистически значимо ниже (медиана 757 нг/мл), чем у пациентов мужского пола (медиана 936 нг/мл) ($p=0,01$). Такая же закономерность выявлена в группе контроля ($p < 0,0001$). При этом, статистически значимо ниже были концентрации MMP-9 в сыворотке крови больных с высокодифференцированной аденокарциномой желудка (медиана 530 нг/мл, $p=0,014$). Концентрации MMP-9 не различались в сыворотке крови обследованных больных раком желудка с учетом таких признаков как возраст, критерий T, критерий N и M, стадия заболевания, локализация опухоли. Также не установлено связи MMP-9 с концентрацией VEGF, sVEGFR1 и sVEGFR2 в сыворотке крови.

Анализ коэффициента соотношений концентраций MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови больных раком желудка показал, что диагностически выше указанные маркеры высокоинформативным при разделении группы контроля от больных раком желудка, особенно соотношение MMP-2/MMP-7. Медианы этого коэффициента соотношения равнялись 283 в контроле и 41,6 в группе больных раком желудка ($p < 0,0001$). Чувствительность соотношения MMP-2/MMP-7 по порогу 100 равнялась 96,0%, специфичность 96,4%. Медианы соотношения MMP-2/MMP-9 равнялись 0,61 в контроле и 0,26 в группе больных раком желудка ($p < 0,0001$). Медианы соотношения MMP-9/MMP-7 равнялись 445 в контроле и

135 в группе больных раком желудка ($p < 0,0001$). Чувствительность соотношения ММР-9/ММР-7 по порогу 150 составила 83,8%, специфичность 89,3%.

ГЛАВА 5. ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

5.1 Общая выживаемость больных раком желудка в общей группе

Отдаленные результаты лечения (общую выживаемость) удалось оценить у 99 больного раком желудка. Пациенты прослежены на протяжении от 1 до 70 месяцев (медиана – 23,5 месяца). За весь период наблюдения от основного диагноза умерли 55 больных, что составило 55,6% от общего числа прослеженных. Продолжительность жизни умерших больных составила от 1 до 62,5 месяцев (медиана – 15,7 месяца). Общая 1-летняя выживаемость составила $82,3 \pm 4,0\%$, 2-летняя $61,4 \pm 5,3\%$, пятилетняя – $40,8 \pm 5,3\%$, медиана выживаемости – 31,1 месяца.

При однофакторном анализе наиболее значимо связанными с общей выживаемостью больных раком желудка оказались критерий M (медиана срока жизни равнялась всего 14,5 месяца, однолетняя выживаемость составила $58,2 \pm 16,3\%$, $p=0,044$), критерий N3 (медиана срока жизни равнялась 21,4 месяца, двухлетняя выживаемость составила $37,5 \pm 17,1\%$, $p=0,08$), III и IV стадии (двухлетняя выживаемость равнялась $50,0 \pm 20,4\%$ и $46,6 \pm 16,9\%$ соответственно, медиана срока жизни 22 и 14,5 месяца, соответственно), а также тотальное поражение опухолью желудка ($50,0 \pm 25,0\%$). Следует также отметить низкие отдаленные результаты лечения больных раком желудка в возрасте до 50 лет (однолетняя общая выживаемость составила $41,7 \pm 22,2\%$ с медианой срока жизни всего 9,2 месяца) и в группе пациентов мужского пола (двухлетняя выживаемость равнялась $49,5 \pm 13,1\%$ с медианой срока жизни 21,9 месяца, $p=0,07$).

В то же время многофакторный анализ с включением в модель таких факторов как критерии T, N, M, пол, возраст, локализация опухоли выделил как значимый независимый фактор прогноза общей выживаемости больных раком желудка критерий N ($p=0,0079$) и возраст пациентов ($p=0,018$).

Безрецидивную выживаемость удалось оценить только у 35 (34%) обследованных больных раком желудка. За весь период наблюдения рецидив заболевания зафиксирован у 18 больных, что составило 51,4% от общего числа

пациентов с известным статусом рецидива. Продолжительность безрецидивного периода составила от 3 до 36 месяцев (медиана – 12,0 месяца). Общая однолетняя безрецидивная выживаемость составила $73,5 \pm 7,6\%$, двухлетняя $58,2 \pm 8,5\%$, пятилетняя – $47,5 \pm 8,9\%$, медиана безрецидивной выживаемости – 30,2 месяца.

5.2 Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации VEGF и его рецепторов VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови

Показатели общей выживаемости больных раком желудка в группах, разделенных по медиане и квартилям концентраций VEGF в сыворотке крови в группе больных раком желудка представлены в таблице 5.1.

Таблица 5.1 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации VEGF в сыворотке крови

Уровни VEGF, пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)	
			1-летняя	2-летняя
≤290	21	не достигнута	$83,3 \pm 15,2$	$83,3 \pm 15,2$
291-420	31	не достигнута	$90,9 \pm 8,7$	$90,9 \pm 8,7$
421-600	27	не достигнута	$63,0 \pm 17,7$	$52,0 \pm 20,8$
>600	22	22,0	$80,0 \pm 12,6$	$50,0 \pm 15,8$

Показано, что общая выживаемость больных раком желудка существенно снижалась при концентрациях сывороточного VEGF, более медианы (420 пг/мл), и это значение было выбрано в качестве прогностического порога (Таблица 5.2).

На ранних сроках наблюдения в группе пациентов с уровнями VEGF в сыворотке крови менее 420 пг/мл двухлетняя общая выживаемость была выше и составила $68,2 \pm 7,8\%$, при более высоких концентрациях маркера - $52,3 \pm 12,5\%$ ($p=0,024$).

Таблица 5.2 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации VEGF в сыворотке крови

Уровни VEGF, пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)	
			1-летняя	2-летняя
≤420	52	Не достигнута	94,1±5,7	68,2±7,8
>420	49	Не достигнута	72,1±10,7	52,3±12,5
P	0,024			

Выявленные на ранних сроках различия в выживаемости между группами при более продолжительном наблюдении нивелировались: пятилетняя выживаемость как больных с высоким уровнем VEGF, так и пациентов с низким уровнем маркера составила 47% (медианы соответственно 32 и 38 месяцев) (Рисунок 5.1).

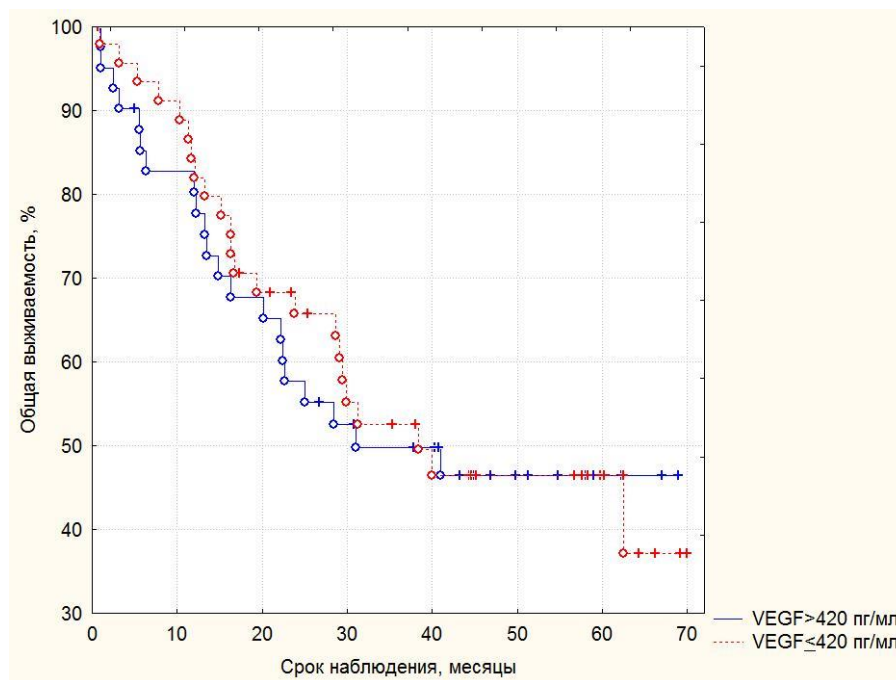


Рисунок 5.1 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации VEGF в сыворотке крови

Рассчитали показатели общей выживаемости в группах больных раком желудка, разделенных с учетом медианы и квартилей концентрации sVEGFR1 в сы-

воротке крови (Таблица 5.3).

Таблица 5.3 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови

Уровни sVEGFR1, пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)	
			1-летняя	2-летняя
≤94	21	21,2	77,4±11,5	49,5±15,4
95-116	31	не достигнута	76,2±14,8	76,2±14,8
117-363	27	не достигнута	90,9±8,7	79,5±13,1
>363	22	не достигнута	100	66,7±27,2

Не выявлено значимых различий в отдаленных результатах лечения больных раком желудка в группах с различной концентрацией VEGFR1 в сыворотке крови, однако наихудшая общая выживаемость обнаружена в группе пациентов со значениями VEGFR1 ≤94 пг/мл с двухлетней выживаемостью всего 49,5±15,4% и медианой срока жизни 23 месяца (p=0,16) (Таблицы 5.3 и 5.4).

Таблица 5.4 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови

Уровни VEGFR1, пг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)	
			1-летняя	2-х летняя
≤94	26	23	77,4±11,5	49,5±15,4
>94	75	не достигнута	87,1±7,0	66,1±9,5

Различия увеличивались при сроках наблюдения более 2,5 лет, но не достигали уровня статистической значимости (p= 0,11): пятилетняя выживаемость при низких уровнях sVEGFR1 составила всего 38% (медиана 30 месяцев), при высоких –50% (медиана 40 месяцев) (Рисунок 5.2).

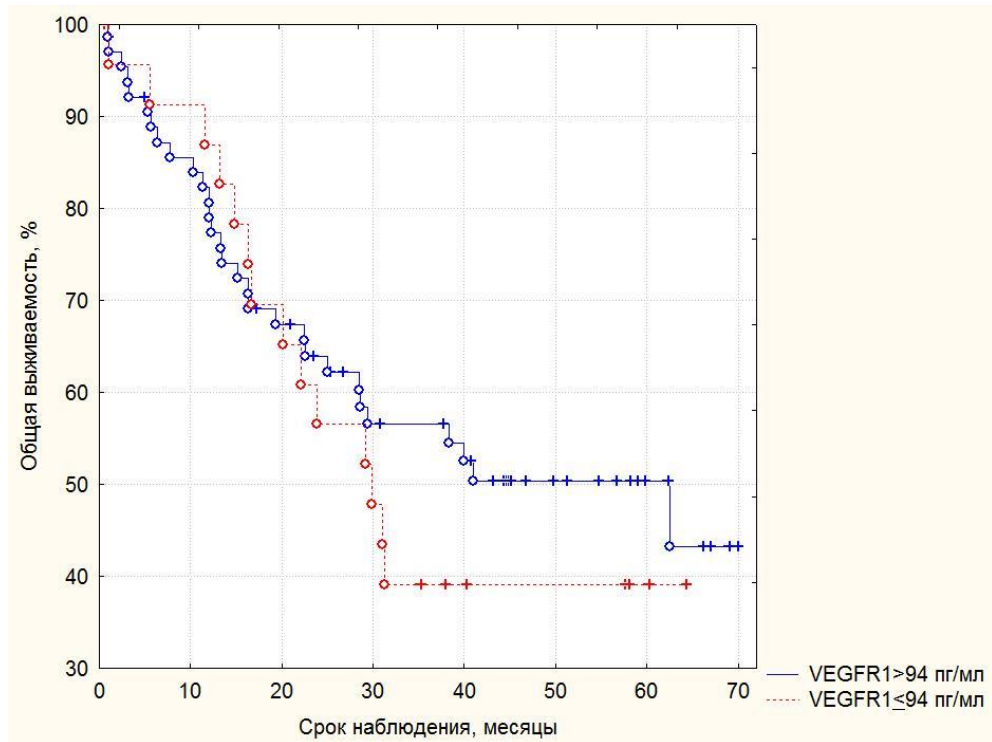


Рисунок 5.2 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови

Показатели общей выживаемости в группах больных раком желудка, разделенных с учетом медианы и квартилей концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови представлены в таблице 5.5.

Таблица 5.5 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови

Уровни sVEGFR2, нг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)	
			1-летняя	2-летняя
≤7,5	21	не достигнута	90,9±8,7	72,7±17,7
7,6-8,9	31	не достигнута	92,3±7,4	76,9±11,7
9,0-10	27	18,4	57,1±24,9	0
>10	22	не достигнута	60,0±18,2	60,0±18,2

В качестве порогового уровня выбрано значение sVEGFR2, равное 9 нг/мл.

(Таблица 5.6; Рисунок 5.3).

Значимых различий в отдаленных результатах лечения больных раком желудка с различной концентрацией sVEGFR2 в сыворотке крови не отмечено, хотя на ранних сроках наблюдения выживаемость больных с низким уровнем маркера была лучше, чем у пациентов с высоким показателем sVEGFR2.

Таблица 5.6 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентраций sVEGFR2 в сыворотке крови

Уровни sVEGFR2, нг/мл	N	Медиана срока жизни, мес.	Общая выживаемость (%)	
			1-летняя	2-летняя
≤ 9,0	43	30 мес	93,5±5,7	68,8±9,3
более 9,0	34	32 мес	79,3±14,8	51,8±15,6

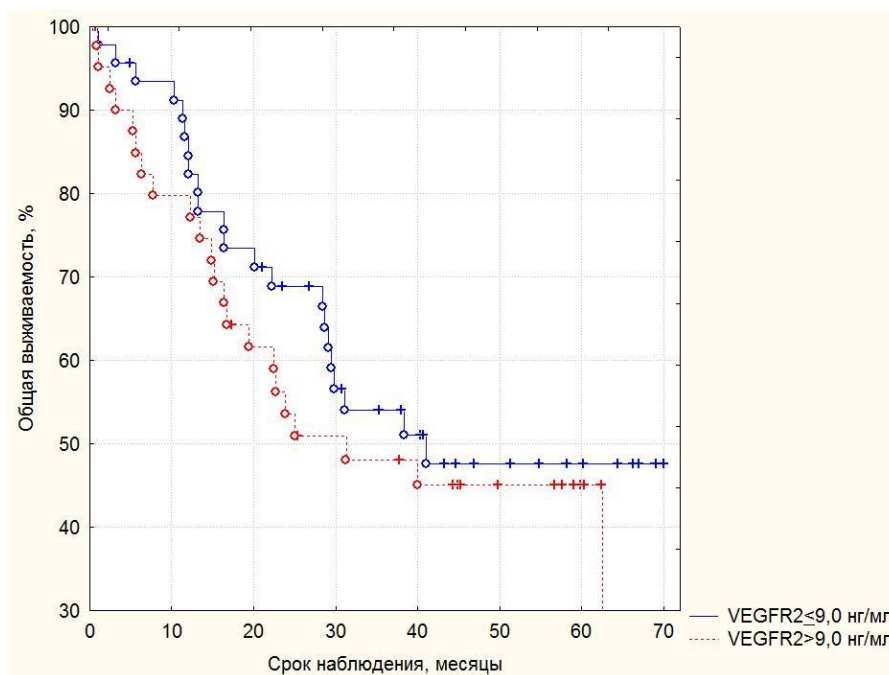


Рисунок 5.3 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови

Многофакторный анализ связи трёх показателей (VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2) с общей выживаемостью больных раком желудка выявил, что только

sVEGFR1 является значимым независимым фактором прогноза длительности жизни больных раком желудка ($p=0,026$) (Таблица 5.7).

Таблица 5.7 - Результаты анализа Proportional hazard (Cox) regression

Признак	Beta	t-value	Wald	p
VEGF	0,000729	0,972886	0,946507	0,330617
sVEGFR1	0,148583	2,223348	4,943275	0,026199
sVEGFR2	-0,000217	-0,458716	0,210420	0,646441

Многофакторный анализ с включением в модель критериев системы TNM, а также VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 выделил критерий T ($p=0,001$) и концентрацию sVEGFR1 ($p=0,015$) как значимые независимые факторы прогноза общей выживаемости больных раком желудка. Уровни VEGF и sVEGFR2 в сыворотке крови в этой модели не были независимыми факторами прогноза общей выживаемости (Таблица 5.8).

Таблица 5.8 - Результаты анализа Proportional hazard (Cox) regression

Признак	Beta	t-value	Wald	p
T	0,619895	3,24326	10,51873	0,001183
N	0,002997	0,27833	0,07747	0,780762
M	0,096311	0,26920	0,07247	0,787780
VEGF	0,000970	1,53732	2,36334	0,124226
VEGFR1	0,167530	2,43553	5,93182	0,014875
VEGFR2	-0,000530	-1,07120	1,14748	0,284086

5.3 Безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации VEGF и рецепторов VEGFR1, VEGFR2 в сыворотке крови

Как отмечено выше, безрецидивную выживаемость (БРВ) удалось оценить только у 35 обследованных пациентов. За весь период наблюдения рецидив

заболевания зафиксирован у 18 больных, что составило 51,4% от общего числа пациентов с известным статусом рецидива. Продолжительность безрецидивного периода составила от 3 до 36 месяцев (медиана – 12,0 мес). В качестве пороговых значений, как и при оценке общей выживаемости, использовали показатели, оказавшиеся наиболее информативными при оценке общей выживаемости.

Как видно на рисунке 5.4, пятилетняя БРВ пациентов с высоким (более 420 пг/мл) уровнем VEGF в сыворотке крови была на 14% хуже, чем у больных с более низким уровнем VEGF (40 и 54 %, соответственно). В первом случае медиана БРВ не достигнута, во втором – составляет 26 месяцев. К сожалению, различие не достигает уровня статистической значимости ($p = 0,223$).

Для sVEGFR1 наблюдалось противоположное соотношение (Рисунок 5.5): пятилетняя БРВ при низких уровнях маркера (менее 94 пг/мл) была на 21% хуже, чем при более высоких уровнях ($p = 0,35$).

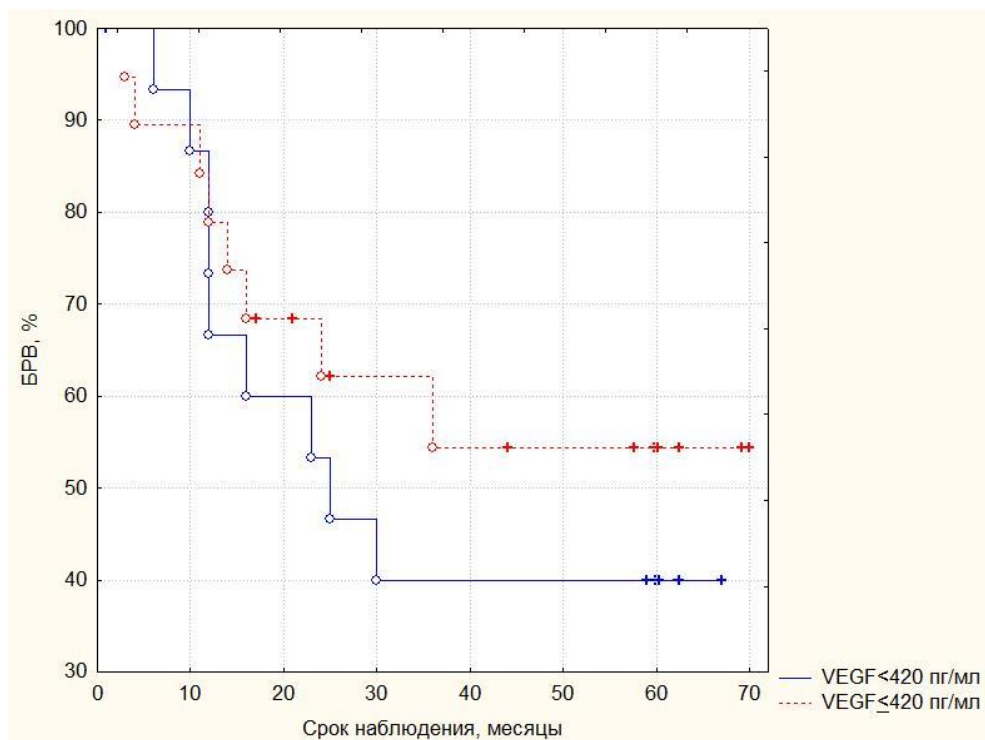


Рисунок 5.4 - Безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации VEGF в сыворотке крови

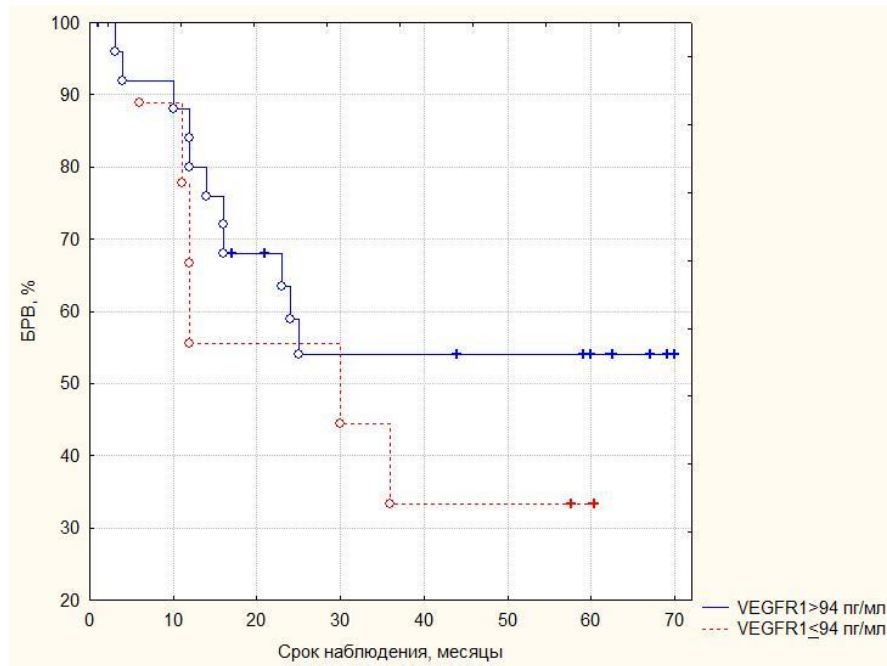


Рисунок 5.5 - Безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации sVEGFR1 в сыворотке крови

Наиболее выраженные различия в пятилетней БРВ отмечены для sVEGFR2 (Рисунок 5.6). При уровне маркера более 9,0 нг/мл этот показатель составил 28% с медианой 22,5 месяца. При более низких концентрациях – 68%, медиана не достигнута ($p = 0,016$).

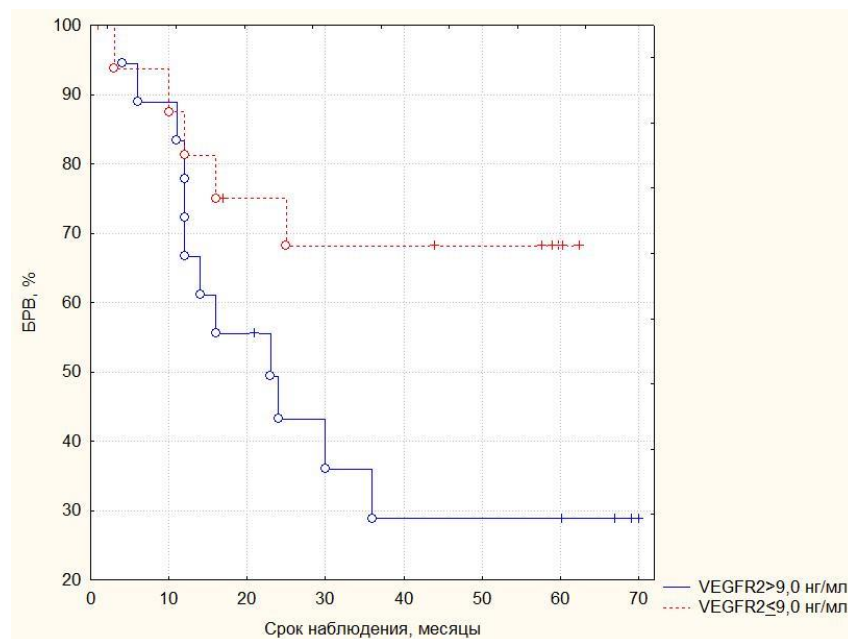


Рисунок 5.6 - Безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации sVEGFR2 в сыворотке крови

Таким образом, уровни VEGF и растворимых форм его рецепторов заметно влияют на безрецидивную выживаемость больных раком желудка, в наибольшей степени этот показатель ухудшается при высоких уровнях sVEGFR 2. При многофакторном анализе ни один из исследованных маркеров не проявил себя как независимый фактор прогноза БРВ.

5.4 Общая и безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентраций MMP-2, 7, 9 в сыворотке крови пациентов

При оценке влияния уровней MMP в сыворотке крови на общую и безрецидивную выживаемость больных раком желудка в качестве пороговых значений использовали показатели медианы концентрации соответствующего маркера в сыворотке крови пациентов (212 нг/мл для MMP-2; 5,1 нг/мл для MMP-7; 823 нг/мл для MMP-9).

На рисунках 5.7 и 5.8 представлены показатели выживаемости больных раком желудка в зависимости от концентрации MMP-2 в сыворотке крови.

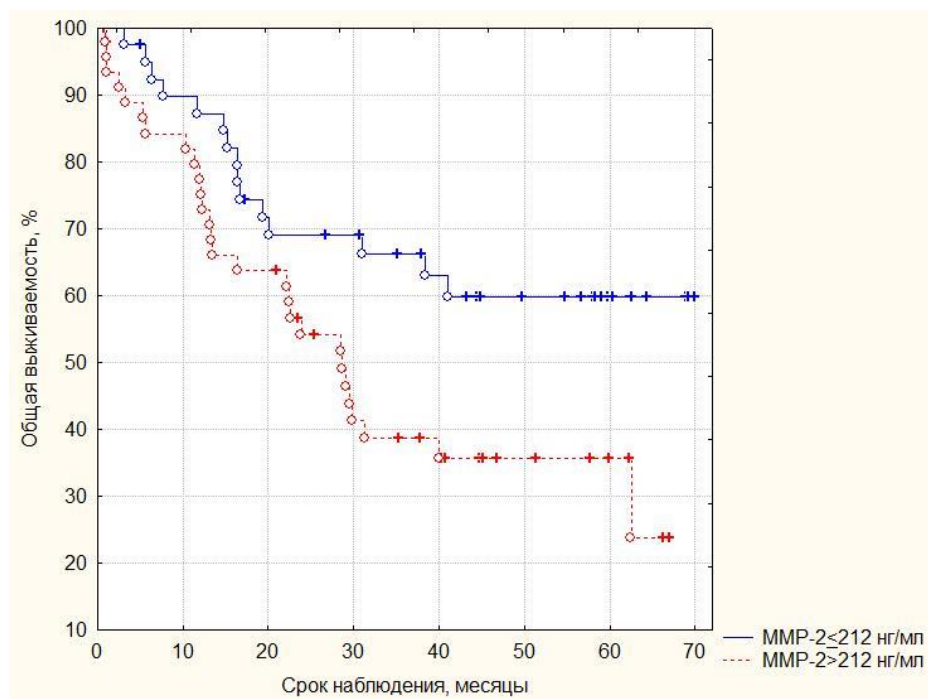


Рисунок 5.7 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации MMP-2 в сыворотке крови

Показано, что показатели общей выживаемости и безрецидивной

выживаемости были ниже у больных с высоким (более 212 нг/мл) уровнем маркера, чем у пациентов с более низкими показателями:

- в первой группе общая пятилетняя выживаемость составила 23% (медиана 28 месяцев), пятилетняя БРВ – 37% (медиана 30 месяцев);

- во второй группе соответствующие пятилетние показатели выживаемости составили 60 и 58%.

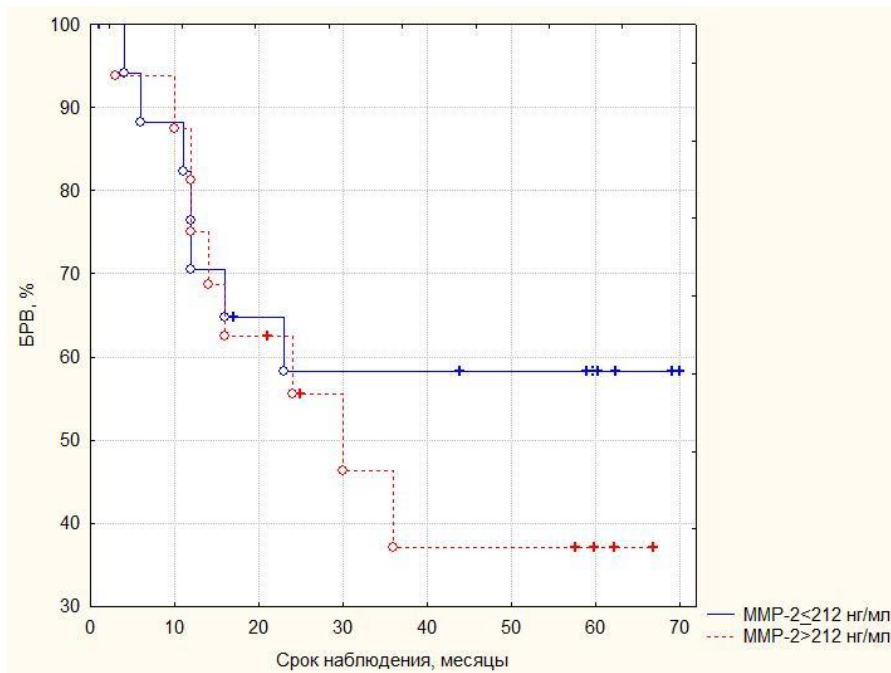


Рисунок 5.8 - Безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации ММР-2 в сыворотке крови

Различия в общей выживаемости были статистически значимы ($p = 0,018$). При этом необходимо учитывать, что БРВ удалось оценить только у 35 больных.

Для ММР-7 статистически значимых различий в общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка не выявлено (Рисунки 5.9 и 5.10), однако в обоих случаях отмечалась тенденция к улучшению показателей при уровнях маркера выше медианного:

- в группе с высоким уровнем маркера общая пятилетняя выживаемость составила 50% (медиана 41 месяц), пятилетняя БРВ – 53%;

- в группе с низким уровнем ММР-7 соответствующие пятилетние показатели выживаемости составили 43 и 42% (медианы 28 месяцев и 23 месяца,

соответственно).

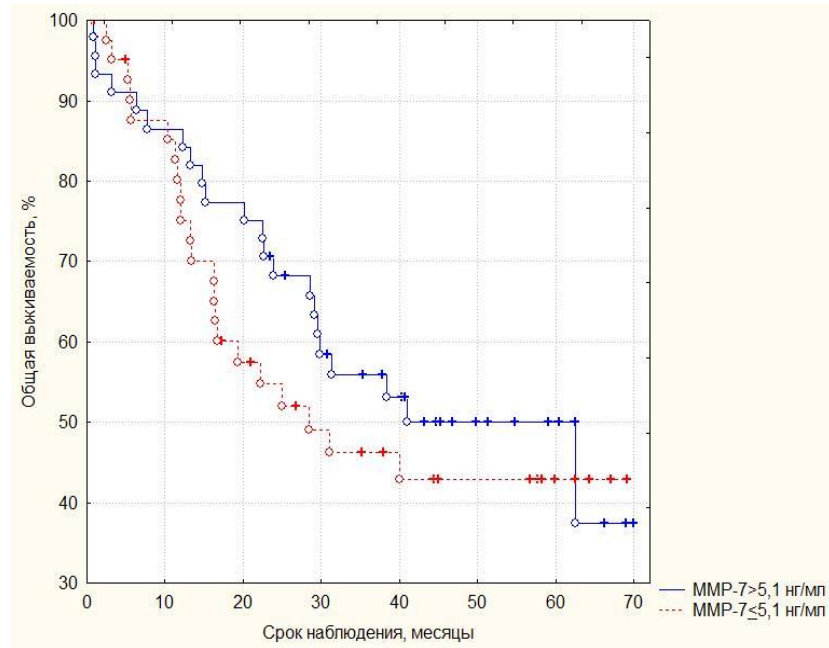


Рисунок 5.9 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации MMP-7 в сыворотке крови

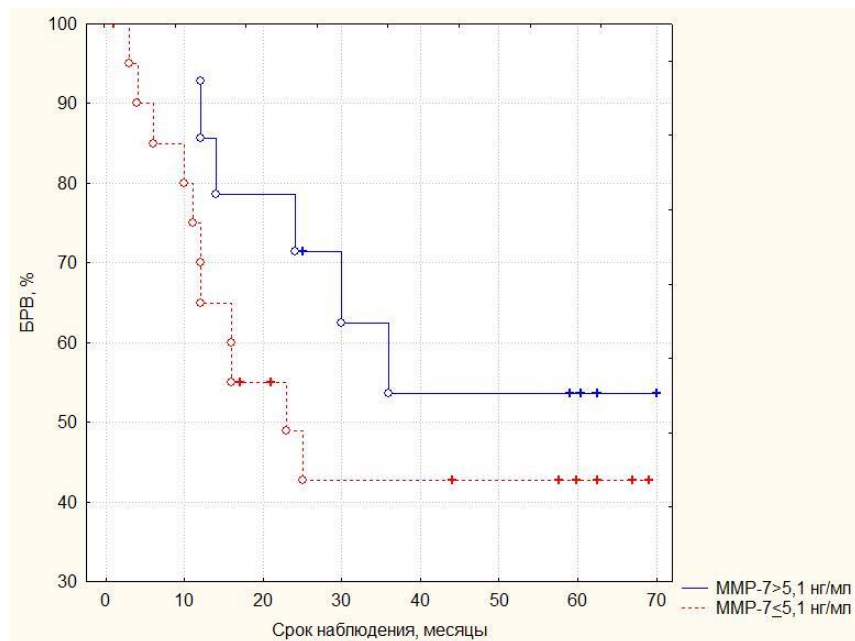


Рисунок 5.10 - Безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации MMP-7 в сыворотке крови

Для MMP-9 также не выявлено статистически значимых различий в общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка (Рисунки 5.11 и 5.12).

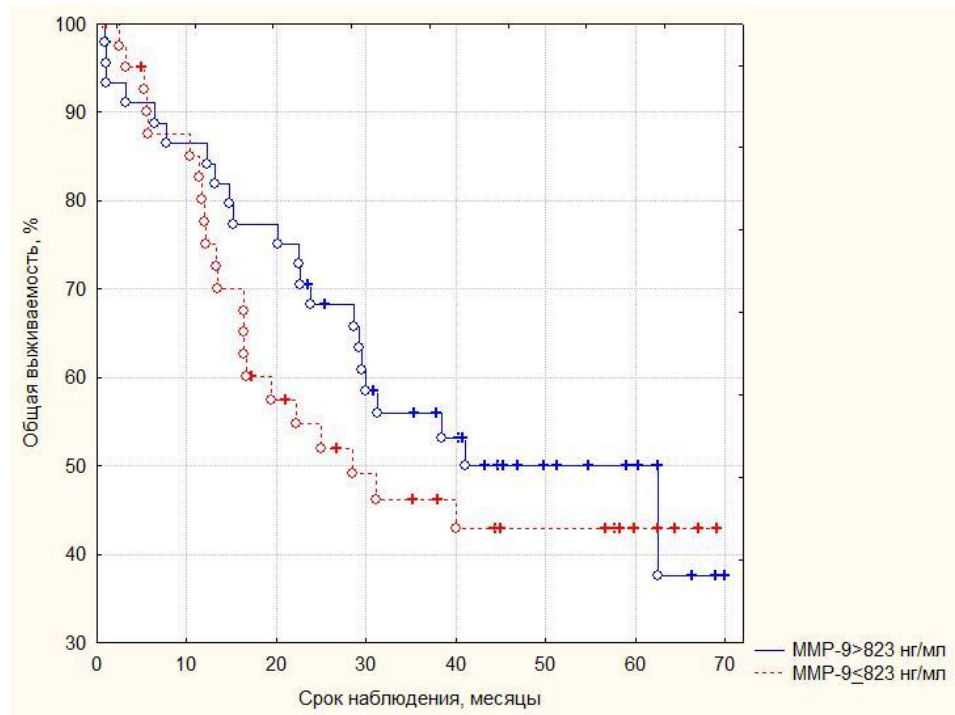


Рисунок 5.11 - Общая выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации ММР-9 в сыворотке крови

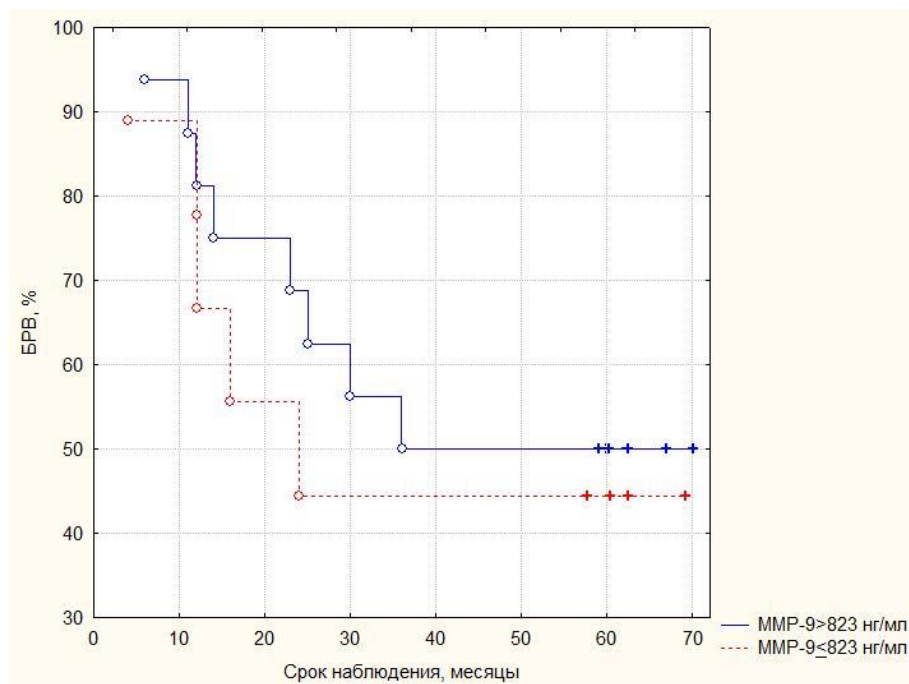


Рисунок 5.12 - Безрецидивная выживаемость больных раком желудка в зависимости от концентрации ММР-9 в сыворотке крови

Отмечалена тенденция к улучшению показателей при уровнях маркера выше медианного: в группе с высоким уровнем маркера общая 5-летняя

выживаемость составила 50% (медиана 41 месяц), 5-летняя БРВ – также 50% (медиана 36 месяцев); в группе с низким уровнем MMP-7 соответствующие 5-летние показатели выживаемости составили 44 и 45% (медианы 28 месяцев и 23 месяца, соответственно).

Подводя итоги анализа показателей общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка, в зависимости от уровней проангиогенных факторов и матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови можно выделить следующие закономерности:

- на основании оценки общей выживаемости результаты лечения больных с высокими концентрациями VEGF (более 420 пг/мл) в первые года после начала лечения были значимо хуже, чем у пациентов с более низким уровнем маркера, однако на более поздних сроках наблюдения различия в общей выживаемости нивелировались. При этом БРВ пациентов с высоким уровнем VEGF снижена на всех сроках наблюдения, но это различие не достигает уровня статистической значимости;

- для sVEGFR1 наихудшая как общая, так и безрецидивная выживаемость отмечена в группе больных с концентрацией маркера не более 94 пг/мл. Различия в однофакторном анализе статистически незначимы, но при этом данный показатель оказался единственным независимым фактором прогноза общей, но не безрецидивной выживаемости по данным многофакторного анализа. Уровень sVEGFR2, напротив, слабо влиял на общую выживаемость больных раком желудка, но его высокий уровень (свыше 9,0 нг/мл) статистически значимо ухудшал их безрецидивную выживаемость. Таким образом, изученные нами показатели системы VEGF обладали разнонаправленными и неоднозначными прогностическими свойствами;

- в отношении матриксных металлопротеиназ получены довольно парадоксальные результаты, в соответствии с которыми более высокий уровень MMP-2, сниженной у больных раком желудка по сравнению с контролем, статистически значимо ухудшает общую выживаемость пациентов, а для исходно повышенных MMP-7 и MMP-9, напротив, отмечены тенденции к ухудшению общей и безреци-

дивной выживаемости при более низких концентрациях в сыворотке крови.

В многофакторной модели, включавшей критерии системы TNM и пороговые уровни всех исследованных MMP и маркеров ангиогенеза, независимыми прогностическими факторами наряду с критерием T, оказались только уровни MMP, а уровень sVEGFR1 независимую прогностическую значимость утратил. Неоднозначность получаемых результатов многофакторного анализа говорит о необходимости проведения дальнейших исследований (Таблица 5.9).

Таблица 5.9 - Результаты анализа Proportional hazard (Cox) regression

Признак	Beta	t-value	Wald	p
T	0,574430	2,84517	8,095005	0,004442
N	0,008179	0,72221	0,521590	0,470169
M	0,618754	1,55390	2,414612	0,120218
VEGF	0,170488	0,54192	0,293679	0,587876
VEGFR1	-0,008737	-0,02382	0,000568	0,980992
VEGFR2	0,156501	0,50578	0,255818	0,613012
MMP-2	0,727673	2,07739	4,315551	0,037773
MMP-7	-0,641932	-1,99409	3,976405	0,046150
MMP-9	-0,782153	-2,00930	4,037306	0,044513

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Широкая распространенность, неуклонный рост показателей заболеваемости (в основном запущенных форм заболевания) и смертности от РЖ – одна из важнейших проблем современной клинической онкологии. Радикальное хирургическое удаление опухоли по-прежнему остается главной гарантией успешного лечения и длительного безрецидивного периода у больных РЖ.

По данным ведущих специалистов России крайне неудовлетворительные результаты лечения РЖ связаны с его поздней диагностикой – в III-IV стадиях опухолевого процесса [7]. Следует отметить, что несмотря на высокий уровень заболеваемости, нигде в мире, кроме Японии, реально не практикуется скрининг населения на выявление РЖ. В первую очередь к основным сложностям, мешающим внедрению в повседневную клиническую практику массовых профилактических мероприятий, следует отнести отсутствие простых и доступных методов обследования, а также специфических маркеров онкологических заболеваний, в том числе и РЖ [56]. Соответственно, если в Японии ранний РЖ выявляется у 30-60% первичных больных, то в Западной Европе не более чем в 14-17% случаев. В России этот показатель, к сожалению, еще ниже, в большинстве лечебно-профилактических учреждений диагноз РЖ ставится уже при местнораспространенных и генерализованных формах заболевания (более 70% больных). Показатели 5-летней выживаемости после радикальных вмешательств в большинстве клиник не превышают 36% [17, 18].

Несмотря на некоторые успехи комбинированных методов лечения РЖ, именно хирургический метод остается стандартом, позволяющим добиться излечения на ранних стадиях заболевания. Однако прогноз на поздних стадиях заболевания неутешительный и составляет менее года для неоперабельных больных даже при соответствующей терапии. При этом, основными принципами хирургического лечения РЖ являются: максимальная безопасность вмешательства, онкологическая адекватность и высокая функциональность. Радикальная резекция опухоли (R_0 резекция) – главный фактор в сокращении локальных рецидивов РЖ, но эта цель может быть достигнута только при условии

безопасного, с онкологической точки зрения, уровня резекции, резекции «en bloc» и радикальной лимфодиссекции [15]. При этом, агрессивная хирургическая тактика и расширенные операции, в конечном итоге, имеют известный предел.

Результаты многолетних попыток воздействовать на предположительно существующие даже на ранних стадиях имплантационные или гематогенные метастазы с помощью адьювантной, неоадьювантной, регионарной, внутриволостной химиотерапии, иммунотерапии довольно скромные. В связи с этим понятны стремления исследователей, изучающих РЖ, найти «ключ» к пониманию возможностей патогенетической регуляции процессов роста, дифференцировки, инвазивной и метастатической активности злокачественной клетки [15, 75]. В последние годы расширились исследования биологических свойств опухоли и создания многофакторных систем прогноза РЖ, так как «классические» морфологические критерии прогноза не могут полностью объяснить все разнообразие биологических свойств опухоли, не могут служить основой адекватной диагностики и обоснованного прогноза заболевания.

Фундаментальный прогресс последнего десятилетия позволяет заключить, что при многоступенчатом развитии опухолей формируются отличительные признаки рака, которые обуславливают ряд биологических особенностей, и их можно считать принципиальными при сложной классификации неопластических заболеваний. К таким признакам относятся:

- 1) геномная нестабильность и мутации;
- 2) сигнальная система, обуславливающая постоянную пролиферацию;
- 3) отсутствие ответа на действие супрессоров роста;
- 4) утрата контроля над апоптозом;
- 5) возможность неограниченного бессмертия;
- 6) активация ангиогенеза;
- 7) активации процессов инвазии и метастазирования;
- 8) отсутствие иммунного контроля;
- 9) перепрограммирование энергетического метаболизма [75].

Следует отметить, что указанные отличительные признаки формируются в

течение определенного времени как результат геномной нестабильности, генетические вариации ускоряют их «приобретение и закрепление», а воспалительные процессы способствуют проявлению этих отличительных признаков. Кроме того, при характеристике опухоли имеется еще одна сложность: опухоли обычно содержат заметное количество созревающих, якобы нормальных клеток, что также может быть дополнительным отличительным признаком - «микроокружение опухоли». Некоторые исследователи подчеркивают, что основополагающими можно считать только первые шесть из указанных выше отличительных черт рака, и эти признаки могут быть логическим фундаментом понимания заметного различия неопластических заболеваний [75].

Настоящее исследование посвящено изучению клинического значения проангиогенных факторов и матриксных металлопротеиназ у больных РЖ. Интерес к этим исследованиям в клинике, связан с фундаментальными свойствами злокачественных опухолей, а именно, их способностью к инвазии в окружающие ткани и метастазированию в отдаленные органы [20]. При этом доказано, что опухолевая клетка на всех этапах инвазии и метастазирования находится в тесном контакте с ВКМ, поэтому одним из главных молекулярных механизмов, лежащих в основе этих процессов, считается разрушение окружающей базальной мембраны и ВКМ ассоциированными с опухолью протеиназами – матриксными металлопротеазами (ММП) [3, 13, 53]. Протеиназы участвуют также в опухолевом ангиогенезе, способствуя распространению новых капиллярных сосудов. Несмотря на то, что разрушение ВКМ отмечается при многих физиологических процессах (развитие, рост, регенерация ткани), однако считается важной составляющей при опухолевой прогрессии. В процессе канцерогенеза регуляторные пути, влияющие на деградацию ВКМ, нарушаются, и происходит патологическая экспрессия регуляторных белков, что помогает опухолевой клетке пройти все этапы инвазии и метастазирования [10, 99].

Полученные нами результаты показывают, что уровни исследованных ММП в сыворотке крови больных раком желудка значимо отличались от показателей практически здоровых доноров группы контроля. Исследовали две протеиназы

семейства желатиназ - желатиназу А (ММР-2) и желатиназу В (ММР-9), а также матрилизин (ММР-7). Известно, что ММР-2, экспрессируется в нормальных и опухоль-трансформированных клетках, а желатиназа-Продуцируется кератиноцитами, моноцитами, альвеолярными макрофагами, полиморфноядерными лейкоцитами и разнообразными злокачественными клетками. При этом ММР-2 расщепляет не только желатин, ламинин и нидоген, но природный коллаген I типа., а также протеолитически активирует ММР-9 и ММР-13 [187]. Желатинолитическое расщепление может вызывать из ВКМ выброс сигнальных молекул, что облегчает миграцию клеток [81]. Следует отметить, что роль ММР в прогрессии и метастазировании опухолей обусловлена, главным образом, протеолитической активностью ММР-2 и/или ММР-9.

Нами выявлено, что концентрации ММР-2 в сыворотке крови первичных ранее нелеченых больных РЖ статистически значимо ниже, чем в контроле (медианы 212 и 469 нг/мл соответственно, $p < 0,0001$). При этом, показатель не был связан с полом и возрастом пациентов, критериями Т и М, гистологическим строением и анатомической локализацией опухоли в желудке. Вместе с тем, обнаружено статистически значимое повышение сывороточных уровней ММР-2 при увеличении критерия N: с 209 нг/мл при N0 до 245 нг/мл при N3 ($p=0,03$). Это согласуется с данными Z.Y.Wu вместе с соавторами в 2006 году, наблюдали статистически значимую взаимосвязь гиперэкспрессии ММР-2 в ткани опухоли с глубиной инвазии РЖ, наличием метастазов в регионарных лимфоузлах и степенью дифференцировки опухоли [193]. Кроме того, нами обнаружено, что ММР-2 обладает выраженной диагностической значимостью у больных РЖ при пороговом значении равном 300 нг/мл. Чувствительность ММР-2 при данном пороговом уровне при разделении больных РЖ и здоровых доноров составляет 89,1%, специфичность - 81,7%.

В отличие от ММР-2, концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных РЖ статистически значимо не отличаются от контроля, и этот показатель не обладает диагностической ценностью. Вместе с тем, сывороточные уровни ММР-9 у больных РЖ женщин были статистически значимо ниже (медиана 757 нг/мл), чем

у мужчин (медиана 936 нг/мл; $p=0,01$). Такая же закономерность отмечена и в группе контроля. Кроме того, обнаружены значимо более низкие концентрации ММР-9 в сыворотке крови больных РЖ с благоприятным гистологическим вариантом опухоли – высокодифференцированной аденокарциномой ($p=0,014$), чем у пациентов с умеренно и низкодифференцированными опухолями. Как было указано выше, некоторые авторы отмечают различную роль желатиназ (ММР-2 и ММР-9) в опухолевой прогрессии и даже существует мнение, что ММР-9 является более ценным маркером, чем ММР-2, в оценке прогноза заболевания при РЖ [206].

Концентрации ММР-7 (матрилизин - единственная ММР, которая синтезируется преимущественно в опухолевых, а не в стромальных клетках) в сыворотке крови больных РЖ статистически значимо выше, чем в контроле (медианы равнялись 5,1 и 2,4 нг/мл соответственно, $p<0,0001$). Этот факт подтверждают данные исследований других авторов [109, 194, 158, 211]. По данным Z. Li и его соавторов [109], полученным с помощью метода PCR-OT, уровень ММР-7 резко повышался в перитонеальном лаваже при рецидиве РЖ у 116 обследованных пациентов.

По нашим данным, ММР-7 обладает диагностической ценностью, при пороговом уровне маркера в сыворотке крови равном 3,8 нг/мл чувствительность теста составила 80,4%, специфичность 77,9%. У больных РЖ уровень ММР-7 не был связан с критериями N и M, гистологическим строением опухоли. Вместе с тем, обнаружено статистически значимое увеличение концентраций ММР-7 в сыворотке крови больных РЖ при увеличении критерия T системы TNM ($p=0,02$). Важно отметить, что диагностически значимое повышение уровня ММР-7 в сыворотке или плазме крови наблюдается и при других злокачественных новообразованиях, таких как колоректальный рак [5], рак яичников [4], рак почки [6] и др., поэтому этот маркер не может быть использован для дифференциальной диагностики рака желудка.

При анализе влияние уровней исследованных ММР на выживаемость пациентов нами получены неоднозначные результаты, в соответствии с

которыми более высокий уровень ММР-2, сниженной у больных раком желудка по сравнению с контролем, статистически значимо ухудшает общую выживаемость пациентов, а для исходно повышенной ММР-7 и ММР-9, напротив, отмечены тенденции к ухудшению общей и безрецидивной выживаемости при более низких концентрациях в сыворотке крови.

Особое внимание исследователи уделяют проблеме неоангиогенеза в злокачественных опухолях, в том числе при РЖ, поскольку опухоль не может расти и развиваться без сосудов, снабжающих клетки кислородом и питательными веществами [2, 16, 19, 120]. Наиболее важным событием в исследовании ангиогенеза было открытие VEGF в 1989-1990 г.г. несколькими независимыми группами исследователей [173, 91, 104, 43]. Помимо VEGF, пристальное внимание исследователей направлено на изучение влияния на ангиогенез трёх видов его рецепторов – VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3 не только в опухоли, но и в сыворотке крови в виде их растворимых форм (sVEGFR1, sVEGFR2, sVEGFR3).

Проведенный нами анализ концентраций ключевого активатора ангиогенеза VEGF в сыворотке крови больных РЖ выявил статистически значимо более высокие показатели маркера по сравнению с таковыми у практически здоровых доноров, медианы составили соответственно 419 и 275 пг/мл ($p < 0,0001$). Повышенные уровни VEGF выявлены при различных злокачественных новообразованиях человека, в том числе и при РЖ, и подтверждают представленные нами результаты [179, 72, 191]. Некоторые авторы отметили значимое снижение концентрации VEGF после удаления первичной опухоли [50, 181] или на фоне эффективного консервативного лечения, что позволяет рассматривать его в качестве маркера для мониторинга и оценки эффективности лечения РЖ [87]. Следует отметить, что ни в одном из выше указанных исследований не было найдено порогового уровня, позволяющего использовать VEGF в качестве диагностического серологического маркера РЖ.

В проведенном нами исследовании, концентрации VEGF в сыворотке крови больных РЖ не были связаны с такими признаками как пол и возраст пациентов,

критерии системы TNM, клиническая стадия заболевания и гистологический вариант строения опухоли. Вместе с тем, некоторые авторы отметили связь повышенных уровней VEGF в крови больных РЖ с поздней стадией заболевания, инвазией опухоли в окружающие ткани, наличием регионарных и отдаленных метастазов. Так, например, в работе М. Ohta в 2003 году авторы выявили повышенные уровни VEGF в периферической крови больных РЖ с венозной инвазией, которые умеренно коррелировали с количеством и соотношением метастатических лимфоузлов. При этом локальная экспрессия VEGF в первичной опухоли статистически значимо коррелировала с размером новообразования, поздней стадией и регионарными метастазами, но не коррелировала с периферическими уровнями VEGF. Авторы полагают, что уровень VEGF в плазме является одним из чувствительных маркеров статуса РЖ. Н.К. Kim и группа учёных в 2003 году предложили использовать уровень VEGF в плазме крови больных РЖ в качестве маркера наличия отдаленных метастазов.

Многими исследователями обнаружено ухудшение показателей выживаемости больных РЖ при высоких уровнях VEGF в сыворотке или плазме крови [73, 74, 135-137, 181]. Однако в других работах такой взаимосвязи не подтвердили [138]. На ранних этапах исследования изучали, в основном прогноз течения РЖ после радикальной резекции, позднее стали оценивать также влияние исходных уровней VEGF на прогноз неоперабельного рака на фоне традиционной химиотерапии [137, 156], а в исследованиях последних лет изучали, как правило, взаимосвязь исходных уровней VEGF и их динамики с эффектом различных антиангиогенных препаратов [40, 41, 74]. В качестве пороговых значений при оценке влияния VEGF на выживаемость пациентов использовали, как правило, показатель медианы в общей группе больных РЖ. Эти пороговые значения колебались в различных исследованиях для сыворотки крови в пределах от 105 до 761 пг/мл (медиана – 320 пг/мл); для плазмы – 10–111 пг/мл (медиана – 32,8 пг/мл).

Нами отмечено ухудшение результатов лечения больных РЖ в группе больных с высокими (более 420 пг/мл) концентрациями VEGF преимущественно в первые два

года после начала лечения. Так, общая двухлетняя общая выживаемость больных РЖ с уровнями VEGF в сыворотке крови более 420 пг/мл составила 52,3% против 68,2% у пациентов с более низкими концентрациями маркера. К сожалению, при более длительных сроках наблюдения эти различия нивелировались. В то же время отмечена стойкая тенденция к снижению безрецидивной выживаемости при высоких уровнях VEGF. Этот факт позволяет рекомендовать исследование исходных до лечения сывороточных уровней VEGF у больных РЖ в оценке общего прогноза заболевания для корректировки тактики лечения на ранних сроках после операции.

Как было указано выше, большой интерес представлял анализ содержания растворимых форм рецепторов VEGF – sVEGFR1 и sVEGFR2 в сыворотке крови больных РЖ и их связи с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания и его прогнозом. В группе больных раком желудка нами выявлены значимо более высокие уровни sVEGFR1 по сравнению с контролем. В отличие от sVEGFR1, концентрации sVEGFR2 были статистически значимо ниже у больных РЖ по сравнению с контрольной группой. При этом оба маркера sVEGFR1 и sVEGFR2 не отражали основные клинические и морфологические характеристики РЖ. Кроме того, не обнаружено тесных корреляционных зависимостей между уровнями VEGF и его рецепторами sVEGFR1, sVEGFR2 как в группе контроля, так и у больных РЖ. Парадоксально, но наблюдается выраженная тенденция к ухудшению общей выживаемости больных раком желудка при низких (менее 94 пг/мл) уровнях sVEGFR1. Можно предположить, что этот факт объясняется связыванием VEGF с растворимой формой его рецептора в периферической крови, приводящим к снижению его биологической активности. При этом уровень sVEGFR2 практически не влияет на общую выживаемость, но достоверно снижает БРВ при пороговом уровне более 9,0 нг/мл.

Многофакторный анализ с включением в модель критериев системы TNM, а также VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2 выделил как значимый независимый фактор прогноза общей выживаемости больных раком желудка критерий T ($p=0,001$) и

концентрацию sVEGFR1 ($p=0,015$). Уровни VEGF и sVEGFR2 в сыворотке крови в этой модели не были независимыми факторами прогноза общей выживаемости. В более сложной модели, включавшей помимо этих показателей также пороговые уровни всех исследованных ММР, независимыми прогностическими факторами наряду с критерием T оказались только уровни последних, но не маркеры системы ангиогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак желудка – гетерогенное заболевание, которое связано с биологической индивидуальностью больного, конкретной опухолью и ее гистопатологическими особенностями. Патогенез этого заболевания многофакторный и связан с взаимодействием генетической предрасположенности и окружающей среды. Рак желудка обычно диагностируется на поздних стадиях, когда возможно альтернативное развитие заболевания, а прогноз трудно установить.

Метастазирование – основная причина смерти при РЖ. Идентификация ключевых генов и сигнальных путей, связанных с прогрессированием опухоли и метастазированием, могла бы предсказывать эти события, и тем самым идентифицировать мишени для терапии. В связи с этим матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы представляют собой потенциальный прогностический инструмент, поскольку оба семейства белков регулируют рост, ангиогенез, инвазивность, иммунный ответ, эпителиально-мезенхимальную проницаемость и выживаемость клеток. Вполне вероятно, что такие параметры могли бы повысить степень надежности хирургического вмешательства и разработать наиболее соответствующую терапию.

Важную роль при раке желудка, как и при многих других онкологических заболеваниях, играет сигнальный путь ключевого регулятора ангиогенеза VEGF. Компоненты этого сигнального пути, по некоторым не подтвержденным нами данным, являются значимыми факторами прогноза заболевания, а также могут быть полезны для мониторинга эффективности проводимого лечения. Особое значение исследование этих маркеров приобретает в настоящее время, когда активно развиваются различные методы антиангиогенной терапии, некоторые из которых уже показали определенную эффективность при раке желудка.

Вероятно, в будущем, используя методы молекулярной биологии, возможна корректировка необычных эпигенотипов с тем, чтобы изменить профиль экспрессии генов и тем самым изменить морфологию опухолевой клетки и уменьшить клеточную миграцию и инвазивность. В будущем при персонализации медицины рака можно будет использовать результаты исследования

гетерогенности как между пациентами, так и у отдельных пациентов. Кроме того, для новых принципов терапии возможно использование в качестве мишеней чувствительность отдельных клеток, а не определенных молекул или внутримолекулярные структуры. Учитывая сложность биологии рака желудка, нереально использовать универсальную стратегию терапии для разных типов опухолей и на разных стадиях опухолевого процесса.

ВЫВОДЫ

1 Концентрация ключевого активатора ангиогенеза VEGF в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо выше, чем у здоровых доноров (медианы 419 и 275 пг/мл соответственно), однако этот маркер не обладает диагностической ценностью и не отражает основные клинико-морфологические характеристики заболевания.

2 Уровни sVEGFR1 (медиана - 116 пг/мл) в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо выше, а sVEGFR2 (медиана - 8,9 нг/мл) – ниже, чем в контроле (медианы соответственно 102 пг/мл и 10,6 нг/мл). Оба маркера не обладают диагностической ценностью и не связаны с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания.

3 Концентрация MMP-2 в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо ниже, чем в контроле (медианы 212 и 469 нг/мл соответственно), и при пороговом уровне менее 300 нг/мл маркер обладает диагностической чувствительностью 89,1%, при специфичности 81,7% относительно здорового контроля. При этом уровень MMP-2 свыше 212 нг/мл значимо ухудшает общую выживаемость пациентов.

4 Концентрация MMP-7 в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо выше, чем в контроле (медианы 5,1 и 2,4 нг/мл соответственно); при пороговом уровне 3,8 нг/мл маркер обладает диагностической чувствительностью 80,4% при специфичности относительно здорового контроля 77,9%; уровень MMP-7 повышается при увеличении стадии опухолевого процесса.

5 Концентрация MMP-9 в сыворотке крови больных раком желудка статистически значимо не отличается от контроля (медианы 823 и 966 нг/мл соответственно), маркер не обладает диагностической ценностью. При этом уровень MMP-9 значимо снижен при высокодифференцированной аденокарциноме по сравнению с умеренно и низкодифференцированными.

6 По данным однофакторного анализа, уровни VEGF более 420 пг/мл, sVEGFR1 менее 94 пг/мл и sVEGFR2 свыше 9,0 нг/мл ухудшают безрецидивную

и общую выживаемость больных раком желудка, при этом различия в общей выживаемости в зависимости от уровня VEGF в сыворотке крови значимы только в первые два года после начала лечения. В многофакторной модели, включавшей критерии системы TNM и пороговые уровни всех исследованных маркеров ангиогенеза и MMP, независимыми прогностическими факторами наряду с критерием T, оказались только уровни матриксных металлопротеиназ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1 Определение содержания матриксных металлопротеиназ 2 и 7 типа (ММР-2 и ММР-7) в сыворотке крови больных раком желудка может быть использовано в качестве дополнительного инструмента в диагностике этого заболевания, т.к. данные маркеры обладают достаточно высокой чувствительностью и специфичностью относительно здорового контроля: чувствительность ММР-2 при пороговом уровне 300 нг/мл составляет 89,1%, специфичность - 81,7%; для ММР-7 при пороговом уровне 3,8 нг/мл эти показатели составляют соответственно 80,4% и 77,9%.

2 На основании анализа показателей пятилетней общей и безрецидивной выживаемости больных раком желудка, в зависимости от уровней проангиогенных факторов и матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови можно рекомендовать исследование этих маркеров в качестве дополнительных прогностических факторов для корректировки тактики лечения. Наиболее значимыми критериями ухудшения выживаемости являются уровни VEGF более 420 пг/мл, sVEGFR1 - менее 94 пг/мл, sVEGFR2 - свыше 9,0 нг/м и уровень ММР-2 более 212 нг/мл.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БРВ – безрецидивная выживаемость

ВКМ – внеклеточный матрикс

ДИ – доверительный интервал

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

ОВ – общая выживаемость

РЖ – рак желудка

ЭК – эндотелиальная клетка

EGFR – рецептор эпидермального фактора роста

FGFR – рецептор фактора роста фибробластов

HR – соотношение рисков (hazard ratio)

Jak2 – Janus киназа 2

MMP – матриксная металлопротеиназа

Stat3 – преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3

TIMP-1 – тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы 1

TIMP-2 – тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы 2

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

VEGFR1 – рецептор фактора роста эндотелия сосудов 1 типа

VEGFR2 – рецептор фактора роста эндотелия сосудов 2 типа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Герштейн, Е.С. Фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы 1-го и 2-го типов в сыворотке крови больных раком почки: клинико-морфологические корреляции / Е.С. Герштейн, А.В. Колпаков, С.Д. Бежанова, А.А. Морозов, А.А. Алферов, Н.А. Огнерубов и соавт. // Клини. Лаб. Диагн. – 2017. – Том 62, № 9. – С. 536–541.
- 2 Герштейн, Е.С. Факторы роста эндотелия сосудов при различных онкологических заболеваниях / Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. // Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования / Под ред. Н.Е. Кушлинского, М.А. Красильникова. М. – Издательство РАМН. – 2017. – С. 231–268.
- 3 Герштейн, Е.С. Иммуноферментное исследование матриксных металлопротеиназ 2, 7, 9 и их тканевого ингибитора 2-го типа в опухолях больных раком желудка: клинико-морфологические корреляции / Е.С. Герштейн, А.А. Иванов, В.Л. Чанг, Н.А. Огнерубов, М.М. Давыдов, И.С. Стилиди [соавт.] // Альманах клинической медицины. – 2018. – Том 46, № 4. – С. 323–239.
- 4 Герштейн, Е.С. Клиническое значение исследования матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов у больных раком яичников / Е.С. Герштейн, Н.В. Левкина, Д.Н. Кушлинский, В.Д. Ермилова, В.Б. Носов, Ю.В. Максимова, К.П. Лактионов, Л.В. Адамян [соавт.] // Акушерство и гинекология. - 2012. - №6. - С. 40-46.
- 5 Герштейн, Е.С. Клиническое значение исследования ассоциированных с опухолью протеаз в опухолях и плазме крови больных колоректальным раком / Е.С. Герштейн, Е.А. Короткова, В.В. Пророков, Н.Е. Кушлинский [соавт.] // Молекулярная медицина. – 2013.- №1. – С. 49-55.
- 6 Кушлинский Н.Е. Ключевые компоненты сигнальной системы VEGF и матриксные металлопротеиназы в диагностике и прогнозе общей выживаемости больных почечно-клеточным раком / Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн, А.В. Колпаков, С.Д. Бежанова, В.В. Муштенко, Е.А. Короткова, Д.Ю. Пушкарь, В.В. Базавев [соавт.] // Альманах клинической медицины. – 2020. – Том 48, № 2. – С. 78-83.

- 7 Давыдов, М.И. Энциклопедия хирургии рака желудка / М.И. Давыдов, И.Н. Туркин, М.М. Давыдов // М. – 2011. – 536 с.
- 8 Давыдов, М.И. Онкология. Клинические рекомендации / Давыдов М.И. (Под ред.) // М. – Издательская группа РОНЦ. – 2015. – 680 с.
- 9 Данилова, Н.В. Классификация эпителиальных опухолей желудка ВОЗ 2019 г., 5-е издание / Данилова Н.В., Олейникова Н.А., Мальков П.Г. // Архив патологии. – 2020. – Том 82, № 4. – С. 58–69.
- 10 Делекторская, В.В. Прогностическая значимость экспрессии матриксных металлопротеиназ в аденокарциномах толстой кишки и их метастазах / В.В. Делекторская, А.Г. Перевощиков, Д.А. Головков, Н.Е. Кушлинский // Бюлл. Экспер. Биол. Мед. – 2007. – Том 143, № 4. – С. 434–438.
- 11 Клишо, Е.В. Прогностическая значимость протеаз у больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи / Е.В. Клишо, И.В. Кондакова, Е.Ц. Чойнзонов и соавт. // Бюлл. СО РАМН. – 2005. – Том 2, № 116. – С. 82–91.
- 12 Копнин, Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза (обзор) / Б.П. Копнин // Биохимия. – 2000. – Том 65. – С. 5–33.
- 13 Кушлинский, Н.Е. Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования / Н.Е. Кушлинский, М.А. Красильников (Под ред.) // М. – Издательство РАМН. – 2017. – 632 с.
- 14 Мерабишвили, В.М. Рак желудка: эпидемиология, профилактика, оценка эффективности лечения на популяционном уровне / В.М. Мерабишвили // Практическая онкология. – 2001. – № 3. – С. 2–8.
- 15 Никулин, М.П. Рак желудка / М.П. Никулин, В.Ю. Сельчук // Русский медицинский журнал. – 2003. – Том 11, № 26. – Р. 1441–1449.
- 16 Петрова, В.С. Регуляция микроокружения опухоли факторами гипоксии HIF и белками семейства p53 / В.С. Петрова, Н.А. Барлев // Цитология. – 2017. – Том 59, № 4. – С. 259–270.

- 17 Скоропад, В.Ю. Рецидивы рака желудка: закономерности развития, профилактика и лечение / В.Ю. Скоропад, Б.А. Бердов // Российский онкологический журнал. – 2005. – № 6. – С. 47–52.
- 18 Стилиди, И.С. Рак желудка / И.С. Стилиди, С.Н. Неред, А.Б. Рябов // Проблемы клинической медицины. – 2005. – № 4. – С. 16–20.
- 19 Черток, В.М. Эндотелиозависимая регуляция ангиогенеза / В.М. Черток, А.Г. Черток, В.Г. Зенкина // Цитология. – 2017. – Том 59, № 4. – С. 243–258.
- 20 Шадрина, А.С. Матриксные металлопротеиназы: структура, функции, генетический полиморфизм / Шадрина А.С., Терешкина И.В., Плиева Я.З., Кушлинский Д.Н., Уткин Д.О., Морозов А.А. [соавт.] // Патогенез. – 2017. – Том 15, № 2. – С. 14–23.
- 21 Abdel-Rahman, O. Targeting vascular endothelial growth factor (VEGF) pathway in gastric cancer: preclinical and clinical aspects / O. Abdel-Rahman // Crit. Rev. Oncol. Hematol. – 2015. – Vol. 93, № 1. – P. 18–27.
- 22 Abdel-Wahed, M.M. Expression of matrix metalloproteinase-2 in renal cell carcinoma / M.M. Abdel-Wahed., N.Y. Asaad, M. Aleskandarany // J. Egypt. Natl. Cancer Inst. – 2004. – Vol. 16, № 3. – P. 168–177.
- 23 Aglund, K. Gelatinases A and B (MMP-2 and MMP-9) in endometrial cancer-MMP-9 correlates to the grade and the stage / K. Aglund, M. Rauvala, U. Puistola, T. Angström, T. Turpeenniemi-Hujanen [et al.] // Gynecol. Oncol. – 2004. – Vol. 94, № 3. – P. 699–704.
- 24 Ahn, J.R. Prognosis of pN3 stage gastric cancer / J.R. Ahn, M. Jung, C. Kim, M.H. Hong, H.J. Chon, H.R. Kim [et al.] // Cancer Res. Treat. – 2009. – Vol. 41, № 2. – P. 73–79.
- 25 Al-Batran, S.E. The validation of matrix metalloproteinase-9 mRNA gene expression as a predictor of outcome in patients with metastatic gastric cancer / S.E. Al-Batran, C. Pauligk, R. Wirtz, D. Werner, K. Steinmetz, N. Homann [et al.] // Ann. Oncol. – 2012. – Vol. 23, № 7. – P. 1699–1705.
- 26 Anbiaee, R. Abnormal expression of e-cadherin in gastric adenocarcinoma, and its correlation with tumor histopathology and helicobacter pylori infection / R.

Anbiaee, K. Mojir Sheibani, P. Torbati, H. Jaam // *Iran Red. Crescent. Med. J.* – 2013. – Vol. 15, № 3. – P. 218–222.

27 Andreuzzi, E. Role of Extracellular Matrix in Gastrointestinal Cancer-Associated Angiogenesis / E. Andreuzzi, A. Capuano, E. Poletto, E. Pivetta, A. Fejza, A. Favero [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 10. – P. 3686.

28 Bang, Y.J. Phase II study of sunitinib as second-line treatment for advanced gastric cancer / Y.J. Bang, Y.K. Kang, W.K. Kang, N. Boku, H.C. Chung, J.S. Chen [et al.] // *Invest. New Drugs.* – 2011. – Vol. 29, № 6. – P. 1449–1458.

29 Baniak, N. Gastric biomarkers: a global review / N. Baniak, J.-L. Senger, Sh. Ahmed, S.C. Kanthan, R. Kanthan // *World J. Surg. Oncol.* – 2016. – Vol. 14. – P. 212.

30 Bellini, M.F. Alterations of the TP53 gene in gastric and esophageal carcinogenesis / M.F. Bellini, A.C. Cadamuro, M. Succi, M.A. Proença, A.E. Silva // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 891961.

31 Bilgic, C.I. Serum VEGF levels in gastric cancer patients: correlation with clinicopathological parameters / C.I. Bilgic, M. Tez // *Turk. J. Med. Sci.* – 2015. – Vol. 45, № 1. – P. 112–117.

32 Böckelman, C. Serum MMP-8 and TIMP-1 predict prognosis in colorectal cancer / C. Böckelman, I. Beilmann-Lehtonen, T. Kaprio, S. Koskensalo, T. Tervahartiala, H. Mustonen [et al.] // *BMC Cancer.* – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 679.

33 Cai, Q.W. Expression of STAT3, MMP-1 and TIMP-1 in gastric cancer and correlation with pathological features / Q.W. Cai, J. Li, X.Q. Li, J.Q. Wang, Y. Huang // *Mol. Med. Rep.* – 2012. – Vol. 5, № 6. – P. 1438–1442.

34 Cao, W. VEGF-C expression is associated with the poor survival in gastric cancer tissue / W. Cao, R. Fan, W. Yang, Y. Wu // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, № 4. – P. 3377–3383.

35 Cetin, B. Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic colorectal carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeting agents / B. Cetin, M.A. Kaplan, V. Berk, S.C. Ozturk, M. Benekli, A. Isikdogan [et al.] // *Asian Pacific J. Cancer Prev.* – 2012. – Vol. 13, № 3. – P. 1059–1063.

36 Chen, J. Clinicopathological and prognostic significance of galectin-1 and vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer / J. Chen, S.J. Zhou, Y. Zhang, G.Q. Zhang, T.Z. Zha, Y.Z. Feng [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19, № 13. – P. 2073–2079.

37 Chen, J. High expressions of galectin-1 and VEGF are associated with poor prognosis in gastric cancer patients / J. Chen, D. Tang, S. Wang, Q.G. Li, J.R. Zhang, P. Li [et al.] // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, № 3. – P. 2513–2519.

38 Chen, J. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma: a meta-analysis / J. Chen, T. Li, Y. Wu, L. He, L. Zhang, T. Shi [et al.] // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 137, № 12. – P. 1799–1812.

39 Chen, L. miR-29a suppresses growth and invasion of gastric cancer cells in vitro by targeting VEGF-A / L. Chen, H. Xiao, Z.H. Wang, Y. Huang, Z.P. Liu, H. Ren [et al.] // *BMB Rep.* – 2014. – Vol. 47, № 1. – P. 39–44.

40 Chen, Z. Effect of FOLFOX4 combined with Brucea javanica emulsion on VEGF in patients with gastric cancer / Z. Chen, Z. Zhou, Z. Hu, Q. Xu, J. Wang // *Oncol. Lett.* – 2018. – Vol. 15, № 1. – P. 1079–1083.

41 Cheng, R. Chemotherapy regimen based on sorafenib combined with 5-FU on HIF-1alpha and VEGF expression and survival in advanced gastric cancer patients / R. Cheng, H. Yong, Y. Xia, Q. Xie, G. Gao, X. Zhou // *Oncol. Lett.* – 2017. – Vol. 13, № 4. – P. 2703–2707.

42 Chu, D. Matrix metalloproteinase-9 is associated with disease-free survival and overall survival in patients with gastric cancer / D. Chu, Z. Zhang, Y. Li, J. Zheng, G. Dong., W. Wang [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2011. – Vol. 129, № 4. – P. 887–895.

43 Conn, G. Purification of a glycoprotein vascular endothelial cell mitogen from a rat glioma-derived cell line / G. Conn, D.D. Soderman, M.T. Schaeffer, M. Wile, V.B. Hatcher, K.A. Thomas // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 1990. – Vol. 87, № 4. – P. 1323-1327.

44 Cui, Y. Combined targeting of vascular endothelial growth factor C (VEGFC) and P65 using miR-27b-3p agomir and lipoteichoic acid in the treatment of

gastric cancer / Y. Cui, S. Huang, J. Cao, J. Ye, H. Huang, D. Liao [et al.] // *J. Gastrointest. Oncol.* – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 121–132.

45 de Mingo, M. Expression of MMP-9 and TIMP-1 as prognostic markers in gastric carcinoma / M. de Mingo, A. Moran, A. Sanchez-Pernaute, P. Iniesta, L. Díez-Valladares, E. Pérez-Aguirre [et al.] // *Hepatogastroenterology.* - 2007. - Vol. 54, № 73. - P. 315–319.

46 Deng, J. STAT3 regulation the expression of VEGF-D in HGC-27 gastric cancer cell / J. Deng, J. Cui, N. Jiang, R. Zhang, L. Zhang, X. Hao [et al.]// *Am. J. Transl. Res.* – 2014. – Vol. 6, № 6. – P. 756–767.

47 Deryugina, E. I. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis / Deryugina, E. I., and Quigley, J. P. // *Cancer Metastasis Rev.*– 2006.-Vol. 25, № 1 - P.9-34.

48 Deryugina, E. I. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions / Deryugina, E. I., and Quigley, J. P. // *Biochim Biophys Acta.*– 2010.-Vol. 1803, № 1 - P.103-120.

49 Ding, S. Distinct roles of VEGF-A and VEGF-C in tumour metastasis of gastric carcinoma / S. Ding, C. Li, S. Lin, Y. Han, Y. Yang, Y. Zhang [et al.] // *Oncol. Rep.* – 2007. – Vol. 17, № 2. – P. 369–375.

50 Ding, S. Potential prognostic value of circulating levels of vascular endothelial growth factor-A in patients with gastric cancer / S. Ding, S. Lin, X. Dong, X. Yang, H. Qu, S. Huang [et al.] // *In vivo.* – 2005. – Vol. 19, № 4. – P. 793–795.

51 Donizy, P. Disrupted Balance of MMPs/TIMPs in Gastric Carcinogenesis-Paradoxical Low MMP-2 Expression in Tumor and Stromal Compartments as a Potential Marker of Unfavorable Outcome / P. Donizy, J. Rudno-Rudzinska, M. Kaczorowski, J. Kabarowski, E. Frejlich, W. Kielan [et al.] // *Cancer Invest.* – 2015. – Vol. 33, № 7. – P. 286–293.

52 Dragutinovic, V. Relation of matrix metalloproteinase-9 to different stages of tumors in the serum of gastric cancer / V. Dragutinovic, L. Izrael-Zivkovic, N. Radovanovic // *Dig. Dis. Sci.* – 2009. – Vol. 54, № 6. – P. 1203–1207.

53 Duffy M.J., McCarthy K. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and targets for therapy (review) / V.J. Duffy, K. McCarthy // *Int. J. Oncol.* – 1998. – Vol. 12, № 6. – P. 1343–1348.

54 Duffy, M.J. Cancer invasion and metastasis: changing views / M.J. Duffy, P.M. McGowan, W.M. Gallagher // *J. Pathol.* – 2008. – Vol. 214, N 3. – P. 283–293.

55 Duffy, M.J. The urokinase plasminogen activator system: a rich source of tumour markers for the individualised management of patients with cancer / M.J. Duffy, C. Duggan // *Clin. Biochem.* – 2004. – Vol. 37, N 7. – P. 541–548.

56 Duffy, M.J. Use of Biomarkers in Screening for Cancer / M.J. Duffy // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2015. – Vol. 867. – P. 27–39.

57 Durães, C. Biomarkers for gastric cancer: prognostic, predictive or targets of therapy? / C. Durães, G.M. Almeida, R. Seruca, C. Oliveira, F. Carneiro // *Virchows Arch.* – 2014. – Vol. 464, № 3. – P. 367–378.

58 Ellerbroek, S.M. Phosphatidylinositol 3-kinase activity in epidermal growth factor-stimulated matrix metalloproteinase-9 production and cell surface association / S.M. Ellerbroek, J.M. Halbleib, M. Benavidez, J.K. Warmka, E.V. Wattenberg, M.S. Stack [et al.] // *Cancer Res.* – 2001a. – Vol. 61, N. 5. – P. 1855–1861.

59 Ellerbroek, S.M. Functional interplay between type I collagen and cell surface matrix metalloproteinase activity / S.M. Ellerbroek, Y.I. Wu, C.M. Overall, M.S. Stack // *J. Biol. Chem.* – 2001b. – Vol. 276, N. 27. – P. 24833–24842.

60 Fanelli, M.F. The influence of transforming growth factor- α , cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase (MMP)-7, MMP-9 and CXCR4 proteins involved in epithelial-mesenchymal transition on overall survival of patients with gastric cancer / M.F. Fanelli, L.T. Chinen, M.D. Begnami, W.L. Costa Jr., J.H. Fregnami, F.A. Soares [et al.] // *Histopathology.* – 2012. – Vol. 61, № 2. – P. 153–161.

61 Feng, X. Correlations of recurrence of gastric cancer in patients after radical surgery with serum gastrointestinal hormones, vascular endothelial growth factors and serum anti-helicobacter pylori IgG antibody / X. Feng, X.M.Y. Shi // *J. BUON.* – 2020. – Vol. 25, № 3. – P. 1476–1481.

62 Fine, B.A. VEGF, flt-1, and KDR/flk-1 as prognostic indicators in endometrial carcinoma / B.A. Fine, P.T. Valente, G.I. Feinstein, T. Dey // *Gynecol. Oncol.* – 2000. – Vol. 76, № 1. – P. 33–39.

63 Fondevila, C. p53 and VEGF expression are independent predictors of tumour recurrence and survival following curative resection of gastric cancer / C. Fondevila, J.P. Metges, J. Fuster, J.J. Grau, A. Palacin, A. Castells [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2004. – Vol. 90, № 1. – P. 206–215.

64 Fuchs, C.S. Prognostic Factor Analysis of Overall Survival in Gastric Cancer from Two Phase III Studies of Second-line Ramucirumab (REGARD and RAINBOW) Using Pooled Patient Data / C.S. Fuchs, K. Muro, J. Tomasek, E. Van Cutsem, J.Y. Cho, S.C. Oh [et al.] // *J. Gastric Cancer.* – 2017. – Vol. 17, № 2. – P. 132–144.

65 Fuereder, T. mTOR inhibition by everolimus counteracts VEGF induction by sunitinib and improves anti-tumor activity against gastric cancer in vivo / T. Fuereder, A. Jaeger-Lansky, D. Hoeflmayer, M. Preusser, S. Strommer, D. Cejka [et al.] // *Cancer Lett.* – 2010. – Vol. 296, № 2. – P. 249–256.

66 Gershtein, E.S. Relationship between the expression of VEGF signal components and matrix metalloproteinases in ovarian tumors / E.S. Gershtein, L.N. Kushlinsky, N.V. Levkina, I.V. Tereshkina, V.B. Nosov, K.P. Laktionov [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 151, № 4. – P. 449–453.

67 Gershtein, E.S. Vascular endothelial growth factor and its type 2 receptor in hepatocellular carcinoma / E.S. Gershtein, E.A. Dubova, A.I. Shchegolev, N.E. Kushlinskii // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2010. – Vol. 149, № 6. – P. 749–752.

68 Ghosh, S. ETS-1 protein regulates vascular endothelial growth factor-induced matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-13 expression in human ovarian carcinoma cell line SKOV-3 / S. Ghosh, M. Basu, S.S. Roy // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287, № 18. – P. 15001–15015.

69 Goldman, S. MMPS and TIMPS in ovarian physiology and pathophysiology / S. Goldman, E. Shalev // *Front Biosci.* – 2004. – Vol. 9. – P. 2474–2483.

70 Gou, H.F. Expressions of COX-2 and VEGF-C in gastric cancer: correlations with lymphangiogenesis and prognostic implications / H.F. Gou, X.C. Chen, J.

Zhu, M. Jiang, Y. Yang, D. Cao [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2011. – Vol. 30. – P. 14.

71 Gurgel, D.C. Immunoexpression of metalloproteinases 2 and 14 and TIMP-2 inhibitor in main types of primary gastric carcinomas and lymph node metastasis / D.C. Gurgel, J.T. Valença-Junior, C.A. Dornelas, R.B. Vieira, J.T. Maia-Filho, R.C. Lima-Junior [et al.] // *Pathol. Oncol. Res.* – 2015. – Vol. 21, № 1. – P. 73–81.

72 Halmaciu, I. Preliminary results regarding vascular endothelial growth factor (VEGF-A) levels in the serum of gastric cancer patients / I. Halmaciu, S. Gurzu, M. Dobreanu, B.A. Suciu, K. Brinzaniuc // *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.* – 2012. – Vol. 116, № 2. – P. 446–451.

73 Han, F.H. The expression of VEGF-C, VEGFR-3 and its predictive value on lymph node metastasis and prognosis of gastric cancer / F.H. Han, W.H. Zhan, Y.L. He, Y.M. Li, Z.Q. Zheng, J.S. Peng [et al.] // *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* – 2006. – Vol. 44, № 15. – P. 1058–1061.

74 Han, K. Simulations to Predict Clinical Trial Outcome of Bevacizumab Plus Chemotherapy vs. Chemotherapy Alone in Patients With First-Line Gastric Cancer and Elevated Plasma VEGF-A / K. Han, L. Claret, Y. Piao, P. Hegde, A. Joshi, J.R. Powell [et al.] // *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 5, № 7. – P. 352–358.

75 Hanahan, D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell.* – 2011. – Vol. 144, № 5. – P. 646–674.

76 Handsley, M.M. Metalloproteinases and their inhibitors in tumor angiogenesis / M.M. Handsley, D.R. Edwards // *Int. J. Cancer.* – 2005. – Vol. 115. – P. 849–860.

77 Hartgrink, H.H. Gastric cancer / H.H. Hartgrink, E.P. Jansen, N.C. van Grieken, C.J. van de Velde // *Lancet.* – 2009. – Vol. 374, № 9688. – P. 477–490.

78 He, L. Matrix metalloproteinase-14 is a negative prognostic marker for patients with gastric cancer / L. He, D. Chu, X. Li, J. Zheng, S. Liu, J. Li [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* – 2013. – Vol. 58, № 5. – P. 1264–1270.

79 He, Q. Expression of peroxisome proliferators-activated receptor γ , E-cadherin and matrix metalloproteinases-2 in gastric carcinoma and lymph node metasta-

ses / Q. He, J. Chen, H.L. Lin, P.J. Hu, M.H. Chen // *Chin. Med. J.* – 2007. – Vol. 120, № 17. – P. 1498–1504.

80 Hsu, J.T. Vascular endothelial growth factor expression is an independent poor prognostic factor for human epidermal growth factor receptor 2 positive gastric cancer / J.T. Hsu, T.D. Chen, H.C. Chuang, S.C. Huang, P.H. Le, T.H. Chen [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2017. – Vol. 208. – P. 40–50.

81 Jacob, A. The regulation of MMP targeting to invadopodia during cancer metastasis / Jacob A., Prekeris R. // *Front. Cell. Dev. Biol.* - 2015. - Vol. 3. – P. 4.

82 Ji, H. RPL38 Regulates the Proliferation and Apoptosis of Gastric Cancer via miR-374b-5p/VEGF Signal Pathway / H. Ji H, X. Zhang // *Onco Targets Ther.* – 2020. – Vol. 13. – P. 6131–6141.

83 Ji, Y.N. Prognostic value of vascular endothelial growth factor A expression in gastric cancer: a meta-analysis / Y.N. Ji, Q. Wang, Y. Li, Z. Wang // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, № 3. – P. 2787–2793.

84 Joo, Y.E. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) and p53 status for angiogenesis in gastric cancer / Y.E. Joo., Y.H. Sohn, S.Y. Joo, W.S. Lee, S.W. Min, C.H. Park [et al.] // *Korean J. Intern. Med.* – 2002. – Vol. 17, № 4. – P. 211–219.

85 Juttner, S. Vascular endothelial growth factor-D and its receptor VEGFR-3: two novel independent prognostic markers in gastric adenocarcinoma / S. Juttner, C. Wissmann, T. Jons, M. Vieth, J. Hertel, S. Gretschel [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2006. – Vol. 24, № 2. – P. 228–240.

86 Kamei, S. Evaluation of VEGF and VEGF-C expression in gastric cancer cells producing alpha-fetoprotein / S. Kamei, K. Kono, H. Amemiya, A. Takahashi, H. Sugai, F. Ichihara [et al.] // *J. Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 38, № 6. – P. 540–547.

87 Karayiannakis, A.J. Circulating VEGF levels in the serum of gastric cancer patients: correlation with pathological variables, patient survival, and tumor surgery / A.J. Karayiannakis, K.N. Syrigos, A. Polychronidis, A. Zbar, G. Kouraklis, C. Simopoulos [et al.] // *Ann. Surg.* – 2002. – Vol. 236, № 1. – P. 37–42.

88 Kato, K. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in oral squamous cell carcinomas: manifestation and localization of their activity / K. Kato, A. Hara, T. Kuno, N. Kitaori, Z. Huilan, H. Mori // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* - 2005. - Vol. 131, № 6. - P. 340–346.

89 Kenny, H.A. MMP-2 functions as an early response protein in ovarian cancer metastasis / H.A. Kenny, E. Lengyel // *Cell Cycle*. – 2009. – Vol. 8, N. 5. – P. 683–688.

90 Kenny, H.A. The initial steps of ovarian cancer cell metastasis are mediated by MMP-2 cleavage of vitronectin and fibronectin / H.A. Kenny, S. Kaur, L.M. Coussens, E. Lengyel // *J. Clin. Invest.* – 2008. – Vol. 118, N. 4. – P. 1367–1379.

91 Keck, P.J. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF / P.J. Keck, S.D. Hauser, G. Krivi, K. Sanzo, T. Warren, J. Feder [et al.] // *Science*. – 1989. – Vol. 246, № 4935. – P. 1309–1312.

92 Kigure, W. The association of VEGF-C expression with tumor lymphatic vessel density and lymph node metastasis in patients with gastric cancer and gastrointestinal stromal tumor / W. Kigure, T. Fuji, T. Sutoh, H. Morita, T. Katoh, R.N. Yajima [et al.] // *Hepatogastroenterology*. – 2013. – Vol. 60, № 122. – P. 277–280.

93 Kim, B.J. Tivantinib inhibits the VEGF signaling pathway and induces apoptosis in gastric cancer cells with c-MET or VEGFA amplification / B.J. Kim, Y.J. Kim, S.H. Sohn, B. Kim, H.J. Sul, H.S. Kim [et al.] // *Invest. New Drugs*. – 2020. – Vol. 38, № 6. – P. 1633–1640.

94 Kim, H.K. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: possible role of a metastasis predictor / H.K. Kim, K.S. Song, Y.S. Park, Y.H. Kang, Y.J. Lee, K.R. Lee [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2003. – Vol. 39, № 2. – P. 184–191.

95 Kondo, K. VEGF-C and VEGF-A synergistically enhance lymph node metastasis of gastric cancer / K. Kondo, T. Kaneko, M. Baba, H. Konno // *Biol. Pharm. Bull.* – 2007. Vol. 30, № 4. – P. 633–637.

96 Konno, H. The role of circulating IL-8 and VEGF protein in the progression of gastric cancer / H. Konno, M. Ohta, M. Baba, S. Suzuki, S. Nakamura // *Cancer Sci.* – 2003. – Vol. 94, № 8. – P. 735–740.

97 Kubben, F.J. Clinical evidence for a protective role of lipocalin-2 against MMP-9 autodegradation and the impact for gastric cancer / F.J. Kubben, C.F. Sier, L.J. Hawinkels, H. Tschesche, W. van Duijn, K. Zuidwijk [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2007. – Vol. 43, № 12. – P. 1869–1876.

98 Kubben, F.J. Matrix metalloproteinase-2 is a consistent prognostic factor in gastric cancer / F.J. Kubben, C.F. Sier, W. van Duijn, G. Griffioen, R. Hanemaaijer, C.J. van de Velde [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2006. – Vol. 94, № 7. – P. 1035–1040.

99 Kumar, P. mRNA Expression Analysis of E-Cadherin, VEGF, and MMPs in Gastric Cancer: a Pilot Study / P. Kumar, A. Sebastian, K. Verma, R. Dixit, S. Kumari, J. Singh [et al.] // *Indian J. Surg. Oncol.* – 2021. – Vol. 12, Suppl. 1. – P. 85–92.

100 Kushlinskii, N.E. Insulin-like growth factors (IGF), IGF-binding proteins (IGFBP), and vascular endothelial growth factor (VEGF) in blood serum of patients with colorectal cancer / N.E. Kushlinskii, E.S. Gershtein, A.A. Nikolaev, V.V. Del'ektorskaya, E.A. Korotkova, E.K. Dvorova [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2014. – Vol. 156, № 5. – P. 684–688.

101 Laitinen, A. Serum MMP-8 and TIMP-1 as prognostic biomarkers in gastric cancer / A. Laitinen, J. Hagström, H. Mustonen, A. Kokkola, T. Tervahartiala, T. Sorsa [et al.] // *Tumour Biol.* – 2018. – Vol. 40, № 9. – 1010428318799266.

102 Lee, S.J. No association of vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) and VEGF-C expression with survival in patients with gastric cancer / S.J. Lee, J.G. Kim, S.K. Sohn, Y.S. Chae, J.H. Moon, S.M. Kim [et al.] // *Cancer Res. Treat.* – 2009. – Vol. 41, № 4. – P. 218–223.

103 Lee, K.H. Regulation of HGF-mediated cell proliferation and invasion through NF- κ B, JunB, and MMP-9 cascades in stomach cancer cells / K.H. Lee, J.R. Kim // *Clin. Exp. Metastasis.* – 2012. – Vol. 29. – P. 263–272.

104 Leung, D.W. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen / D.W. Leung, G. Cachianes, W.J. Kuang, D.V. Goeddel, N. Ferrara // *Science.*

– 1989. – Vol. 246, № 4935. – P. 1306–1309.

105 Li, J. Apatinib for chemotherapy-refractory advanced metastatic gastric cancer: results from a randomized, placebo-controlled, parallel-arm, phase II trial / J. Li, S. Qin, J. Xu, W. Guo, J. Xiong, Y. Bai [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31, № 26. – P. 3219–3225.

106 Li, P.F. Non-coding RNAs and gastric cancer / P.F. Li, S.C. Chen, T. Xia, X.M. Jiang, Y.F. Shao, B.X. Xiao [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, № 18. – P. 5411–5419.

107 Li, S. Cost-Effectiveness of ramucirumab plus paclitaxel as a second-line therapy for advanced gastric or gastro-oesophageal cancer in China / S. Li, L. Peng, C. Tan, X. Zeng, X. Wan, X. Luo [et al.] // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, № 5. – e0232240.

108 Li, X. Prognostic value and association of Lauren classification with VEGF and VEGFR-2 expression in gastric cancer / X. Li, X. Zhu, Y. Wang, R. Wang, L. Wang, M.L. Zhu [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2019. – Vol. 18, № 5. – P. 4891–4899.

109 Li, Z. Prediction of peritoneal recurrence by the mRNA level of CEA and MMP-7 in peritoneal lavage of gastric cancer patient / Z. Li, D. Zhang, H. Zhang, Z. Miao, Y. Tang, G. Sun [et al.] // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, № 4. – P. 3463–3470.

110 Lin, Y. Autocrine VEGF signaling promotes cell proliferation through a PLC-dependent pathway and modulates Apatinib treatment efficacy in gastric cancer / Y. Lin, E. Zhai, B. Liao, L. Xu, X. Zhang, S. Peng [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 7. – P. 11990–12002.

111 Liu, H.Q. Expression of MMP-3 and TIMP-3 in gastric cancer tissue and its clinical significance / H.Q. Liu, S. Song, J.H. Wang, S.L. Zhang // *Oncol. Lett.* – 2011. – Vol. 2, № 6. – P. 1319–1322.

112 Liu, J. Role of serum matrix metalloproteinase in the diagnosis of gastric cancer / J. Liu, L. Zhou, S. Lin, B. Yao // *Pak. J. Med. Sci.* – 2020. – Vol. 36, № 5. – P. 1025–1031.

113 Liu, K. The siRNA cocktail targeting VEGF and HER2 inhibition on the proliferation and induced apoptosis of gastric cancer cell / K. Liu, H. Chen, Q. You, H. Shi, Z. Wang // *Mol. Cell Biochem.* – 2014. – Vol. 386, № 1-2. – P. 117–124.

114 Liu, L. Expression of connective tissue growth factor is in agreement with the expression of VEGF, VEGF-C, -D and associated with shorter survival in gastric cancer / L. Liu, Z. Li, G. Feng, W. You, J. Li // *Pathol. Int.* – 2007. – Vol. 57, № 11. – P. 712–718.

115 Liu, L. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in resected gastric cancer / L. Liu, X.L. Ma, Z.L. Xiao, M. Li, S.H. Cheng, Y.Q. Wei // *Asian Pacific J. Cancer Prev.* – 2012. – Vol. 13, № 7. – P. 3089–3097.

116 Liu, Y.F. Correlation of vascular endothelial growth factor expression with tumor recurrence and poor prognosis in patients with pN0 gastric cancer / Y.F. Liu, S. Guo, R. Zhao, Y.G. Chen, X.Q. Wang, K.S. Xu // *World J. Surg.* – 2012. – Vol. 36, № 1. – P. 109–117.

117 Łukaszewicz-Zajac, M. Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Inhibitors in Comparison to Other Inflammatory Proteins in Gastric Cancer (GC) / M. Łukaszewicz-Zajac, M. Szmitkowski, A. Litman-Zawadzka, B. Mroczko // *Cancer Invest.* – 2016. – Vol. 34, № 7. – P. 305–312.

118 Luo, Y. Decreased expression of the long non-coding RNA SLC7A11-AS1 predicts poor prognosis and promotes tumor growth in gastric cancer / Y. Luo, C. Wang, P. Yong, P. Ye, Z. Liu, Z. Fu [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 68. – P. 112530–112549.

119 Lutgendorf, S.K. Biobehavioral influences on matrix metalloproteinase expression in ovarian carcinoma / S.K. Lutgendorf, D.M. Lamkin, N.B. Jennings, J.M. Arevalo, F. Penedo, K. DeGeest [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 14, № 21. – P. 6839–6846.

120 Ma, Y. Co-expression of VEGF-B and FLT-1 correlates with malignancy and prognosis of gastric cancer / Y. Ma, W. Wang, L. Liu, Y. Liu, W. Bi // *Biomarkers Med.* – 2021. – Vol. 15, № 7. – P. 481–488.

121 Macedo, F. Gastric Cancer and Angiogenesis: Is VEGF a Useful Biomarker to Assess Progression and Remission? / F. Macedo, K. Ladeira, A. Longatto-Filho, S.F. Martins // *J. Gastric Cancer*. – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 1–10.

122 Maeda, K. Vascular endothelial growth factor expression in preoperative biopsy specimens correlates with disease recurrence in patients with early gastric carcinoma / K. Maeda, S.M. Kang, N. Onoda, M. Ogawa, Y. Kato, T. Sawada [et al.] // *Cancer*. – 1999. – Vol. 86, № 4. – P. 566–571.

123 Malesud, C.J. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview / C.J. Malesud // *Front Biosci*. – 2006. – Vol. 11. – P. 1696–1701.

124 Mashima, T. Neutralization of the induced VEGF-A potentiates the therapeutic effect of an anti-VEGFR2 antibody on gastric cancer in vivo / T. Mashima, T. Wakatsuki, N. Kawata, M.K. Jang, A. Nagamori, H. Yoshida [et al.] // *Sci. Reports*. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 15125.

125 Mawalla, B. Treatment outcome of anti-angiogenesis through VEGF-pathway in the management of gastric cancer: a systematic review of phase II and III clinical trials / B. Mawalla, X. Yuan, X. Luo, P.L. Chalya // *BMC Res. Notes*. – 2018. – Vol. 11, № 1. – P. 21.

126 Mimori, K. Coexpression of matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) and epidermal growth factor (EGF) receptor in colorectal cancer: an EGF receptor tyrosine kinase inhibitor is effective against MMP-7-expressing cancer cells / K. Mimori, K. Yamashita, M. Ohta, K. Yoshinaga, K. Ishikawa, H. Ishii [et al.] // *Clin. Cancer Res*. – 2004. – Vol. 10, № 24. – P. 8243–8249.

127 Mishra, R. Genomic alterations of ERBB receptors in cancer: clinical implications / R. Mishra, A.B. Hanker, J.T. Garrett // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 69. – P. 114371–114392.

128 Moch, H. Oncotargets in different renal cancer subtypes / H. Moch, R. Montironi, A. Lopez-Beltran, L. Cheng, A. Mischo // *Curr. Drug Targets*. – 2015. – Vol. 16, № 2. – P. 125–135.

129 Moehler, M. Sunitinib added to FOLFIRI versus FOLFIRI in patients with chemorefractory advanced adenocarcinoma of the stomach or lower esophagus: a ran-

domized, placebo-controlled phase II AIO trial with serum biomarker program / M. Moehler, I. Gepfner-Tuma, A. Maderer, P.C. Thuss-Patience, J. Ruessel, S. Hegewisch-Becker [et al.] // *BMC Cancer*. – 2016. – Vol. 16. – P. 699.

130 Mousa, H. MicroRNA-4316 inhibits gastric cancer proliferation and migration via directly targeting VEGF-A / H. Mousa, M. Yuan, X. Zhang, X. Li, A. Shopit, M. Almoiliqy [et al.] // *Cancer Cell Int*. – 2020 – Vol. 20. – P. 62.

131 Mrena, J. MMP-2 but not MMP-9 associated with COX-2 and survival in gastric cancer / J. Mrena, J.P. Wiksten, S. Nordling, A. Kokkola, A. Ristimäki, C. Haglund // *J. Clin. Pathol*. – 2006. – Vol. 59, № 6. – P. 618–623.

132 Mroczko, B. Pre-treatment serum and plasma levels of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1 (TIMP-1) in gastric cancer patients / B. Mroczko, M. Groblewska, M. Łukaszewicz-Zajac, R. Bandurski, B. Kedra, M. Szmitkowski // *Clin. Chem. Lab. Med*. – 2009. – Vol. 47, № 9. – P. 1133–1139.

133 Nobili, S. Genomic and genetic alterations influence the progression of gastric cancer / S. Nobili, L. Bruno, I. Landini, C. Napoli, P. Bechi, F. Tonelli [et al.] // *World J. Gastroenterol*. – 2011. – Vol. 17, № 3. – P. 290–299.

134 Oba, K. Prevention of liver metastasis of human colon cancer by selective matrix metalloproteinase inhibitor MMI-166 / K. Oba, H. Konno, T. Tanaka, M. Baba, K. Kamiya, M. Ohta [et al.] // *Cancer Lett*. – 2002. – Vol. 175, № 1. – P. 45–51.

135 Ock, C.Y. The distinct signatures of VEGF and soluble VEGFR2 increase prognostic implication in gastric cancer / C.Y. Ock, A.R. Nam, J.H. Bang, T.Y. Kim, K.H. Lee, S.W. Han [et al.] // *Am. J. Cancer Res*. – 2015. – Vol. 5, № 11. – P. 3376–3388.

136 Oh, S.Y. Clinicopathologic significance of HIF-1alpha, p53, and VEGF expression and preoperative serum VEGF level in gastric cancer / S.Y. Oh, H.C. Kwon, S.H. Kim, J.S. Jang, M.C. Kim, K.H. Kim [et al.] // *BMC Cancer*. – 2008. – Vol. 8. – P. 123.

137 Oh, S.Y. Prognostic significance of serum levels of vascular endothelial growth factor and insulin-like growth factor-1 in advanced gastric cancer patients treat-

ed with FOLFOX chemotherapy / S.Y. Oh, H.C. Kwon, S.H. Kim, S. Lee, J.H. Lee, C.A. Graves [et al.] // *Chemotherapy*. – 2012. – Vol. 58, № 6. – P. 426–434.

138 Ohta, M. The significance of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) protein in gastric cancer / M. Ohta, H. Konno, T. Tanaka, M. Baba, K. Kamiya, T. Syouji [et al.] // *Cancer Lett.* – 2003. – Vol. 192, № 2. – P. 215–225.

139 Ohtsu, A. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study / A. Ohtsu, M.A. Shah, E. Van Cutsem, S.Y. Rha, A. Sawaki, S.R. Park [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29, № 30. – P. 3968–3976.

140 Ohtsu, A. Chemotherapy for metastatic gastric cancer: past, present, and future / A. Ohtsu // *J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 43. – P. 256–264.

141 Ozdemir, F. The effects of VEGF and VEGFR-2 on survival in patients with gastric cancer / F. Ozdemir, R. Akdogan, F. Aydin, A. Reis, H. Kavgaci, S. Gul [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2006. – Vol. 25, № 1. – P. 83–88.

142 Pang, L. Correlations of TNM staging and lymph node metastasis of gastric cancer with MRI features and VEGF expression / L. Pang, J. Wang, Y. Fan, R. Xu, Y. Bai, L. Bai // *Cancer Biomarkers : section A of Disease Markers*. – 2018. – Vol. 23, № 1. – P. 53–59.

143 Park, J.H. Lentivirus-Mediated VEGF Knockdown Suppresses Gastric Cancer Cell Proliferation and Tumor Growth in vitro and in vivo / J.H. Park, J.H. Seo, H.Y. Jeon, S.M. Seo, H.K. Lee, J.I. Park [et al.] // *Onco Targets Ther.* – 2020. – Vol. 13. – P. 1331–1341.

144 Peduk, S. The role of serum CK-18, MMP-9 and TIMP-1 levels in predicting r0 resection in patients with gastric cancer / S. Peduk, M. Dincer, C. Tatar, B. Ozer, A. Kocakusak, G. Citlak [et al.] // *Arq. Bras. Cir. Dig.* – 2018. – Vol. 31, № 4. – e1401.

145 Peng, L. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor immunohistochemical expression in gastric cancer: a meta-analysis / L. Peng, P. Zhan, Y. Zhou, W. Fang, P. Zhao, Y. Zheng [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2012. – Vol. 39, № 10. – P. 9473–9484.

146 Puttabyatappa, M. Developmental Programming: Gestational Exposure to Excess Testosterone Alters Expression of Ovarian Matrix Metalloproteases and Their Target Proteins / M. Puttabyatappa, A. Irwin, J.D. Martin, M. Mesquitta, A. Veiga-Lopez, V. Padmanabhan // *Reprod. Sci.* – 2018. – Vol. 25, № 6. – P. 882–892.

147 Qi, W.X. The role of anti-VEGF agents in the treatment of advanced gastric cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials / W.X. Qi, Z. Shen, L.N. Tang, Y. Yao // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, № 8. – P. 7675–7683.

148 Ramnath, N. Matrix metalloproteinase inhibitors / N. Ramnath, P.J. Creaven // *Curr. Oncol. Rep.* – 2004. – Vol. 6, № 2. – P. 96–102.

149 Raufi, A.G. Immunotherapy for advanced gastric and esophageal cancer: preclinical rationale and ongoing clinical investigations / A.G. Raufi, S.J. Klempner // *J. Gastrointest. Oncol.* – 2015. – Vol. 6, № 5. – P. 561–569.

150 Ripley, D. Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitors of metalloproteinase-3 and -4 in normal ovary and ovarian carcinoma / D. Ripley, R. Tunuguntla, L. Susi, N. Chegini // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2006. – Vol. 16, № 5. – P. 1794–1800.

151 Rodriguez, G.C. Stack M.S. Regulation of invasion of epithelial ovarian cancer by transforming growth factor-beta / G.C. Rodriguez, C. Haisley, J. Hurteau, T.L. Moser, R. Whitaker, R.C. Jr. Bast [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2001. – Vol. 80, № 2. – P. 245–253.

152 Sampieri, C.L. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in human gastric cancer and superficial gastritis / C.L. Sampieri, S. de la Pena, M. Ochoa-Lara, R. Zenteno-Cuevas, K. León-Córdoba // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16, № 12. – P. 1500–1505.

153 Sampieri, C.L. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in gastric cancer as molecular markers / C.L. Sampieri, K. León-Córdoba, J.M. Remes-Troche // *J. Cancer Res. Ther.* – 2013. – Vol. 9, № 3. – P. 356–363.

154 Scartozzi, M. Molecular biology of sporadic gastric cancer: prognostic indicators and novel therapeutic approaches / M. Scartozzi, E. Galizia, F. Freddari, R. Berardi, R. Cellerino, S. Cascinu // *Cancer Treat. Rev.* – 2004. – Vol. 30. – P. 451–459.

155 Schimanski, C.C. VEGF-D correlates with metastatic disease in gastric cancer patients undergoing surgery / C.C. Schimanski, F. Schlaegel, M. Jordan, M. Moehler, G. Sgourakis, D.G. Drescher [et al.] // *World J. Surg.* – 2011. – Vol. 35, № 5. – P. 1010–1016.

156 Seo, H.Y. Prognostic significance of serum vascular endothelial growth factor per platelet count in unresectable advanced gastric cancer patients / H.Y. Seo, J.M. Park, K.H. Park, S.J. Kim, S.C. Oh, B.S. Kim [et al.] // *Jap. J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 40, № 12. – P. 1147–1153.

157 Shah, M.A. Multicenter phase II study of irinotecan, cisplatin, and bevacizumab in patients with metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma / M.A. Shah, R.K. Ramanathan, D.H. Ilson, A. Levnor, D. D'Adamo, E. O'Reilly [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2006. – Vol. 24, № 33. – P. 5201–5206.

158 Shekari, N. Synergistic Beneficial Effect of Docosahexaenoic Acid (DHA) and Docetaxel on the Expression Level of Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) and MicroRNA-106b in Gastric Cancer / N. Shekari, M. Javadian, M. Ghasemi, B. Baradaran, M. Darabi, T. Kazemi // *J. Gastrointest. Cancer.* – 2020. – Vol. 51, № 1. – P. 70–75.

159 Shen, L. Bevacizumab plus capecitabine and cisplatin in Chinese patients with inoperable locally advanced or metastatic gastric or gastroesophageal junction cancer: randomized, double-blind, phase III study (AVATAR study) / L. Shen, J. Li, J. Xu, H. Pan, G. Dai, S. Qin [et al.] // *Gastric Cancer.* – 2015. – Vol. 18, № 1. – P. 168–176.

160 Shida, A. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor D in gastric carcinoma / A. Shida, S. Fujioka, Y. Ishibashi, K. Kobayashi, H. Nimura, N. Mitsumori [et al.] // *World J. Surg.* – 2005. – Vol. 29, № 12. – P. 1600–1607.

161 Shitara, K. Subgroup analyses of the safety and efficacy of ramucirumab in Japanese and Western patients in RAINBOW: a randomized clinical trial in second-line treatment of gastric cancer / K. Shitara, K. Muro, Y. Shimada, S. Hironaka, N. Sugimoto, Y. Komatsu [et al.] // *Gastric Cancer.* – 2016. – Vol. 19, № 3. – P. 927–938.

162 Siegel, R.L. Cancer statistics / R.L. Siegel, K.D. Miller, A. Jemal // *CA Cancer J. Clin.* – 2015. – Vol. 65, № 2015. – P. 5–29.

163 Singh, R. Combined blockade of HER2 and VEGF exerts greater growth inhibition of HER2-overexpressing gastric cancer xenografts than individual blockade / R. Singh, W.J. Kim, P.H. Kim, H.J. Hong // *Exp. Mol. Med.* – 2013. – Vol. 45. – e52.

164 Sivendran, S. Treatment-related mortality with vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with advanced solid tumors: a meta-analysis / S. Sivendran, Z. Liu, L.J. Jr. Portas, M. Yu, N. Hahn, G. Sonpavde [et al.] // *Cancer Treat. Rev.* – 2012. – Vol. 38, № 7. – P. 919–925.

165 Song, Z.J. Relationship between the expression of iNOS, VEGF, tumor angiogenesis and gastric cancer / Z.J. Song, P. Gong, Y.E. Wu // *World J. Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 8. № 4. – P. 591–595.

166 Sun, M. Involvement of lncRNA dysregulation in gastric cancer / M. Sun, F.Q. Nie, Z.X. Wang, W. De // *Histol. Histopathol.* – 2016. – Vol. 31, № 1. – P. 33–39.

167 Sun, P. Lentivirus-mediated siRNA targeting VEGF inhibits gastric cancer growth in vivo / P. Sun, H. Yu, W.Q. Zhang, M. Hu, R. Lv // *Oncol Rep.* – 2012. – Vol. 28, № 5. – P. 1687–1692.

168 Sun, W. Phase II study of sorafenib in combination with docetaxel and cisplatin in the treatment of metastatic or advanced gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma: ECOG 5203 / W. Sun, M. Powell, P.J. O'Dwyer, P. Catalano, R.H. Ansari, A.B. Benson // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28, № 18. – P. 2947–2951.

169 Sung, J.Y. Vascular endothelial growth factor receptor-3 is a favorable prognostic factor in advanced gastric carcinoma / J.Y. Sung, S. Lee, Y.W. Kim, Y.K. Park // *Oncol. Rep.* – 2008. – Vol. 19, № 4. – P. 939–944.

170 Takahashi, S. Vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptors and their inhibitors for antiangiogenic tumor therapy / S. Takahashi // *Biol. Pharm. Bull.* – 2011. – Vol. 34, № 12. – P. 1785–1788.

171 Tan, B. Expression of Vav3 protein and its prognostic value in patients with gastric cancer / B. Tan, Y. Li, X. Shi, L. Fan, Q. Zhao, Y. Liu [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* – 2017. – Vol. 213, № 5. – P. 435–440.

172 Tanigawa, N. Correlation between expression of vascular endothelial growth factor and tumor vascularity, and patient outcome in human gastric carcinoma /

N. Tanigawa, H. Amaya, M. Matsumura, T. Shimomatsuya // *J. Clin. Oncol.* – 1997. – Vol. 15, № 2. – P. 826–832.

173 Tischer, E. Vascular endothelial growth factor: a new member of the platelet-derived growth factor gene family / E. Tischer, D. Gospodarowicz, R. Mitchell, M. Silva, J. Schilling, K. Lau [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1989. – Vol. 165, № 3. – P. 1198–1206.

174 Tsirlis, T.D. Predictive significance of preoperative serum VEGF-C and VEGF-D, independently and combined with Ca19-9, for the presence of malignancy and lymph node metastasis in patients with gastric cancer / T.D. Tsirlis, A. Kostakis, G. Papastratis, K. Masselou, I. Vlachos, A. Papachristodoulou [et al.] // *J. Surg. Oncol.* – 2010. – Vol. 102, № 6. – P. 699–703.

175 Tsutsumi, S. Vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) expression in pT2 gastric cancer / S. Tsutsumi, H. Kuwano, T. Shimura, N. Morinaga, E. Mochiki, T. Asao // *Hepatogastroenterology.* – 2005. – Vol. 52, № 62. – P. 629–632.

176 Turpeenniemi-Hujanen, T. Gelatinases (MMP-2 and -9) and their natural inhibitors as prognostic indicators in solid cancers / T. Turpeenniemi-Hujanen // *Biochimie.* – 2005. – Vol. 87, № 3-4. – P. 287–297.

177 Van Cutsem, E. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a biomarker evaluation from the AVAGAST randomized phase III trial / E. Van Cutsem, S. de Haas, Y.K. Kang, A. Ohtsu, N.C. Tebbutt, J. Ming Xu [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – Vol. 30, № 17. – P. 2119–2127.

178 Velho, S. Causes and consequences of microsatellite instability in gastric carcinogenesis / S. Velho, M.S. Fernandes, M. Leite, C. Figueiredo, R. Seruca // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, № 44. – P. 16433–16442.

179 Vidal, O. High preoperative serum vascular endothelial growth factor levels predict poor clinical outcome after curative resection of gastric cancer / O. Vidal, J.P. Metges, I. Elizalde, M. Valentini, A. Volant, R. Molina [et al.] // *Brit. J. Surg.* – 2009. – Vol. 96, № 12. – P. 1443–1451.

180 Vidal, O. Positive VEGF immunostaining independently predicts poor prognosis in curatively resected gastric cancer patients: results of a study assessing a

panel of angiogenic markers / O. Vidal, A. Soriano-Izquierdo, M. Pera, J.I. Elizalde, A. Palacin, A. Castells [et al.] // *J. Gastrointest. Surg.* – 2008. – Vol. 12, № 6. – P. 1005–1014.

181 Villarejo-Campos, P. Serum VEGF and VEGF-C values before surgery and after postoperative treatment in gastric cancer / P. Villarejo-Campos, D. Padilla-Valverde, R.M. Martin, P. Menendez-Sanchez, T. Cubo-Cintas, J.A. Bondia-Navarro [et al.] // *Clin. Transl. Oncol.* – 2013. – Vol. 15, № 4. – P. 265–270.

182 Virgilio, E. Gastric Juice MicroRNAs as Potential Biomarkers for Screening Gastric Cancer: A Systematic Review / E. Virgilio, E. Giarnieri, M.R. Giovagnoli, M. Montagnini, A. Proietti, R. D'Urso [et al.] // *Anticancer Res.* – 2018. – Vol. 38, № 2. – P. 613–616.

183 Visse, R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry / R. Visse, H. Nagase // *Circ. Res.* – 2003. – Vol. 92, № 8. – P. 827–839.

184 Vos, M.C. Immunohistochemical expression of MMP-14 and MMP-2, and MMP-2 activity during human ovarian follicular development / M.C. Vos, A.A. van der Wurff, J.T. Last, E.A. de Boed, J.M. Smeenk, T.H. van Kuppevelt [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 12. – P. 12.

185 Wang, X. Overexpression of both VEGF-A and VEGF-C in gastric cancer correlates with prognosis, and silencing of both is effective to inhibit cancer growth / X. Wang, X. Chen, J. Fang, C. Yang // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2013. – Vol. 6, № 4. – P. 586–597.

186 Wang, X. VEGF and cortactin expression are independent predictors of tumor recurrence following curative resection of gastric cancer / X. Wang, W. Cao, M. Mo, W. Wang, H. Wu, J. Wang // *J. Surg. Oncol.* – 2010. – Vol. 102, № 4. – P. 325–330.

187 Westermarck, J. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion / J. Westermarck, V.M. Kahari // *Faseb J.* – 1999. – Vol. 13, № 8. – P. 781–792.

188 Wilke, H. Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial / Y. Wilke, K. Muro, E. Van Cutsem, S.C. Oh, G. Bodoky, Y. Shimada [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2014. – Vol. 15, № 11. – P. 1224–1235.

189 Wu, C.Y. Plasma matrix metalloproteinase-9 level is better than serum matrix metalloproteinase-9 level to predict gastric cancer evolution / C.Y. Wu, M.S. Wu, E.P. Chiang, Y.J. Chen, C.J. Chen, N.H. Chi [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2007. – Vol. 13, № 7. – P. 2054–2060.

190 Wu, F. Signaling pathways in cancer-associated fibroblasts and targeted therapy / F. Wu, J. Yang, J. Liu, Y. Wang, J. Mu, Q. Zeng [et al.] // *Signal Transduct. Target Ther.* – 2021. – Vol. 6, № 1. – P. 218.

191 Wu, J. Predictive value of preoperative serum CCL2, CCL18, and VEGF for the patients with gastric cancer / J. Wu, X. Liu, Y. Wang // *BMC Clin. Pathol.* – 2013. – Vol. 13. – P. 15.

192 Wu, J.Y. Balance between polyoma enhancing activator 3 and activator protein 1 regulates Helicobacter pylori-stimulated matrix metalloproteinase 1 expression / J.Y. Wu, H. Lu, Y. Sun, D.Y. Graham, H.S. Cheung, Y. Yamaoka // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66, № 10. – P. 5111–5120.

193 Wu, Z.Y. Lymph node micrometastasis and its correlation with MMP-2 expression in gastric carcinoma / Z.Y. Wu, J.H. Li, W.H. Zhan, Y.L. He // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 12, № 18. – P. 2941–2944.

194 Xu, G. Exosomal miRNA-139 in cancer-associated fibroblasts inhibits gastric cancer progression by repressing MMP11 expression / G. Xu, B. Zhang, J. Ye, S. Cao, J. Shi, Y. Zhao [et al.] // *Int. J. Biol. Sci.* – 2019. – Vol. 15, № 11. – P. 2320–2329.

195 Yamaguchi, K. Efficacy and safety of capecitabine plus cisplatin in Japanese patients with advanced or metastatic gastric cancer: subset analyses of the AVAST study and the ToGA study / K. Yamaguchi, A. Sawaki, T. Doi, T. Satoh, Y. Yamada, Y. Omuro [et al.] // *Gastric Cancer.* – 2013. – Vol. 16, № 2. – P. 175–182.

196 Yamamoto, Y. Concentrations of vascular endothelial growth factor in the sera of normal controls and cancer patients / Y. Yamamoto, M. Toi, S. Kondo, T. Matsumoto, H. Suzuki, M. Kitamura [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 1996. – Vol. 2, № 5. – P. 821-826.

197 Yang, S. Expression and biological relationship of vascular endothelial growth factor-A and matrix metalloproteinase-9 in gastric carcinoma / Yang S., Zhao Z., Wu R., Lu H., Zhang X., Huan C. [et al.] // *J. Int. Med. Res.* – 2011. – Vol. 39, № 6. – P. 2076–2085.

198 Yasui, W. Molecular pathology of gastric cancer: research and practice / W. Yasui, K. Sentani, N. Sakamoto, K. Anami, Y. Naito, N. Oue // *Pathol. Res. Pract.* – 2011. – Vol. 207, № 10. – P. 608–612.

199 Ye, Y. Inhibition of epidermal growth factor receptor signaling prohibits metastasis of gastric cancer via downregulation of MMP7 and MMP13 / Y. Ye, X. Zhou, X. Li, Y. Tang, Y. Sun, J. Fang // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, № 11. – P. 10891–10896.

200 Yin, L. The value of expression of M2-PK and VEGF in patients with advanced gastric cancer / L. Yin, X. Wang, C. Luo, H. Liu, L. Zhang, H. Zhang [et al.] // *Cell Biochem. Biophys.* – 2013. – Vol. 67, № 3. – P. 1033–1039.

201 Yonemura, Y. Role of VEGF-C and VEGF-D in lymphangiogenesis in gastric cancer / Y. Yonemura, Y. Endo, K. Tabata, T. Kawamura, H.Y. Yun, E. Bandou [et al.] // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 10, № 5. – P. 318–327.

202 Yoshikawa, T. Plasma concentrations of VEGF and bFGF in patients with gastric carcinoma / T. Yoshikawa, A. Tsuburaya, O. Kobayashi, M. Sairenji, H. Motohashi, S. Yanoma [et al.] // *Cancer Lett.* – 2000. – Vol. 153, № 1-2. – P. 7–12.

203 Yoshikawa, T. Protein levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in tumor extracts as a marker for prognosis and recurrence in patients with gastric cancer / T. Yoshikawa, A. Tsuburaya, O. Kobayashi, M. Sairenji, Y. Miyagi // *Gastric cancer.* – 2006. – Vol. 9, № 2. – P. 106–113.

204 Zhang J., Li S., Zhao Y., Ma P., Cao Y., Liu C. et al. Cancer-associated fibroblasts promote the migration and invasion of gastric cancer cells via activating IL-17a/JAK2/STAT3 signaling // *Ann. Transl. Med.* – 2020. – Vol. 8, № 14. – P. 877.

205 Zhang, D.Y. Correlations of MMP-2 and TIMP-2 gene polymorphisms with the risk and prognosis of gastric cancer / D.Y. Zhang, J. Wang, G.Q. Zhang, X.Q. Chu, J.L. Zhang [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, № 11. – P. 20391–20401.

206 Zhang, Q.W. Matrix metalloproteinase-9 as a prognostic factor in gastric cancer: a meta-analysis / Q.W. Zhang, L. Liu, R. Chen, Y.Q. Wei, P. Li, H.S. Shi [et al.] // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2012. – Vol. 13, № 6. – P. 2903–2908.

207 Zhang, S. Imbalance between expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in invasiveness and metastasis of human gastric carcinoma / S. Zhang, L. Li, J.Y. Lin, H. Lin // *World J. Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 9, № 5. – P. 899–904.

208 Zhang, S. Epigenetic reprogramming reverses the malignant epigenotype of the MMP/TIMP axis genes in tumor cells / S. Zhang, B. Zhong, M. Chen, L. Yang, G. Yang, Y. Li, H. Wang [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2014. – Vol. 134, № 7. – P. 1583–1594.

209 Zhang, X. Correction: miR-874 functions as a tumor suppressor by inhibiting angiogenesis through STAT3/VEGF-A pathway in gastric cancer / X. Zhang, J. Tang, X. Zhi, K. Xie, W. Wang, Z. Li [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 17. – P. 29535.

210 Zhang, Y. Coexpression of Matrix Metalloproteinase-7 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 as a Prognostic Biomarker in Gastric Cancer / Y. Zhang, L. Qin, X. Ma, Y. Wang, Y. Wu, J. Jiang // *Dis. Markers.* – 2020. – Vol. 2020. – 8831466.

211 Zhang, Y. Expression and clinical significance of aquaporin-1, vascular endothelial growth factor and microvessel density in gastric cancer / Y. Zhang, H. Qu // *Medicine.* – 2020. – Vol. 99, № 36. – e21883.

212 Zhou, Y. Clinicopathological significance of E-cadherin, VEGF, and MMPs in gastric cancer / Y. Zhou, G. Li, J. Wu, Z. Zhang, Z. Wu, P. Fan [et al.] // *Tumour Biol.* – 2010. – Vol. 31, № 6. – P. 549–558.