

Клиническое значение экспрессии VEGF у больных серозным раком яичника в зависимости от гормонального рецепторного статуса опухоли

Ю.Г. Ткаля¹, Л.И. Воробьева¹, В.С. Свинцицкий¹, С.В. Неспрядько¹, А.В. Турчак¹, И.В. Гончарук¹, Н.Ю. Лукьянова², В.Ф. Чехун²

¹Национальный институт рака, г. Киев

²Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

Целью исследования является изучение экспрессии VEGF в опухолевых клетках серозного рака яичника (РЯ), сопоставление результатов с гормональным рецепторным статусом (ГРС) опухоли и оценка их прогностического значения. Проведен ретроспективный анализ историй болезни 104 больных серозным РЯ III стадии; иммуногистохимическое исследование парафиновых блоков их операционного материала. Изучен VEGF и ГРС серозного РЯ, их прогностическое значение. Проведен анализ корреляционной связи между экспрессией VEGF в опухоли и клинико-морфологическими показателями. Оценена общая и безрецидивная выживаемость больных РЯ в зависимости от VEGF и ГРС опухоли. Позитивная экспрессия VEGF наблюдалась у 44,2% больных серозным РЯ, из них 32,7% – имели гиперэкспрессию этого маркера. Однофакторный и многофакторный анализ показал достоверно низкую общую ($p=0,0273$) и безрецидивную ($p=0,0253$) выживаемость больных с VEGF-позитивным статусом РЯ. Кокс-регрессионным анализом определено неблагоприятное прогностическое влияние рецептора эстрогенов (РЭ) и прогестерона (РП) в VEGF-позитивной опухоли на общую ($p=0,003$ и $p=0,002$) и безрецидивную ($p=0,006$ и $p=0,002$) выживаемость больных РЯ. Установлено отсутствие корреляционной связи между экспрессией VEGF и клинико-морфологическими показателями. VEGF-позитивный серозный РЯ, как и выраженная экспрессия РЭ и РП в нем, являются предиктивным фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса. Гиперэкспрессия VEGF, РЭ и РП в серозном РЯ можно рассматривать как критерий для решения вопроса применения таргетной и гормональной терапии в комплексном лечении больных.

Ключевые слова: серозный рак яичника, VEGF-статус, гормональный рецепторный статус, рецепторы эстрогенов, прогестерона.

Неудачи ранней диагностики и высокая смертность больных раком яичника (РЯ) во многом обусловлена агрессивным клиническим течением и отсутствием обоснованной концепции этиологии и патогенеза данного заболевания. Прежде всего, это связано с низкой эффективностью воздействия на метастатические очаги, которые и являются основной причиной смерти. Понимание механизмов этиологии, патогенеза и метастазирования может быть «ключом» к улучшению общих результатов лечения больных [1, 2]. В мультифакторном патогенезе большую роль в настоящее время отводят гормональным факторам, которые представляют собой только часть сложного механизма молекулярно-генетических взаимодействий опухоли и организма [3]. Особенности клинического течения РЯ, в частности, определяются не только гетерогенностью молекулярно-биологических маркеров опухолевых клеток, но и их сложными взаимоотношениями с факторами микроок-

ружения, что в совокупности формирует опухолевый фенотип, характеризующийся выраженной вариабельностью [4–6]. Одним из видов микроокружения опухолевых клеток является ангиогенез, наиболее изученным ангиогенным фактором – фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A или VEGF – vascular endothelial growth factor). Он регулирует как физиологический ангиогенез во время заживления ран, овуляции, формирования плаценты, так и патологический. N. Ferrara и соавторы [7] отметили, что при мутации рецептора VEGF нарушается развитие желтых тел и снижается уровень прогестерона. Высокий уровень VEGF обнаружен в гранулезной ткани и тека-ткани яичников. Повышенная экспрессия VEGF и его тирозинкиназных рецепторов (VEGFR-1 и VEGFR-2) регистрируется почти во всех опухолях яичника. Нарушение сигнальных путей регуляции ангиогенеза запускает каскадный механизм инвазии и метастазирования опухолевых клеток [8, 9]. Под действием стероидных гормонов в клетках-мишенях изменяется скорость синтеза отдельных белков, что ведет к модуляции клеточных сигнальных путей, изменению метаболических процессов в клетке и их пролиферации [3]. С гиперэкспрессией VEGF связывают агрессивное течение и неблагоприятный прогноз многих злокачественных заболеваний. Высокий уровень экспрессии VEGF у больных раком грудной железы коррелирует с негативным гормональным рецепторным статусом (ГРС), гиперэкспрессией mtp53, низкой степенью дифференциации опухоли и отсутствием ответа на антиэстрогеновую терапию [10].

В некоторых работах, посвященных РЯ, установлено, что гиперэкспрессия VEGF в РЯ также свидетельствует о неблагоприятном прогнозе течения заболевания [11, 12]. Однако существуют и противоположные сведения [13]. Кроме того, результатами многих исследований установлено, что положительный ГРС у больных серозным РЯ, в частности выраженная экспрессия рецептора эстрогенов, является фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса [14–16]. Поскольку до настоящего времени не получено полного представления о роли экспрессии VEGF и его связи с ГРС в опухолевых клетках больных РЯ, уточнение таких связей будет иметь значение как для оценки прогноза болезни, так и для планирования тактики индивидуального лечения.

Цель исследования: изучить экспрессию VEGF в опухолевых клетках серозного РЯ, сопоставить результаты с рецепторным гормональным статусом опухоли и оценить их прогностическое значение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

Материалом исследования служили результаты ретроспективного анализа историй болезни 104 больных серозным РЯ III стадии и парафиновые блоки операционного материала. Больные находились на стационарном лечении в

Национальном институте рака за период 2001–2009 гг. Всем больным проведено комбинированное лечение (согласно стандартам диагностики и лечения онкологических больных, утвержденным приказами МЗ Украины № 140 от 27.07.1998 г. и № 554 от 17.09.2007 г.), которое заключалось в проведении циторедуктивной операции с последующей химиотерапией в адьювантном режиме. Поскольку в исследовании принимали участие пациенты в течение большого интервала времени, то в адьювантном режиме были использованы различные схемы химиотерапии, поэтому мы не изучали влияние последней на выживаемость больных при экспрессии VEGF в опухоли яичника. У всех больных получено согласие на использование операционного материала с диагностической целью.

Диагноз РЯ был верифицирован с помощью морфологического исследования операционного материала больных согласно гистологической классификации опухолей яичника ВОЗ (2002), клиническое стадирование РЯ – по международной классификации FIGO (2009).

Результаты исследований оценивали в зависимости от возрастных периодов женщин: репродуктивный (до 45 лет), перименопауза (46–55 лет), ранняя постменопауза (56–60 лет) и поздняя постменопауза (61 год и больше) согласно классификации ВОЗ (1980). Определяли общую и безрецидивную выживаемость больных серозным РЯ в зависимости от ГРС и VEGF-статуса опухоли.

Иммуногистохимический анализ

Иммуногистохимическое исследование рецепторов эстрогенов (РЭ), прогестерона (РП), тестостерона (РТ) и VEGF в опухолевых клетках яичника проводили на парафиновых срезах толщиной 4–5 микрон, которые помещали на стекла, обработанные поли-L-лизонином. В качестве первичных антител использовали моноклональные антитела, специфичные к РЭ (anti-Human Estrogen Receptor alfa Clone 1D5, DakoCytomation, Denmark), РП (anti-Human Progesterone Receptor Clone PgR 636, DakoCytomation, Denmark), РТ (testosterone antibody Clone GTX72779, GeneTex, USA) и VEGF (anti-VEGF RB-9031-P1, Thermo Scientific, USA). Для визуализации результатов реакции использовали набор реактивов En Vision system (DakoLSAB2system, Denmark) в соответствии с рекомендациями производителя, срезы окрашивали гематоксилином Майера. Для оценки иммуногистохимической экспрессии РЭ, РП, РТ и VEGF применяли полуколичественный метод. При наличии специфического ядерного окрашивания для стероидных рецепторов, мембранно-цитоплазматического окрашивания для VEGF определяли количество иммунопозитивных и иммунонегативных клеток в процентах. В каждом гистологическом препарате анализировали экспрессию стероидных рецепторов и VEGF в 1000 опухолевых клеток. Для суммарной оценки ГРС серозного РЯ использовали метод, применяемый нами ранее [15]. Степень экспрессии VEGF оценивали в баллах: 0 баллов – отсутствует окрашивание цитоплазмы и мембраны опухолевых клеток; 1 балл – слабое

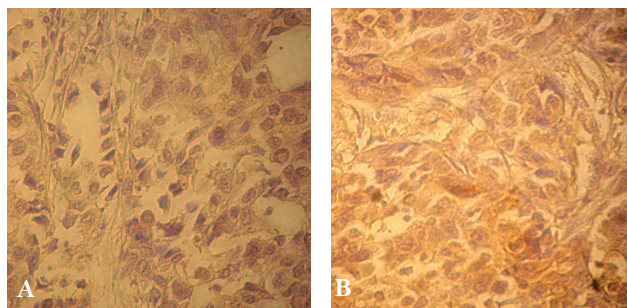


Рис. 1. Серозный РЯ. Иммуногистохимическая экспрессия VEGF в опухолевых клетках, $\times 400$
A – экспрессия VEGF отсутствует;
B – позитивная экспрессия VEGF

окрашивание – 1–25% опухолевых клеток (VEGF+); 2 балла – умеренная степень равномерного окрашивания – 26–50% опухолевых клеток (VEGF++); 3 балла – высокая степень окрашивания или гиперэкспрессия – более 50% опухолевых клеток (VEGF+++) [17]. Положительной экспрессией VEGF (VEGF+) считали более 25% опухолевых клеток с умеренной и высокой степенью иммуногистохимической экспрессии. В качестве положительного контроля применяли моноклональные антитела против пан-цитокератинов, в качестве отрицательного контроля – забуференный физиологический раствор, который вместо моноклональных антител наносили на гистологические срезы.

Статистический анализ

Оценивали корреляционную связь количества VEGF-иммунопозитивных клеток с количеством РЭ-, РП-, РТ-иммунопозитивных клеток, гормонально-рецепторным фенотипом, степенью дифференциации опухоли, возрастным периодом больных. Статистический анализ полученных данных заключался в использовании непараметрических и параметрических статистик, включая метод t-критерия Стьюдента. Корреляционную зависимость оценивали с помощью ранговых корреляций Гамма, достоверность парных сравнений анализировали с помощью U-критерия Манна–Уитни, межгрупповых различий – с помощью критерия χ^2 и Краскела–Уоллиса. Выживаемость больных оценивали по Каплану–Мейеру, для парных сравнений использовали критерий *log-rank*, для множественных межгрупповых различий – критерий χ^2 . Анализ прогностического фактора проводили с использованием Кокс-регрессионной модели. Статистически достоверными считали данные при $p < 0,05$. Обработку результатов исследования проводили с использованием пакета программы STATISTICA 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам иммуногистохимической экспрессии серозный РЯ разделили на VEGF-негативный (58/55,8%) (рис. 1А) и VEGF-позитивный (46/44,2%) (рис. 1В), как

Таблица 1

Характеристика больных серозным РЯ по VEGF-статусу и возрасту (n=104)

VEGF-статус опухоли	Количество больных		Средний возраст/колебания, годы
	n	%	
VEGF -	58	55,8	49,7±2,5/19-72
VEGF +	46	44,2	52,1±3,1/23-71
VEGF ++	12	11,5	49,8±4,9/23-71
VEGF +++	34	32,7	54,4±1,7/34-70
Всего	104	100,0	51,7±0,8/19-72

Таблица 2

Распределение больных серозным РЯ по VEGF-статусу в зависимости от возрастного периода (n=104)

Возрастной период	Общее количество больных		VEGF -		VEGF +	
	п	%	п	%	п	%
Репродуктивный	32	30,8/100,0	19	59,4	13	40,6
Перименопауза	27	26,0/100,0	18	66,7	9	33,3
Постменопауза	45	43,3/100,0	21	46,7	24	53,3
Ранняя постменопауза	18	17,3/100,0	8	44,4	10	55,6
Поздняя постменопауза	27	26,0/100,0	13	48,1	14	51,9

Таблица 3

Распределение больных серозным РЯ по VEGF-статусу и степени дифференциации опухоли (n=104)

VEGF-статус опухоли	Количество больных		Степень дифференциации опухоли					
			высокая		умеренная		низкая	
	п	%	п	%	п	%	п	%
VEGF -	58	55,8/100,0	13	22,4	17	29,3	28	48,3
VEGF +	46	44,2/100,0	8	17,4	13	28,3	25	54,4
VEGF ++	12	11,5	2	4,3	5	10,9	5	10,9
VEGF +++	34	32,7	6	13,0	8	17,4	20	43,5
Всего	104	100,0	21	20,2	30	28,8	53	51,0

Таблица 4

Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от VEGF-статуса

VEGF-статус опухоли	Общая выживаемость, %		Безрецидивная выживаемость, %	
	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя
VEGF -	64,6±9,3	42,7±11,9	58,8±9,7	42,2±11,7
VEGF ++	45,0±8,0	29,4±10,0	40,2±8,3	25,0±9,8
VEGF +++	31,3±8,0	10,9±6,0	19,1±6,9	4,8±3,8

видно преобладали опухоли с VEGF негативным статусом (табл. 1). В VEGF-позитивной опухоли выделили разную степень экспрессии фактора: умеренная степень экспрессии (VEGF ++) отмечена у 11,5%, гиперэкспрессия (VEGF +++) – у 32,7% больных. Возраст больных серозным РЯ колебался от 19 до 72 лет, составляя в среднем 51,7±0,8 года (см. табл. 1). Средний возраст больных с VEGF-негативной опухолью составил 49,7±2,5, с VEGF-позитивной – 52,1±3,1, с гиперэкспрессией – 54,4±1,7. Достоверности различий по возрасту не установлено (p=0,462).

Анализируя VEGF-статус РЯ в зависимости от возрастных периодов больных, мы отметили, что VEGF-негативные опухоли чаще наблюдались в репродуктивном и перименопаузальном возрасте (59,4% и 66,7% соответственно), тогда как VEGF-позитивные – в постменопаузальный период (53,3%), особенно в поздней постменопаузе (51,9%) (табл. 2). Как установлено ранее, пациентки с серозным РЯ именно в постменопаузальный период имеют более агрессивное течение и неблагоприятный прогноз заболевания [15, 18, 19]. Однако статистический анализ показал отсутствие достоверных различий между экспрессией VEGF и возрастным периодом больных (p=0,462), а также ранговой корреляционной связи между ними (r=-0,061, p=0,538) (табл. 3).

Одним из информативных показателей, имеющих значение для клинического течения опухолевого процесса, имеет степень дифференциации опухоли. Как свидетельствуют данные табл. 3, у больных РЯ с VEGF-позитивным и негативным статусом преобладала низкая степень дифференциации, частота которой была больше у больных с VEGF-позитивной опухолью (54,4%), по сравнению с таковой у больных с VEGF-негативной (48,3%). При этом частота высокой степени дифференциации серозного РЯ пре-

обладала у больных с VEGF-негативной опухолью по сравнению с таковой у больных с VEGF-позитивной (22,4% против 17,4%). Однако (см. табл. 3) различия между экспрессией VEGF и степенью дифференциации опухоли недостоверны (p=0,646), при этом установлено отсутствие ранговой корреляционной связи между этими показателями (r=-0,109, p=0,284).

В связи с полученными данными приобретают значение результаты однофакторного анализа общей и безрецидивной выживаемости больных РЯ в зависимости от экспрессии VEGF (табл. 4, рис. 2). Как свидетельствуют данные табл. 4, 3- и 5-летняя выживаемость больных с VEGF-позитивным статусом достоверно ниже, чем у больных с VEGF-негативной опухолью (p=0,0273). Достоверно худшие показатели выживаемости отмечены у больных РЯ с гиперэкспрессией VEGF по сравнению с таковыми у больных с VEGF+++-опухолью (p=0,0118). Подобная тенденция наблюдалась и при сравнении 3- и 5-летней безрецидивной выживаемости больных с негативным и позитивным VEGF-статусом опухоли (p=0,0253), при этом достоверно худшие показатели выживаемости отмечены также у больных с VEGF+++-опухолью по сравнению с таковыми у больных, имеющих VEGF++-статус РЯ (p=0,01793). Важным заключением этого фрагмента исследования явились результаты статистического анализа – обнаружена ранговая корреляционная связь между экспрессией VEGF в опухоли яичника и риском возникновения рецидива заболевания (r=-0,523, p=0,000001). Оценивая прогностическое значение VEGF-статуса у больных серозным РЯ Кокс-регрессионным анализом, также установлено, что общая (HR 1,49; 95% CI 1,14–2,17) и безрецидивная (HR 1,61; 95% CI 1,14–2,27) выживаемость достоверно ниже у больных РЯ с гиперэкспрессией VEGF.

Кокс-регрессионный анализ общей и безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии VEGF и ГРС

Показатель	HR	CI 95,0%		p-уровень
		нижний	верхний	
<i>Общая выживаемость</i>				
VEGF++ vs. VEGF-	1,25	0,86	1,61	0,207
VEGF+++ vs. VEGF-	1,61	1,14	2,27	0,038
VEGF+++ vs. VEGF++	1,30	1,05	2,04	0,024
РЭ+ VEGF+ vs. РЭ- VEGF+	2,05	1,44	3,22	0,003
РП+ VEGF+ vs. РП- VEGF+	2,06	1,35	2,98	0,002
РТ+ VEGF+ vs. РТ- VEGF+	1,43	0,87	1,74	0,079
РЭ+ VEGF- vs. РЭ- VEGF-	1,34	0,85	1,99	0,186
РП+ VEGF- vs. РП- VEGF-	1,25	0,54	1,75	0,325
РТ+ VEGF- vs. РТ- VEGF-	1,52	0,97	1,97	0,039
<i>Безрецидивная выживаемость</i>				
VEGF++ vs. VEGF-	1,33	0,87	2,33	0,125
VEGF+++ vs. VEGF-	1,49	1,14	2,17	0,015
VEGF+++ vs. VEGF++	1,11	2,78	1,82	0,009
РЭ+ VEGF+ vs. РЭ- VEGF+	1,71	1,22	2,06	0,006
РП+ VEGF+ vs. РП- VEGF+	1,68	1,18	2,00	0,002
РТ+ VEGF+ vs. РТ- VEGF+	1,44	0,87	1,84	0,074
РЭ+ VEGF- vs. РЭ- VEGF-	1,52	0,96	1,94	0,055
РП+ VEGF- vs. РП- VEGF-	1,39	0,55	1,86	0,098
РТ+ VEGF- vs. РТ- VEGF-	1,54	1,01	1,96	0,041

Примечания: HR – отношение рисков; CI – доверительный интервал.

прессией VEGF (табл. 5).

Учитывая полученные данные статистического анализа, VEGF-позитивные опухоли можно рассматривать как прогностический фактор неблагоприятного течения опухолевого процесса независимо от степени дифференциации РЯ и возраста больных.

В дальнейшем провели сопоставление результатов экспрессии VEGF с экспрессией рецепторов стероидных гормонов (РСГ) в опухолевых клетках серозного РЯ. Как свидетельствуют данные табл. 6, среди обследованных опухолей выделены рецепторотрицательные и рецепторположительные для всех стероидных гормонов с количественным преобладанием последних независимо от VEGF-статуса опухоли. При этом, различия между частотой экспрессии стероидных рецепторов и степенью экспрессии VEGF статистически недостоверны (для РЭ – $p=0,262$, РП – $p=0,665$, РТ – $p=0,409$). Установлено отсутствие ранговой корреляционной связи между экспрессией РСГ и VEGF в опухолевой ткани яичника (для РЭ – $r=-0,192$, $p=0,093$, РП – $r=-0,029$, $p=0,804$, РТ – $r=0,054$, $p=0,681$).

Поскольку клиническое течение РЯ определяют молекулярно-биологические свойства опухоли, в частности вариабельность маркерного фенотипа опухолевых клеток, это послужило основанием для оценки экспрессии VEGF в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа серозного РЯ. Этот анализ проведен для пациентов, имеющих фенотипы РЯ РЭ+РП+РТ+, РЭ+РП+РТ-, РЭ-РП-РТ-, РЭ-РП-РТ+, поскольку с данными фенотипами опухоли наблюдали наибольшее количество больных (табл. 7). Как свидетельствуют данные табл. 7, преобладали больные РЯ с положительным ГРС для всех стероидных гормонов (42/40,4%), что согласуется с данными литературы [15, 19]. Среди больных с положительным ГРС только 45,2% имели

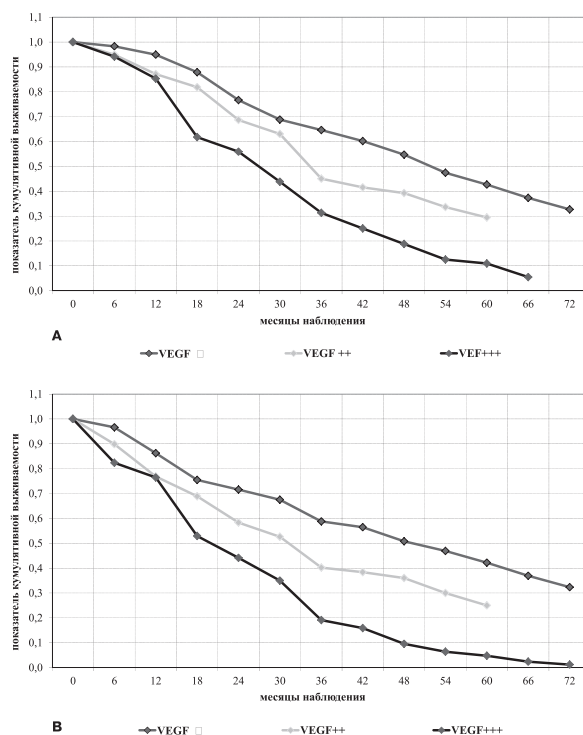


Рис. 2. Выживаемость больных серозным РЯ с различной степенью экспрессии VEGF. Кривые выживаемости по Каплану–Мейеру
 А – общая, χ^2 критерий, $p=0,0273$;
 В – безрецидивная, χ^2 критерий, $p=0,0253$

Таблица 6

Распределение больных серозным РЯ в зависимости от VEGF-статуса и экспрессии РСГ (n=104)

VEGF-статус опухоли	Общее количество больных		Экспрессия РСГ											
			РЭ				РП				РТ			
	РЭ+		РЭ-		РП+		РП-		РТ+		РТ-			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
VEGF-	58	55,8/100,0	41	70,7	17	29,3	40	69,0	18	31,0	35	60,3	23	39,7
VEGF+	46	44,2/100,0	25	54,3	21	45,7	29	63,0	17	37,0	26	56,5	20	43,5

Таблица 7

Распределение больных серозным РЯ по VEGF и ГРС (n=87)

Фенотип опухоли по ГРС	Общее количество больных		Распределение больных РЯ по VEGF-статусу			
			VEGF-		VEGF+	
	n	%	n	%	n	%
РЭ+РП+РТ+	42	40,4/100,0	23	54,8	19	45,2
РЭ+РП+РТ-	17	16,3/100,0	13	76,5	4	23,5
РЭ-РП-РТ+	12	11,5/100,0	8	66,7	4	33,3
РЭ-РП-РТ-	16	15,4/100,0	5	31,3	11	68,7
Всего	87/83,7		49/47,1		38/36,6	

VEGF-позитивную опухоль. Как установлено ранее, положительный ГРС серозного РЯ является предиктивным фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса [14]. Однако статистический анализ показал отсутствие достоверных различий VEGF-статуса в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа опухоли (p=0,472), а также достоверной ранговой корреляционной связи между ними (r=-0,013, p=0,919).

В дальнейшем мы провели многофакторный анализ 3- и 5-летней общей выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии VEGF и каждого РСГ (рис. 3–5). Показатели 3- и 5-летней выживаемости больных представлены в табл. 9. Из данных табл. 9 следует, что 3- и 5-летняя выживаемость были достоверно выше у больных с VEGF-негативной опухолью независимо от экспрессии всех РСГ (результаты достоверности представлены на рис. 3–5). Статистический анализ установил, что различия показателей общей выживаемости больных РЯ по VEGF-статусу в зависимости от

экспрессии стероидных рецепторов не имеют достоверности (для РЭ – p=0,914 (VEGF-) и p=0,514 (VEGF+), РП – p=0,966 и p=0,536, РТ – p=0,211 и p=0,536). Однако многофакторный Кокс-регрессионный анализ показал достоверно значимое негативное влияние экспрессии РЭ и РП в VEGF-позитивной опухоли на общую и безрецидивную выживаемость больных серозным РЯ. При этом опухолевая экспрессия РТ имела неблагоприятное прогностическое влияние на выживаемость больных с VEGF-негативной опухолью, не показав прогностическую достоверную значимость на выживаемость больных с VEGF-позитивным статусом РЯ.

Многофакторный анализ 3-летней общей выживаемости больных в зависимости от VEGF статуса и гормонально-рецепторного фенотипа опухоли проведен для пациенток, имеющих фенотипы серозного РЯ – РЭ+РП+РТ+, РЭ+РП+РТ-, РЭ-РП-РТ-, РЭ-РП-РТ+ (рис. 6). Как видно на рис. 6, отмечены достоверно низкие показатели выживаемости больных с VEGF-позитивной опухолью и различным гормональ-

Таблица 8

Ранговые корреляции Гамма, значимые на уровне p<0,05, между экспрессией VEGF, РСГ, фенотипом опухоли, ее степенью дифференциации, возрастным периодом, наличием рецидива заболевания у больных серозным РЯ (n=104)

Показатель	Коэффициент корреляции	p-уровень
VEGF & РЭ	-0,192	0,093
VEGF & РП	-0,029	0,804
VEGF & РТ	0,054	0,681
VEGF & фенотип опухоли по ГРС	0,013	0,919
VEGF & степень дифференциации опухоли	-0,109	0,284
VEGF & возрастной период	-0,061	0,538
HER-2/neu & рецидив заболевания	-0,524*	0,000001

Примечание: * – коэффициент корреляции, значимый на уровне p<0,05.

Таблица 9

Показатели выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от VEGF-статуса и экспрессии РСГ

VEGF-статус опухоли	Общая выживаемость (%) и экспрессия РСГ											
	РЭ -		РЭ +		РП -		РП +		РТ -		РТ +	
	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя
VEGF-	56,9	34,8	62,4	39,2	55,6	32,1	61,9	37,4	61,5	39,0	58,4	28,4
VEGF+	49,5	14,0	23,0	7,5	44,2	15,8	31,0	8,3	50,0	15,9	24,3	6,1

но-рецепторным фенотипом ($p=0,0273$). Самая низкая выживаемость наблюдалась у больных с положительным ГРС и фенотипом **РЭ–РП–РТ+** VEGF-негативной опухоли, и с положительным ГРС среди больных с VEGF-положительной опухолью. Как установлено нами ранее, положительный ГРС, как и выраженная экспрессия РТ у больных серозным РЯ, являются предиктивным фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса [15]. Самая высокая 3-летняя выживаемость среди больных с VEGF-положительной опухолью отмечена у больных с отрицательным ГРС. Однако статистический анализ показал отсутствие достоверных межгрупповых различий показателей выживаемости больных в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа при VEGF-положительной или негативной опухоли ($p>0,005$).

Представленные результаты свидетельствуют, что позитивная экспрессия VEGF наблюдалась только у 44,2% больных серозным РЯ, из них 32,7% – имели гиперэкспрессию этого маркера. По данным литературы, гиперэкспрессия VEGF в РЯ наблюдается в 7–85% [20–24]. Такой диапазон результатов многие ученые связывают с применением различных методов VEGF-тестирования РЯ [22, 25]. Многие исследователи установили более высокий уровень экспрессии VEGF в РЯ по сравнению с таковым в пограничных и доброкачественных опухолях яичника [24–27]. S.P. Langdon и J.F. Smyth [28] в своих работах предлагают исследовать экспрессию VEGF серологическим методом для скрининга РЯ, определения диагноза, прогноза и мониторинга наблюдения.

Результатами исследования установлена ранговая корреляционная связь между экспрессией VEGF в серозном РЯ и риском возникновения рецидива заболевания. При этом мы показали отсутствие связи со степенью дифференциации опухоли, возрастным периодом больных, экспрессией всех РСГ и гормонально-рецепторным фенотипом опухоли. Однофакторным и многофакторным анализом установили достоверно низкую общую и безрецидивную выживаемость больных с VEGF-положительной опухолью независимо от ГРС, показав прогностическое значение степени экспрессии VEGF как неблагоприятного фактора течения опухолевого процесса. Однако многофакторный Кокс-регрессионный анализ показал достоверно значимое негативное влияние экспрессии РЭ и РП в VEGF-положительной опухоли на общую и безрецидивную выживаемость больных серозным РЯ. При этом опухолевая экспрессия РТ прогностически неблагоприятно влияла на выживаемость больных с VEGF-негативной опухолью, не показав прогностическую достоверную значимость на выживаемость больных с VEGF-положительным статусом РЯ. Как установлено нами ранее, экспрессия РТ является предиктивным фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса. Такие разноречивые результаты многофакторных анализов выживаемости и Кокс-регрессионной модели, возможно, связаны с небольшой выборкой больных РЯ, особенно при распределении их по гормонально-рецепторному фенотипу.

Данными некоторых исследований также отмечено отсутствие корреляции экспрессии VEGF со стадией заболевания, возрастом больных, степенью дифференциации, гистотипом и размером опухоли [20, 27–29]. Однако результаты исследования P. Paley и соавторов [30] показали прямую корреляционную связь гиперэкспрессии VEGF со стадией заболевания, S.M. Moghaddam и соавторы [12], по данным своих исследований, установили, что VEGF способствует развитию перитонеального карциноматоза, ведущего к образованию асцита, предположив также, что гиперэкспрессия этого фактора играет определенную роль в эпителиально-мезенхимальном переходе опухолевых клеток. J. Fujimoto и соавторы [31] установили прогностическое значение степени экспрессии VEGF в клетках РЯ.

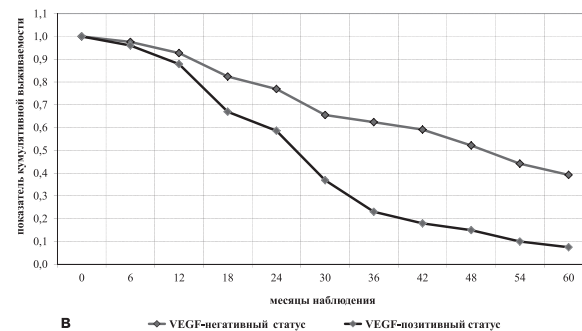
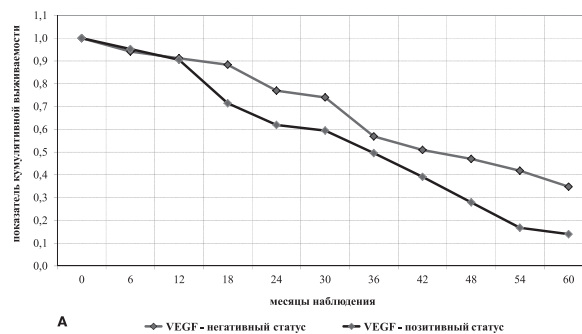


Рис. 3. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным VEGF-статусом при отсутствии и положительной экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану–Мейеру

A – при отсутствии экспрессии РЭ, критерий log-rank, $p=0,00875$;
B – при положительной экспрессии РЭ, критерий log-rank, $p=0,00071$

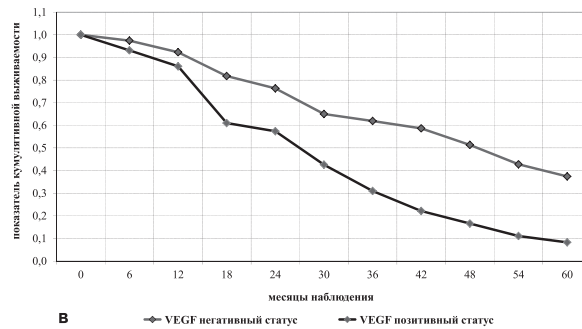
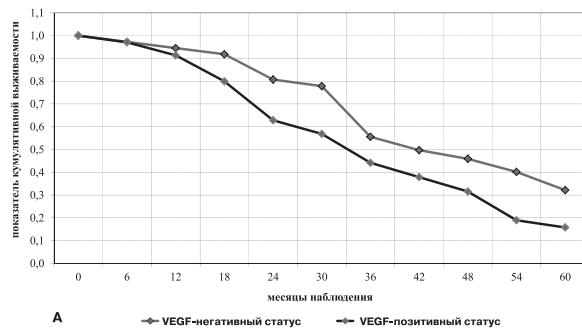


Рис. 4. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным VEGF-статусом при отсутствии и положительной экспрессии РП. Кривые выживаемости по Каплану–Мейеру

A – при отсутствии РП, критерий log-rank, $p=0,00234$;
B – при положительной экспрессии РП, критерий log-rank, $p=0,01869$

М. Stimpfl и соавторы [13] исследовали экспрессию всех изоформ VEGF в опухолях грудной железы и яичника (*in vivo* и *in vitro*) и не выявили корреляции гиперэкспрессии этого маркера со степенью инвазии и прогрессирующим опухолевым процессом. Результаты некоторых исследований также не выявили прогностического значения экспрессии VEGF [32]. Однако многие ученые в своих работах установили *in vivo* и *in vitro*, что гиперэкспрессия VEGF коррелирует с агрессивным течением и неблагоприятным прогнозом РЯ [11, 12, 23, 33].

Результаты исследований Del M.G. Carmen и соавторы [24] показали обратную корреляционную связь между экспрессией VEGF и РЭ, РП в эндометриальном РЯ. Однако J. Wang и соавторы [27] в своих исследованиях наблюдали индукцию экспрессии VEGF в пограничных опухолях и серозном РЯ (*in vivo* и *in vitro*) под воздействием фолликуло-стимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего гормонов (ЛГ), при этом более значимый уровень экспрессии VEGF отмечен в клетках серозного РЯ; ученые предположили, что высокие менопаузальные уровни ФСГ и ЛГ у больных РЯ после операции могут ускорить прогрессирующее и рецидив заболевания. G.N. Armaiz-Pena и соавторы [34] продемонстрировали, что 17-β эстрадиол повышает экспрессию VEGF в РЯ, адгезию, миграционный и митогенный потенциал РЭ-положительных опухолевых и эндотелиальных клеток через митоген-активируемую протеинкиназу, а прогестерон, напротив, оказывал антипролиферативное действие *in vivo* и вызывал апоптоз опухолевых клеток *in vitro*. D.W. Losordo и соавторы [35] и многие другие исследователи установили, что эстрадиол индуцирует через РЭ-сигнальные пути экспрессию VEGF и его рецепторов в клетках органов репродуктивной системы при физиологическом и опухолевом ангиогенезе [36–38]. Q. Meng и соавторы [26] отметили высокий уровень экспрессии VEGF, РЭ, рецептора андрогенов (РА) и низкий уровень РП в опухолевых клетках эндометриального РЯ по сравнению с клетками эндометриом и здоровых яичников, в которых, напротив, выявили низкий уровень экспрессии VEGF, РЭ, РА и высокий уровень РП, обосновав протекторное действие последнего. Однако в исследовании, проведенном нами ранее, мы установили, что положительный ГРС серозного РЯ для всех стероидных гормонов явился фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса [15]. Н. Higakawa и соавторы [36], а также многие другие ученые наблюдали (*in vivo* и *in vitro*) снижение экспрессии VEGF и РЭ при лечении ингибиторами ароматазы и антиэстрогенами РЭ-положительный РЯ, отметив уменьшение пролиферации и апоптоз опухолевых клеток [35, 39, 40].

Таким образом, учитывая результаты нашего и предыдущих исследований, следует отметить непосредственную связь гормональных факторов с экспрессией VEGF и его рецепторов, модулирующих процессы пролиферации и апоптоза в опухолевых клетках РЯ. Это свидетельствует о возможности применения в комплексном лечении больных РЯ не только ингибиторов ангиогенеза, но и гормональных препаратов, влияющих как на процессы пролиферации, так и на неоангиогенез.

Выводы

Позитивная экспрессия VEGF наблюдалась у 44,2% больных серозным РЯ, из них 32,7% – имели гиперэкспрессию этого маркера.

Установлено отсутствие корреляционной связи между экспрессией VEGF и степенью дифференциации опухоли, возрастным периодом больных, экспрессией всех РСГ и гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ.

У больных с VEGF-положительной опухолью достоверно низкая общая и безрецидивная выживаемость. Степень экс-

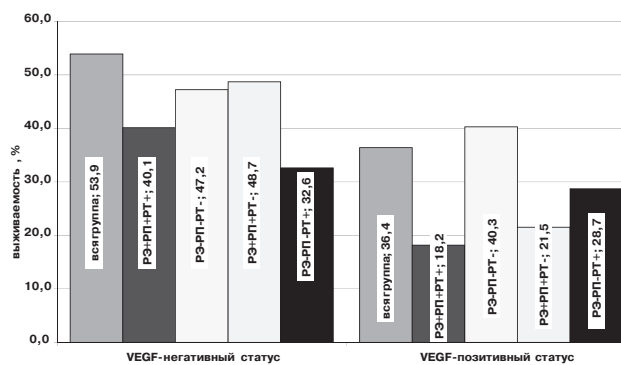
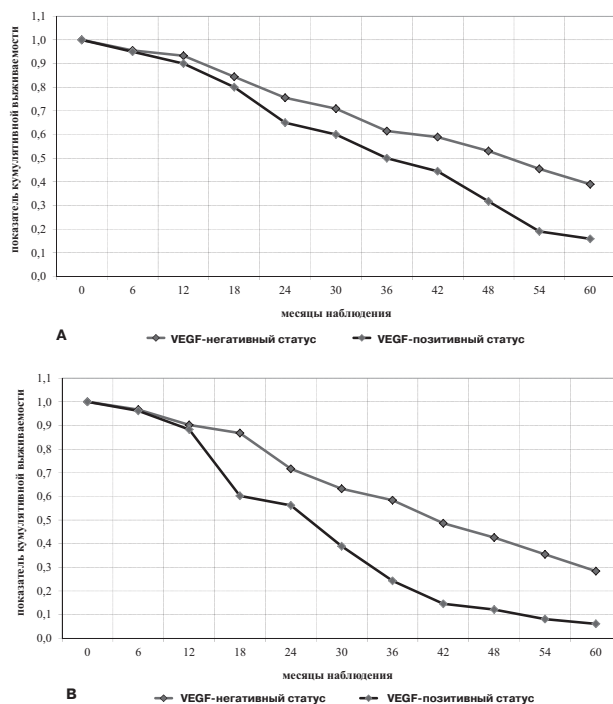


Рис. 6. 3-летняя общая выживаемость больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии VEGF от и ГРС

прессии VEGF в серозном РЯ коррелирует с выживаемостью больных. Установлена корреляционная связь между экспрессией VEGF в опухоли яичника и риском развития рецидива заболевания.

Выраженная экспрессия РЭ, РП в VEGF-положительной опухоли имеет неблагоприятное прогностическое значение у больных РЯ. VEGF-положительный серозный РЯ, как и выраженная экспрессия РЭ и РП в нем, является предиктивным фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса.

Гиперэкспрессию VEGF, РЭ и РП в серозном РЯ можно рассматривать не только как прогностический фактор, но и как критерий для решения вопроса применения таргетной и гормональной терапии в комплексном лечении больных, что требует проведения дальнейших исследований в этом направлении.

Клінічне значення експресії VEGF у хворих на серозний рак яєчника залежно від гормонального рецепторного статусу пухлини

Ю.Г. Ткаля, Л.І. Воробйова, В.С. Свінцицький, С.В. Неспрядько, А.В. Турчак, І.В. Гончарук, Н.Ю. Лукьянова, В.Ф. Чехун

Метою дослідження є вивчення експресії VEGF в пухлинних клітинах серозного раку яєчника (РЯ), зіставлення результатів з гормональним рецепторним статусом (ГРС) пухлини та оцінювання їхнього прогностичного значення. Проведено ретроспективний аналіз історії хвороби 104 хворих на серозний РЯ III стадії; імуногістохімічне дослідження парафінових блоків, їхнього операційного матеріалу. Вивчено VEGF і ГРС серозного РЯ, їхнє прогностичне значення. Проведено аналіз кореляційного зв'язку між експресією VEGF в пухлині та клініко-морфологічними показниками. Оцінена загальна і безрецидивна виживаність хворих на РЯ залежно від VEGF і ГРС пухлини. Позитивна експресія VEGF спостерігалася у 44,2% хворих на серозний РЯ, з них 32,7% – мали гіперекспресію цього маркера. Однофакторний і багатфакторний аналіз показали достовірно низьку загальну ($p=0,0273$) і безрецидивну ($p=0,0253$) виживаність хворих з VEGF-позитивним статусом РЯ. Кокс-регресійним аналізом визначено несприятливий прогностичний вплив рецептора естрогенів (PE) і прогестерону (ПП) у VEGF-позитивній пухлині на загальне ($p=0,003$ і $p=0,002$) і безрецидивне ($p=0,006$ і $p=0,002$) виживання хворих на РЯ. Встановлено відсутність кореляційного зв'язку між експресією VEGF та клініко-морфологічними показниками. VEGF-позитивний серозний РЯ, як і виражена експресія PE і ПП в ньому, є предиктивним фактором несприятливого перебігу пухлинного процесу. Гіперекспресію VEGF, PE і ПП у серозному РЯ можна розглядати як критерій для вирішення питання застосування таргетної і гормональної терапії в комплексному лікуванні хворих.

Ключові слова: серозний рак яєчника, VEGF-статус, гормональний рецепторний статус, рецептори естрогенів, прогестерону, тестостерону.

Clinical significance of VEGF expression in the patients with serous ovarian cancer depending on the tumor hormonal receptor status

I.G. Tkalya, L.I. Vorobyova, V.S. Svintsitsky, S.V. Nespryadko, A.V. Turchak, I.V. Goncharuk, N.Y. Lukyanova, V.F. Chekhun

To study the expression of VEGF in tumor cells of serous ovarian cancer (OC), to compare the results with a hormonal receptor status (HRS) of the tumor and to evaluate their prognostic significance. Retrospective analysis of the case histories of 104 patients with serous OC of the III stage and immunohistochemical study of paraffin-embedded tissues was carried out. The VEGF and the HRS of serous OC, their prognostic significance were studied. The analysis of correlation between the expression of VEGF in ovarian tumors and the clinico-morphological parameters was performed. Overall and relapse-free survival rates of the patients with OC depending on the VEGF and HRS of the tumor were assessed. The positive expression of VEGF was observed in 61.6% of the patients with serous OC, 46.2% among them demonstrated a hyperexpression of the VEGF. The single and multiple factor analysis shown significantly low overall ($p=0.0273$) and relapse-free ($p=0.0253$) survival rates among the patients with VEGF-positive status of OC. Cox regression analysis defined an adverse prognostic influence of estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) in VEGF-positive tumors on the overall ($p=0.003$ and $p=0.002$) and relapse-free ($p=0.006$ and $p=0.002$) survival rates of patients with OC. Lack of correlation was identified between the expression of VEGF and the clinico-morphological parameters. VEGF-positive status of OC, as well as strong expression of ER and PR in it, are a predictive factor for an unfavorable course of tumor process. Hyperexpression of VEGF, ER and PR in serous OC can be regarded as a criterion for deciding the application of targeted and hormonal therapy in complex treatment of patients.

Key words: serous ovarian cancer, VEGF status, hormonal receptor status, receptors for estrogens, progesterone, testosterone.

Сведения об авторах

Ткаля Юлия Георгиевна – Национальный институт рака, 03022, г. Киев, ул. Ломоносова, 33/43. E-mail: j.tkalya@gmail.com

Воробьева Людмила Ивановна – Национальный институт рака, 03022, г. Киев, ул. Ломоносова, 33/43

Свинцицкий Валентин Станиславович – Национальный институт рака, 03022, г. Киев, ул. Ломоносова, 33/43

Неспрядько Сергей Валериевич – Национальный институт рака, 03022, г. Киев, ул. Ломоносова, 33/43

Турчак Александр Владимирович – Национальный институт рака, 03022, г. Киев, ул. Ломоносова, 33/43

Гончарук Ирина Викторовна – Национальный институт рака, 03022, г. Киев, ул. Ломоносова, 33/43

Лукьянова Наталья Юрьевна – Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. П.Е. Кавецкого НАН Украины, 03022, г. Киев, ул. Васильковская, 45

Чехун Василий Федорович – Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. П.Е. Кавецкого НАН Украины, 03022, г. Киев, ул. Васильковская, 45

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Спринджук М.В., Кончиц А.П. Иммуногистохимические маркеры лимфангиогенеза и развитие лимфатических капилляров в тканях эпителиального рака яичников: вопросы канцерогенеза и компьютер-ассистированная морфологическая характеристика. *oncology.ru/specialist/journal_oncology/archive/0310/004/*
2. Максимов С.Я., Гусейнов К.Л. Таргетная терапия при раке яичников // *Практическая онкология*, 2010; 11 (4): 267–73.
3. Воробьева Л.И., Свинцицкий В.С., Ткаля Ю.Г. Гормональный канцерогенез и обоснование применения гормональной терапии в лечении больных раком яичника // *Клин. онкол.*, 2013; 1 (9): 56–64.
4. Осинский С.П. Микроокружение опухолевых клеток и опухолевая прогрессия. *Мед. газета «Здоров'я України»*, 2012; 5–6(24–25): 34–36.
5. Осинский С.П. Микроокружение опухолевых клеток и опухолевая прогрессия. Факторы стромального микроокружения. *Мед. газета «Здоров'я України»*, 2013; 3 (28): 36–39.
6. Чехун В.Ф., Шербан С.Д., Савцова З.Л. Гетерогенность опухоли – динамическое состояние // *Онкология*, 2012; 1 (14): 4–12.
7. Ferrara N, Chen H, Carver-Moore K. et al. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med* 1998; 4(3): 336–40.
8. Ferrara N. The role of VEGF in the regulation of physiological and pathological angiogenesis. *EXS* 2005; 94: 209–31.
9. Фильченков А.А. Терапевтический потенциал ингибиторов ангиогенеза // *Онкология*, 2007; 9 (4): 321–8.
10. Шпонька И.С., Бондарева В.А., Гриценко П.А. Роль тканевых маркеров в оценке биологических свойств и прогнозе рака молочной железы // *Международный медицинский журнал*, 2005; 2: 97–104.
11. Хохлова С.В. Роль ингибиторов сосудистого эндотелиального фактора роста в лечении рака яичников // *Опухоли женской репродуктивной системы*, 2010; 3: 35–44.
12. Moghaddam SM, Amini A, Morris DL, et al. Significance of vascular endothelial growth factor in growth and peritoneal dissemination of ovarian cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 2012; 31:143–162.
13. Stimpfl M, Tong D, Fasching B, et al. Prognostic Value in Breast and Ovarian Cancer Vascular Endothelial Growth Factor Splice Variants and Their. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2253–9.
14. Ayadia L, Chaabounia S, Khbiria A, et al. Correlation between immunohistochemical biomarkers expression and prognosis of ovarian carcinomas in tunisian patients. *World J Oncol* 2010; 1(3): 118–28.
15. Tkalya IG, Vorobyova LI, Svintsitsky VS, et al. Clinical significance of hormonal receptor status of malignant ovarian tumors. *Experimental Oncol* 2014; 36(2): 125–133.
16. Alonso L, Gallego E, Jesus Gonzalez F, et al. Gonadotropin and steroid receptors as prognostic factors in advanced ovarian cancer: aretrospective study. *Clin Transl Oncol* 2009; 11: 748–52.
17. Смолякова П.М., Крутилина Н.И., Мойсей А.В. и соавт. Иммуногистохимические методы определения химическостойкости опухоли при распространенном раке яичников Инструкция по применению, Минск, 2009; 7–9.

18. Воробьева Л.И., Ткаля Ю.Г. Киническое значение сопутствующих гиперпластических процессов эндометрия у больных со злокачественными опухолями яичников // Онкология, 2013; 4 (58): 286–93.
19. Ho S-M. Estrogen, Progesterone and Epithelial Ovarian Cancer. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 73.
20. Карапетян В.Л., Степанова Е.В., Барышников С.О. и соавт. Экспрессия белка сосудистого эндотелиального фактора роста а ткани опухолей у больных раком яичника I–II стадии // Опухоли женской репродуктивной системы, 2010; 3: 73–6.
21. Yamamoto S, Konishi Y, Kuroda H, et al. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial ovarian neoplasms correlation with clinicopathology and patient survival, and analysis of serum VEGF levels. *Br J Cancer* 1997; 76: 1221–7.
22. Duncan TJ, Al-Attar A, Rolland P, et al. Vascular endothelial growth factor expression in ovarian cancer: A model for targeted use of novel therapies? *Clin Cancer Res* 2008; 14(10):3030–5.
23. Chambers SK, Clouser MC, Baker AF, et al. Overexpression of tumor vascular endothelial growth factor may portend an increased likelihood of progression in a phase II trial of bevacizumab and erlotinib in resistant ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 5320–8.
24. Del Carmen MG, Smith Sehdev AE, Fader AN, et al. Endometriosis-associated ovarian carcinoma differential expression of vascular endothelial growth factor and estrogen/progesterone receptors. *American Cancer Society* 2003: 1658–63.
25. AbouSeeda MR, Mansour GM, Ez-Earab SS, et al. Preoperative serum vascular endothelial growth factor correlated to three dimensional power Doppler indices in ovarian masses. *OJOG* 2014; 4: 112–9.
26. Meng Q, Sun W, Jiang J, et al. Identification of common mechanisms between endometriosis and ovarian cancer. *J Assist Reprod Genet* 2011; 28: 917–23.
27. Wang J, Luo F, Lu JJ, et al. VEGF Expression and enhanced production by gonadotropins ovarian epithelial tumors. *Int J Cancer* 2002; 97: 163–7.
28. Langdon SP, Smyth JF. Growth factors and ovarian cancer. *Endocrin Rel Cancer* 1998; 5: 283–91.
29. Stimpfl M, Tong D, Fasching B, et al. Vascular endothelial growth factor splice variants and their prognostic value in breast and ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2253–9.
30. Paley P, Staskus K, Gebhard K, et al. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma. *Cancer* 1997; 80(1): 98–106.
31. Fujimoto J, Sakaguchi H, Aoki I, et al. Clinical implications of expression of vascular endothelial growth factor in metastatic lesion of ovarian cancer. *Br J Cancer* 2001; 85(3): 313–6.
32. Le Page C, Huntsman DG, Provencher DM, et al. Predictive and Prognostic Protein Biomarkers in Epithelial Ovarian Cancer: Recommendation for Future Studies. *Cancer* 2010; 2: 913–54.
33. Janat-Ansbury MM, Yockman JW, Anderson ML, et al. Comparison of ID8 MOSE and VEGF-modified ID8 Cell Lines in an Immunocompetent Animal Model for Human Ovarian Cancer. *Anticancer Res* 2006; 26: 2785–90.
34. Armaiz-Pena GN, Mangala LS, Spannuth WA, et al. Estrous cycle modulates ovarian carcinoma growth. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2971–8.
35. Losordo DW, Isner JM. Estrogen and Angiogenesis: A Review. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 6–12.
36. Hirakawa H, Yokoyama Y, Yoshida H, et al. Inhibitory effects of aromatase inhibitor on estrogen receptor-alpha positive ovarian cancer mice. *J Ovarian Res* 2014; 7: 4.
37. Dabrosin C, Margetts PJ, Gaudie J. Estradiol increases extracellular levels of vascular endothelial growth factor in vivo in murine mammary cancer. *Int J Cancer* 2003; 107(4): 535–540.
38. Hyder SM, Nawaz Z, Chiappetta C, et al. Identification of functional estrogen response elements in the gene coding for the potent angiogenic factor vascular endothelial growth factor. *Cancer Res* 2000; 60 (12): 3183–90.
39. Rayoo M, Yan M, Takano EA, et al. Expression of the forkhead box transcription factor FOXP1 is associated with estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta and improved survival in familial breast cancers. *J Clin Pathol* 2009; 62(10): 896–902.
40. Iyer V, Klebba I, McCready J, et al. Estrogen promotes ER-negative tumor growth and angiogenesis through mobilization of bone marrow-derived monocytes. *Cancer Res* 2012, 72(11): 2705–13.

Статья поступила в редакцию 26.06.2014

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ ЖУРНАЛА «ЗДОРОВЬЕ ЖЕНЩИНЫ»

- Статья подается на украинском или русском и английском языках в 2-х экземплярах, подписанных всеми авторами.
- Каждый автор должен указать свои данные (фамилию, имя, отчество, научное звание (должность), научную степень, отрасль специализации, место работы, служебный адрес, почтовый индекс, служебный и домашний телефоны, факс).
- УДК и фамилию автора необходимо указать на первой странице, далее должны следовать название статьи и название организации, на базе которой были проведены исследования, наблюдения и т.д.
- Текст статьи и материалы к ней должны быть отредактированы и проверены автором. Содержание статьи должно иметь практическую направленность. К статье должны быть приложены все используемые в работе таблицы, иллюстрации, список литературы и акт экспертизы.
- Ф.И.О. автора, название статьи, резюме и ключевые слова подаются на русском, украинском и английском языках.
- Требования к иллюстративному материалу:
 - Иллюстрация может быть подана в виде: фотографии, слайда, рентгенограммы, электронного файла.
 - Иллюстрация должна быть подготовлена на высоком качественном уровне.
 - Поданные иллюстрации должны соответствовать основному смыслу статьи.
 - Иллюстрация должна быть максимально разгружена от надписей, которые следует перенести в подпись к ней.
- Подписи к иллюстрациям подаются на листе бумаги в конце статьи.
- Каждая иллюстрация должна иметь общее название.
- На обратной стороне иллюстрации необходимо указать порядковый номер, «верх» либо «низ».
- Иллюстрации следует передавать в отдельном конверте с указанием названия статьи и Ф.И.О. автора.
- В статье следует указать место, где, по мнению автора, желательно было бы поместить иллюстрацию.
- Иллюстрация, поданная в электронном виде, должна быть в формате EPS, TIF или JPEG и иметь разрешение не менее 300 dpi (масштаб 1:1).
- Таблицы должны быть компактными. Название столбцов и строк должны соответствовать их содержанию, текст подается без сокращений.
- Список цитированной литературы подается в соответствии с общепринятыми правилами оформления.
- В статье не допускается сокращения слов, кроме общепринятых в научной литературе. Все измерения подаются в системе единиц СИ.
- Статья должна содержать практические выводы и рекомендации для клиницистов.
- Редакция оставляет за собой право редактировать статьи.
- При несоблюдении указанных требований оформления статьи, редакция возвращает ее авторам без рассмотрения.
- Статья должна быть записана в формате WORD-97, 98, 2000–2003; размер шрифта — 12 пунктов.
- Материалы статей, принятых к печати (рукописи, иллюстрации, дискеты), не возвращаются.

Статьи просим присылать на адрес:

Адрес: 03039, Киев, а/я 36, Редакция журнала «Здоровье женщины»;
e-mail: office@zdr.kiev.ua. Тел./факс: (044) 220-15-66, 220-15-67.