

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Петросян А.П., Сулейманов Э.А., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ VEGF И МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115522, Москва, Россия

Представлен анализ отдаленных результатов лечения 77 первичных больных раком желудка I-IV стадии, прослеженных на протяжении от 1 до 41 месяца (медиана – 6,4 мес) от начала специфического лечения, с учетом исходных уровней VEGF, растворимых форм его рецепторов (sVEGFR1, sVEGFR2) и матриксных металлопротеиназ (ММП-2, 7, 9) в сыворотке крови. В качестве критерия прогноза использовали показатель общей выживаемости, оцененный методом Каплана-Майера, а также многофакторный анализ на основе регрессионной модели Кокса. Установлено, что при высоких уровнях VEGF (≥ 420 пг/мл) в сыворотке крови общая выживаемость больных раком желудка статистически значимо ниже, чем при более низких уровнях маркера ($p=0,011$): 3-летняя выживаемость при высоких и низких показателях VEGF составила соответственно $46,3\pm 12,5\%$ и $88,2\pm 7,8\%$. Медиана выживаемости больных с высоким уровнем маркера составила 21,7 месяца, с низким – не достигнута за весь период наблюдения. Уровни sVEGFR1, sVEGFR2, ММП-2, 7 и 9 в сыворотке крови не были значимо связаны с общей выживаемостью пациентов, включенных в данное исследование. По данным многофакторного анализа, значимым независимым фактором прогноза длительности жизни больных раком желудка является только индекс M и уровень VEGF в сыворотке крови ($p=0,036$). Таким образом, показано, что сигнальный путь VEGF играет важную роль при раке желудка, а его компоненты, в первую очередь, VEGF A, являются значимыми факторами прогноза заболевания, а также могут быть полезны для мониторинга эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: рак желудка; VEGF; sVEGFR1; sVEGFR2; матриксные металлопротеиназы; сыворотка крови; прогноз.

Для цитирования: Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Петросян А.П., Сулейманов Э.А., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е. Прогностическое значение компонентов сигнальной системы VEGF и матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови больных раком желудка. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (11): 650-654.
DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-11-650-654>

Для корреспонденции: Герштейн Елена Сергеевна, д-р биол. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. клин. биохимии; e-mail: esgershtein@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 04.09.21

Принята к печати 04.10.21

Опубликовано 29.11.2021

Gershtein E.S., Korotkova E.A., Petrosyan A.P., Suleymanov E.A., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E.

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF VEGF SIGNALING SYSTEM COMPONENTS AND MATRIX METALLOPROTEINASES IN BLOOD SERUM OF GASTRIC CANCER PATIENTS

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of the Russian Federation, 115522, Moscow, Russia

Analysis of long-term treatment results of 77 primary gastric cancer patients at stage I-IV of the tumor process followed during 1 – 41 months (median – 6.4 months) from the onset of specific treatment are presented depending on the basal levels of VEGF, soluble forms of its receptors (sVEGFR1, sVEGFR2) and matrix metalloproteinases (MMP-2, 7, 9) in blood serum. Overall survival assessed by Kaplan-Meier analysis and with the help of Cox multiparametric regression model was applied as the criterion of prognostic value. It was found that at high (≥ 420 pg/ml) serum VEGF, the overall survival of patients with gastric cancer was statistically significantly lower than at the marker's levels below 420 pg/ml ($p<0.011$): 3-year's survival comprised $46,3\pm 12,5\%$ and $88,2\pm 7,8\%$ respectively. Median survival of patients with high VEGF level comprised 21.7 months, of those with low VEGF was not achieved during the whole follow-up period. Serum sVEGFR1, sVEGFR2, MMP-2, 7 and 9 levels were not significantly associated with the overall survival of patients included in this study. Only index M of TNM system and serum VEGF level demonstrated an independent prognostic value in multiparametric model ($p=0.036$). Thus, it was confirmed that VEGF signaling pathway plays an important role in gastric cancer, and its components – in the first place, VEGF A – are substantial factors of disease prognosis, and can also be useful for monitoring of treatment efficiency.

Key words: gastric cancer; VEGF; sVEGFR1; sVEGFR2; matrix metalloproteinases; blood serum; prognosis.

For citation: Gershtein E.S., Korotkova E.A., Petrosyan A.P., Suleymanov E.A., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E. Prognostic significance of VEGF signaling system components and matrix metalloproteinases in blood serum of gastric cancer patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (11): 650-654 (in Russ.).
DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-11-650-654>

For correspondence: Gershtein Elena Sergeevna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Clinical Biochemistry; e-mail: esgershtein@gmail.com

Information about authors:

Gershtein E.S., <https://orcid.org/0000-0002-3321-801X>;
Korotkova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-2509-5232>;
Petrosyan A.P., <https://orcid.org/0000-0002-2149-4236>;
Suleymanov E.A., <https://orcid.org/0000-0002-5140-0245>;
Stilidi I.S., <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>;
Kushlinskii N.E., <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>.

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study was performed without external funding.*

Received 04.09.21
Accepted 04.10.21
Published 29.11.2021

Введение. Широкая распространенность, неуклонный рост показателей заболеваемости (в основном запущенных форм) и смертности от рака желудка – одна из важнейших проблем современной клинической онкологии. Радикальное хирургическое удаление опухоли по-прежнему остается главной гарантией успешного лечения и длительного безрецидивного периода у этих пациентов. По данным ведущих специалистов России, крайне неудовлетворительные результаты лечения рака желудка связаны с его поздней диагностикой, как правило – в III-IV стадиях опухолевого процесса [1]. К основным сложностям, мешающим внедрению в повседневную клиническую практику массовых профилактических мероприятий и скрининга рака желудка, следует отнести отсутствие простых и доступных методов обследования, а также специфических маркеров [2].

Несмотря на некоторые успехи комбинированных методов лечения рака желудка, именно хирургический метод остается стандартом, позволяющим добиться излечения на ранних стадиях заболевания. Прогноз на поздних стадиях заболевания неутешительный и составляет менее года для неоперабельных больных даже при соответствующей терапии [3]. Одним из ключевых подходов к повышению эффективности лечения рака желудка, наряду с ранней диагностикой, совершенствованием хирургических технологий и рациональным использованием комбинированных и комплексных методов, включая классическую химиотерапию, является использование препаратов, направленно воздействующих на молекулы, участвующие в осуществлении и регуляции основных биологических свойств опухоли, и блокирующих регулируемые ими процессы.

С целью определения риска раннего метастазирования и прогноза рака желудка 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 и биохимических маркеров, характеризующих агрессивный потенциал 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 рака желудка.

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). Помимо самого VEGF, эта система включает также 3 трансмембранных тирозинкиназных рецептора, из которых наиболее значимыми для регуляции роста кровеносных сосудов являются рецепторы 1 и 2 типа (VEGFR1 и VEGFR2) [4]. Антиангиогенная терапия успешно применяется при таких заболеваниях как рак почки, рак толстой кишки, гепатоцеллюлярный рак и др. [5-7]. В последнее время предпринимаются также различные более или менее удачные попытки применения антиангиогенных препаратов при раке желудка [8-10]. 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 [11].

Помимо общего для большинства рецепторных киназ митоген-активируемого протеинкиназного каскада, регулирующего экспрессию генов, связанных с пролиферацией, к числу важнейших генов, регулируемых VEGF в эндотелиальных клетках, относится протоонкоген *c-ets-1*, кодирующий транскрипционный фактор Ets-1, который способствует проявлению ангиогенного фенотипа этих клеток через активацию транскрипции генов и последующего синтеза белков важнейших протеаз, расщепляющих внеклеточный матрикс (ВКМ) [12, 13]. Активация протеаз имеет три важных для стимуляции ангиогенеза последствия: облегчает дезинтеграцию эндотелиальных клеток и их инвазию в базальный слой сосудов, генерирует продукты деградации ВКМ, способствующие хемотаксису эндотелиальных клеток, а также активирует и мобилизует находящиеся в ВКМ факторы роста. К важнейшим регуляторам деградации ВКМ относится мультигенное семейство матриксных металлопротеиназ (ММП), состоящее из более 20 секретируемых и связанных с поверхностью клетки цинк-зависимых эндопептидаз, вовлеченных во все этапы опухолевого процесса, в первую очередь, в процессы инвазии и метастазирования [14, 15]. Ключевыми для опухолевой прогрессии являются желатиназы А и В (ММП-2 и ММП-9 соответственно) и матрилизин (ММП-7).

Экспрессия VEGF, его рецепторов и различных ММП в опухолевой ткани и их растворимые формы,

циркулирующие в периферической крови, активно изучаются также в качестве факторов прогноза онкологических заболеваний, в том числе рака желудка [16-19], независимо от наличия или отсутствия антиангиогенного компонента в схеме лечения.

Ранее, на основании результатов обследования 104 первичных больных раком желудка и 65 здоровых доноров, мы установили, что содержание VEGF, sVEGFR1 и MMP-7 в сыворотке крови пациентов статистически значимо повышено, а уровни sVEGFR2 и MMP-2 снижены по сравнению с контрольной группой [20, 21]. Однако значимых ассоциаций со стадией заболевания, глубиной инвазии первичной опухоли, гистологическим типом, степенью дифференцировки и локализацией опухоли обнаружено не было. При исследовании плазмы крови больных раком желудка было установлено, что высокий уровень MMP-7 является независимым фактором неблагоприятного прогноза общей выживаемости по данным однофакторного и многофакторного анализа, а низкий уровень MMP-2 – только по результатам однофакторного анализа [22].

Цель данного исследования – анализ прогностической значимости VEGF, растворимых форм его рецепторов (sVEGFR1, sVEGFR2), а также MMP-2, 7 и 9 в сыворотке крови больных раком желудка.

Материал и методы. Проанализированы отдаленные результаты лечения 77 пациентов с впервые выявленным раком желудка в возрасте от 25 до 80 лет (42 мужчины, 35 женщин), обследованных и получавших лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Клинико-рентгенологический диагноз у всех больных подтвержден данными морфологического исследования опухоли и регионарных лимфоузлов согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (ВОЗ, 2019). I стадия диагностирована у 14, II – у 13, III – у 32, IV – у 18 пациентов. У 46% пациентов опухоль локализовалась в теле, у 20% – в проксимальном и у 19% в дистальном отделе желудка; тотальное поражение желудка выявлено у 19%, кардиоэзофагеальный рак – у 3% больных.

Больным выполнены различные варианты операций: проксимальная резекция желудка – 4, дистальная резекция желудка – 24, гастрэктомия – 42, ревизионная лапароскопия – 7. Неoadъювантную полихимиотерапию получали 5 пациентов, адъювантную полихимиотерапию – 32; схемы полихимиотерапии: DCF – 1 (3,1%), FLOT – 3 (9,4%), FOLFOX – 3 (9,4%), XELOX – 24 (75%), капецитабин (в монорежиме) – 1 (3,1%) больной. Пациенты прослежены на протяжении от 1 до 41 месяца (медиана – 6,4 мес). В качестве критерия оценки прогностической значимости использовали показатель общей выживаемости.

Содержание исследуемых белков в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, определяли с помощью наборов для прямого иммуноферментного анализа: «Human VEGF Immunoassay», «Human VEGFR1 Immunoassay», «Human VEGFR2 Immunoassay», «Human/Mouse/Rat MMP-2 (total)», «Human MMP-7 (total)», «Human MMP-9 (total)» (Quantikine^o, R&D Systems, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание VEGF и sVEGFR1 выражали в пикограммах (пг); sVEGFR2, MMP-2, 7, 9 – в нанogramмах (нг) – на 1 мл сыворотки крови.

Статистический анализ клинико-лабораторных данных проводили на персональном компьютере с помощью математических пакетов Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) и SPSS 20. 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 $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Пациенты прослежены на протяжении от 1 до 41 месяца (медиана – 6,4 мес). За весь период наблюдения от основного заболевания умерли 20 пациентов, что составило 26% от общего числа обследованных. Продолжительность жизни умерших больных составила от 1 до 31 месяца (медиана – 14,1 мес).

Выбор пороговых значений для оценки влияния уровней VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2, MMP-2, 7 и 9 на общую выживаемость проводили на основании данных о содержании этих белков в сыворотке крови больных раком желудка, опубликованных нами ранее [20, 21]. На первом этапе анализа в качестве таковых рассматривали показатели медианы, верхнего и нижнего квартилей в общей группе пациентов.

Статистически значимые различия в однофакторном анализе были получены только для VEGF при пороговом значении 420 пг/мл, соответствующем медиане (см. табл. 1, рисунок).

В группе пациентов с уровнями VEGF в сыворотке крови менее 420 пг/мл медиана срока жизни не была достигнута, 3-летняя общая выживаемость составила $88,2 \pm 7,8\%$ и была почти в 2 раза выше, чем при более высоких концентрациях маркера – $46,3 \pm 12,5\%$ с медианой срока жизни 21,7 мес (рис. 1; $p = 0,011$).

Значимых различий в отдаленных результатах лечения больных раком желудка в группах с различной концентрацией sVEGFR1 в сыворотке крови выявлено не было, однако наихудшая общая выживаемость в сроки

Таблица 1

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

VEGF, пг/мл	n	Медиана срока жизни, мес	Общая выживаемость, %		
			1 год	2 года	3 года
≤290	15	Не достигнута	83,3±15,2	83,3±15,2	83,3±15,2
291-420	20	Не достигнута	90,9±8,7	90,9±8,7	90,9±8,7
421-600	20	16,5	63,0±17,7	42,0±20,8	42,0±20,8
>600	22	22,0	80,0±12,6	50,0±15,8	50,0±15,8
p			0,06		

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: n – число больных.

от 2-х до 3-х лет ($49,5 \pm 15,4\%$; медиана 21,2 мес) обнаружена в группе пациентов с уровнями sVEGFR1 ≤ 4 пг/мл (нижний квартиль; табл. 2).

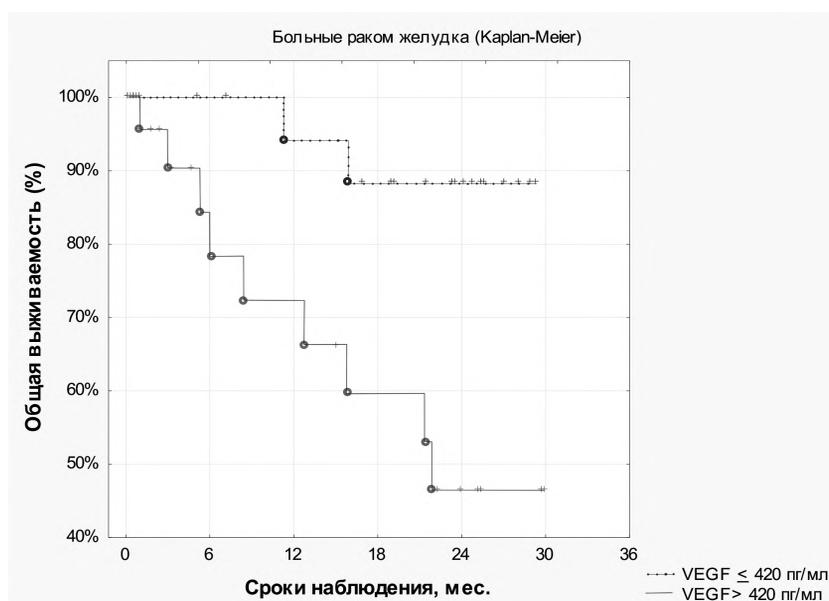
Не отмечено значимых различий в отдаленных результатах лечения больных раком желудка с различной концентрацией sVEGFR2 в сыворотке крови, однако отмечено незначительное ухудшение результатов лечения при уровне маркера 9,0 и более нг/мл (табл. 3).

Таким образом, все изученные компоненты системы VEGF в растворимой форме в той или иной степени обладали прогностическими свойствами. Многофакторный анализ связи 3-х показателей (VEGF, sVEGFR1, sVEGFR2), а также критериев системы TNM с общей выживаемостью больных раком желудка выявил, что значимым независимым фактором прогноза длительности жизни больных раком желудка является только индекс M (наличие отдаленных метастазов) ($p=0,009$) и

уровень VEGF в сыворотке крови ($p=0,036$) (табл. 4).

В отличие от полученных нами ранее данных о прогностическом значении уровней ММП-7 и ММП-2 в плазме крови больных раком желудка [22], уровни ММП-2, 7 и 9 в сыворотке крови не были значимо связаны с общей выживаемостью пациентов, включенных в данное исследование.

Таким образом, продемонстрировано, что сигнальный путь ключевого регулятора ангиогенеза VEGF играет важную роль при раке желудка, как и при многих других онкологических заболеваниях. Компоненты этого сигнального пути – в первую очередь, VEGF A – являются значимыми факторами прогноза заболевания, а также могут быть полезны для мониторинга эффективности проводимого лечения. Особое значение исследование маркеров ангиогенеза приобретает в настоящее время, когда активно развиваются различные методы ан-



Общая выживаемость больных раком желудка с учетом концентрации VEGF в сыворотке крови.

Таблица 2

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

sVEGFR1, пг/мл	n	Медиана срока жизни, мес	Общая выживаемость, %		
			1 год	2 года	3 года
≤ 94	24	21,2	$77,4 \pm 11,5$	$49,5 \pm 15,4$	$49,5 \pm 15,4$
95-116	25	Не достигнута	$76,2 \pm 14,8$	$76,2 \pm 14,8$	$76,2 \pm 14,8$
117-363	21	Не достигнута	$90,9 \pm 8,7$	$79,5 \pm 13,1$	$79,5 \pm 13,1$
> 363	7	Не достигнута	100	$66,7 \pm 27,2$	$66,7 \pm 27,2$
<i>p</i>			0,45		

Таблица 3

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

sVEGFR2, нг/мл	n	Медиана срока жизни, мес	Общая выживаемость, %		
			1 год	2 года	3 года
$< 9,0$	43	Не достигнута	$91,5 \pm 5,7$	$76,8 \pm 9,3$	$76,8 \pm 9,3$
$\geq 9,0$	34	19,8	$57,3 \pm 14,8$	$45,8 \pm 15,6$	$45,8 \pm 15,6$
<i>p</i>			0,08		

Результаты анализа с помощью многофакторной регрессионной модели Cox

Признак	Beta	t-value	Wald	p
T	0,01647±0,017524	1,44607	2,0911	0,148
N	0,014281±0,007567	1,57662	2,485738	0,20
M	1,637691±0,777904	2,50059	6,252929	0,009
VEGF	1,89113±1,000932	2,17952	4,750311	0,036
sVEGFR1	-0,0030±0,0036	-0,830155	0,689157	0,406
sVEGFR2	-1,12401±0,113517	-1,44387	2,084773	0,26

тиангиогенной терапии, некоторые из которых уже показали определенную эффективность при раке желудка. Полученные результаты соответствуют относительно немногочисленным публикациям по данному вопросу [23-25], в которых подчеркивается значение компонентов системы VEGF, циркулирующих в периферической крови для независимого прогноза, предсказания и мониторинга эффективности лечения рака желудка.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2-14, 16-20, 22-28
 см. REFERENCES)

1. Давыдов М.И., Туркин И.Н., Давыдов М.М. Энциклопедия хирургии рака желудка. М.: Эксмо; 2011.
15. Герштейн ЕС, Кушлинский НЕ: Клинические перспективы исследования ассоциированных с опухолью протеаз и их тканевых ингибиторов у онкологических больных. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014; (5):16-27.
21. Герштейн Е.С., Петросян А.П., Кушлинский Н.Е., Стилиди И.С. Сравнительная оценка содержания матриксных металлопротеиназ и компонентов сигнальной системы VEGF в сыворотке крови больных раком желудка. *Успехи молекулярной онкологии*. 2018; 5(4):71-2.

REFERENCES

1. Davydov M.I., Turkin M.M., Davydov M.M. Encyclopaedia of Gastric Cancer Surgery. Moscow: Eksmo; 2011. (in Russian)
2. Duffy M.J. Use of Biomarkers in Screening for Cancer. *Advances in experimental medicine and biology*. 2015; 867: 27-39.
3. Wagner A.D., Syn N.L., Moehler M., Grothe W., Yong W.P., Tai B.C. et al. Chemotherapy for advanced gastric cancer. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017; 8:CD004064.
4. Shibuya M. Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in angiogenesis. *J. Biochem. Mol. Biol.* 2006; 39(5):469-78.
5. Moch H., Montironi R., Lopez-Beltran A., Cheng L., Mischo A. Oncotargets in different renal cancer subtypes. *Curr. Drug. Targets*. 2015; 16(2):125-35.
6. Nguyen K., Jack K., Sun W. Hepatocellular Carcinoma: Past and Future of Molecular Target Therapy. *Diseases*. 2015; 4(1):1.
7. Dreanic J., Dhooge M., Barret M., Brezault C., Mir O., Chaussade S. et al. Anti-epidermal or anti-vascular endothelial growth factor as first-line metastatic colorectal cancer in modified Glasgow prognostic score 2' patients. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2015; 6(3):231-6.
8. Abdel-Rahman O. Targeting vascular endothelial growth factor (VEGF) pathway in gastric cancer: preclinical and clinical aspects. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2015; 93(1):18-27.
9. Mawalla B., Yuan X., Luo X., Chalya P.L. Treatment outcome of anti-angiogenesis through VEGF-pathway in the management of gastric cancer: a systematic review of phase II and III clinical trials. *BMC research notes*. 2018; 11(1):21.

10. Qi W.X., Shen Z., Tang L.N., Yao Y. The role of anti-VEGF agents in the treatment of advanced gastric cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Tumour Biol*. 2014; 35(8):7675-83.
11. Macedo F., Ladeira K., Longatto-Filho A., Martins S.F. Gastric Cancer and Angiogenesis: Is VEGF a Useful Biomarker to Assess Progression and Remission? *J. Gastric Cancer*. 2017; 17(1):1-10.
12. Sato Y., Teruyama K., Nakano T., Oda N., Abe M., Tanaka K. et al. Role of transcription factors in angiogenesis: Ets-1 promotes angiogenesis as well as endothelial apoptosis. *Ann.N-Y Acad.Sci*. 2001; 947:117-23.
13. Iwasaka C., Tanaka K., Abe M., Sato Y. Ets-1 regulates angiogenesis by inducing the expression of urokinase-type plasminogen activator and matrix metalloproteinase-1 and the migration of vascular endothelial cells. *J. Cell Physiol*. 1996; 169(3):522-31.
14. Kugler A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Anticancer Res*. 1999; 19(2C):1589-92.
15. Gershtein E.S., Kushlinskii N.E. Clinical prospects of tumor-associated proteases and their tissue inhibitors investigation in oncologic patients. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk*. 2014; (5):16-27. (in Russian)
16. Li X., Zhu X., Wang Y., Wang R., Wang L., Zhu M.L. et al. Prognostic value and association of Lauren classification with VEGF and VEGFR-2 expression in gastric cancer. *Oncol. Lett*. 2019; 18(5):4891-9.
17. Chen J., Tang D., Wang S., Li Q.G., Zhang J.R., Li P. et al. High expressions of galectin-1 and VEGF are associated with poor prognosis in gastric cancer patients. *Tumour Biol*. 2014; 35(3):2513-9.
18. Chen J., Li T., Wu Y., He L., Zhang L., Shi T. et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma: a meta-analysis. *J. cancer Res. Clin. Oncol*. 2011; 137(12):1799-1812.
19. Liu L., Ma X.L., Xiao Z.L., Li M., Cheng S.H., Wei YQ. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in resected gastric cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2012; 13(7): 3089-97.
20. Gershtein E.S., Korotkova E.A., Petrosyan A.P., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E. Vascular Endothelial Growth Factor and Soluble Forms of Its Receptors 1 and 2 in Gastric Cancer. *Bull. Exper. Biol. Med.* 2021; 170(6): 791-4.
21. Gershtein E.S., Petrosyan A.P., Kushlinskii N.E., Stilidi I.S. Comparative evaluation of matrix metalloproteinases and VEGF signaling system components in blood serum of gastric cancer patients. *Uspekhi Molekulyarnoy Onkologii*. 2018; 5(4): 71-2. (in Russian)
22. Kushlinskii N.E., Gershtein E.S., Ivannikov A.A., Davydov M.M., Chang V.L., Ognerubov N.A., Stilidi I.S. Clinical Significance of Matrix Metalloproteinases in Blood Plasma of Patients with Gastric Cancer. *Bull Exp Biol Med*. 2019; 166(3): 373-376.
23. Bilgic C.I., Tez M. Serum VEGF levels in gastric cancer patients: correlation with clinicopathological parameters. *Turk. J. Med. Sci*. 2015; 45(1):112-7.
24. Kikuchi S., Obata Y., Yagyu K., Lin Y., Nakajima T., Kobayashi O. et al. Reduced serum vascular endothelial growth factor receptor-2 (sVEGFR-2) and sVEGFR-1 levels in gastric cancer patients. *Cancer Sci*. 2011; 102(4):866-9.
25. Ock C.Y., Nam A.R., Bang J.H., Kim T.Y., Lee K.H., Han S.W. et al. The distinct signatures of VEGF and soluble VEGFR2 increase prognostic implication in gastric cancer. *Am. J. Cancer Res*. 2015; 5(11):3376-88.