

12. Zheng S.L., Sun J., Wiklund F., Smith S., Stattin P., Li G. et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358, 910–19.
13. Chevillet J. C., Karnes R. J., Therneau T. M., Kosari F., Munz J.-M., Tillmans L. et al. Gene panel model predictive of outcome in men at high-risk of systemic progression and death from prostate cancer after radical retropubic prostatectomy. *J. Clin. Oncology.* 2008; 26(24): 3930–6.
14. Koh C. M., Bieberich C. J., Dang C. V., Nelson W. G., Yegnasubramanian S., De Marzo A. M. MYC and prostate cancer. *Genes and Cancer.* 2010; 1(6): 617–28.
15. Andriole G.L., Crawford E.D., Buys S.S., Grubb R.L. III et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1310–9.
16. Schröder F.H., Hugosson J., Roobol M.J. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1320–8.

## REFERENCES

1. Chissov V.I., Starinskiy V.V., Petrova G.V., eds. *Malignant neoplasms in Russia in 2010 (morbidity and mortality) [Zlokachestvennye no-voobrazovaniya v Rossii v 2010 g. (zabolevaemost' i smertnost')]*. Moscow: FGBU MNIOI im. P. A. Gertsena; 2012. (in Russian)
2. Jemal A., Bray F., Center M. M. et al. Global cancer statistics. *CA. Cancer J. Clin.* 2011; 61(2): 69–90.
3. Wang M.C., Valenzuela L.A., Murphy G.P., Chu T.M. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest. Urol.* 1979; 17: 159–63.
4. Catalona W.J., Partin A.W., Slawin K.M., Brawer M., Flanigan R., Patel A. et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *J. A. M. A.* 1998; 279 (19): 1542–7.
5. Catalona W.J., Smith D.S., Ratliff T.L., Basler J.W. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *J. A. M. A.* 1993; 270 (8): 948–54.
6. Nam R.K., Zhang W.W., Trachtenberg J., Seth A., Klotz L.H., Stanimirovic A. et al. Utility of incorporating genetic variants for

- the early detection of prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15(5): 1787–93.
7. Schaefer A., Jung M., Mollenkopf H.J., Wagner I., Stephan C., Jentzmik F. et al. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int. J. Cancer.* 2010; 126(5): 1166–76.
8. Stamey T.A., Caldwell M., McNeal J.E., Nolley R., Hemenez M., Downs J. The PSA era in the United States is over for prostate cancer: what happened in the past 20 years? *J. Urol.* 2004; 172(4): 1297–301.
9. Thompson I.M., Ankerst D.P., Chi C., Goodman P.J., Tangen C.M., Lucia M.S., et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98(8): 529–34.
10. Schroder F.H., Hugosson J., Roobol M.J., Tammela T.L., Ciatto S., Nelen V. et al. Screening and prostate cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(13): 1320–8.
11. Stephenson A.J., Scardino P.T., Eastham J. A., Bianco F.J., Dotan Z.A., Fearn P. A. et al. Preoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J. Nat. Cancer Inst.* 2006; 98(10): 715–7.
12. Zheng S.L., Sun J., Wiklund F., Smith S., Stattin P., Li G. et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358, 910–19.
13. Chevillet J. C., Karnes R. J., Therneau T. M., Kosari F., Munz J.-M., Tillmans L. et al. Gene panel model predictive of outcome in men at high-risk of systemic progression and death from prostate cancer after radical retropubic prostatectomy. *J. Clin. Oncology.* 2008; 26(24): 3930–6.
14. Koh C. M., Bieberich C. J., Dang C. V., Nelson W. G., Yegnasubramanian S., De Marzo A. M. MYC and prostate cancer. *Genes and Cancer.* 2010; 1(6): 617–28.
15. Andriole G.L., Crawford E.D., Buys S.S., Grubb R.L. III et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1310–9.
16. Schröder F.H., Hugosson J., Roobol M.J. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1320–8.

Поступила 28.11.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.5-006.81-092:612.13]-092.9

Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Трештаки Л.К., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д.

## ФАКТОРЫ РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И РЕЦЕПТОРОВ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ПЕРЕВИВАЕМОЙ МЕЛАНОМЫ В16/F10

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, 344037, г. Ростов-на-Дону

Рост любой злокачественной опухоли связан с неоангиогенезом и неоплимогенезом, что дает неоплазме возможность автономного развития. Основными агентами этих процессов является семейство факторов роста сосудистого эндотелия (VEGF), представленных VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, осуществляющих свой биологический эффект в результате взаимодействия с тирозинкиназными рецепторами  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_3$ . В опухоли, перифокальной зоне и неповрежденной коже у лабораторных животных – мышей с перевитой подкожно меланомой В16/F10 ( $n = 40$ ) изучали зависимость изменения уровня VEGF-A, VEGF-C, а также их рецепторов –  $R_1$ ,  $R_2$  от развития злокачественной опухоли. Установлено, что на протяжении роста меланомы В16/F10 в организме мышей линии C57BL/6j активно реализуются механизмы образования различных сосудов – неоангиогенез, неоплимогенез и васкулогенная мимикрия. При этом факторы роста и их рецепторы синтезируются не только опухолью, но и окружающими ее тканями и даже отдаленными от опухоли участками кожи. До 2-й недели развития опухоли меланома является лидирующим компонентом по экспрессии факторов роста и их рецепторов, однако к 3-й неделе лидерство переходит к перифокальной зоне, в которой продолжается нарастание уровня как VEGF, так и их рецепторов. Интересен тот момент, что для отдаленных от опухоли участков кожи гораздо более активным является синтез VEGF-C и его рецептора.

Ключевые слова: факторы роста; рецепторы факторов роста; меланома B16/F10; неоангиогенез; нелимфо-генез; перифокальная зона опухоли.

Для цитирования: Российский онкологический журнал. 2015; 20(2): 32–37.

GROWTH FACTORS VASCULAR OF ENDOTHELIAL AND RECEPTORS IN THE DYNAMIC OF TRANS-PLANTABLE MELANOMA B16/F10 DEVELOPMENT

Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Trepitaki L. K., Pogorelova Yu.A., Cheryarina N.D.

Rostov Research Institute of Oncology, 344037, Rostov-on-Don, Russian Federation

*The growth of any cancer is associated with neoangiogenesis and neolimfogenezom that gives neoplasm opportunity of autonomous development. The basic processes of these agents is the family of vascular endothelial growth factor (VEGF), represented by VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, its biological effects performing the interaction with tyrosine kinase receptors R1, R2 and R3. In tumor and perifocal zone intact skin of laboratory animals – mice were inoculated subcutaneously with B16 melanoma / F10 (n = 40) to study the dependence of the level of VEGF-A, VEGF-C, as well as their receptors – R1, R2 from the development of cancer. It was found that during the growth of melanoma B16 / F10 in mice lines C57BL / 6j actively implemented mechanisms of various vessels creation - angiogenesis, and vasculogenic mimicry neolimfogenesis. Thus growth factors and their receptors are synthesized not only the tumor, but also to surrounding tissues, and even remote areas of the skin from the tumor. Until the second week of melanoma tumor is a leading component for expression of growth factors and their receptors, however, for the third week - the lead passes to the perifocal area, which continues to increase as VEGF, and their receptors. Interestingly time that remote from the tumor of the skin is much more active synthesis of VEGF-C and its receptor.*

Key words: growth factors; growth factor receptors; B16/F10 melanoma; angiogenesis; neolimfogenesis; perifocal zone of the tumor.

Citation: Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. 2015; 20(2): 32–37. (In Russ.)

Correspondence to: Valeriya Bandovkina – MD, PhD; e-mail: super.gormon@yandex.ru.

Received 06.02.15

Рост новых кровеносных и лимфатических сосудов является сложным и скоординированным процессом, в котором участвуют различные регуляторные молекулы. Наиболее важными эффекторами, обеспечивающими физиологический и патологический лимфо- и ангиогенез, являются факторы роста эндотелия сосудов – VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D [1–4]. Биологическое действие членов семейства VEGF на эндотелиальные клетки происходит с помощью тирозинкиназных рецепторов: VEGF-A связывается с VEGF-R<sub>1</sub> и VEGF-R<sub>2</sub>, тогда как VEGF-C взаимодействует с VEGF-R<sub>2</sub> и VEGF-R<sub>3</sub> [3]. Помимо своего основного ангиогенного эффекта, VEGF оказывают иммунорегуляторное действие [5], влияя на активность Т- и В-лимфоцитов [6]. В ряде исследований показано, что повышенная экспрессия VEGF коррелирует с неблагоприятным прогнозом течения злокачественных опухолей [7, 8], и в частности меланомы кожи [9]. Ингибирование VEGF-C подавляло лимфангиогенез и спонтанное метастазирование в лимфатические узлы и легкое, увеличивало выживание и модулировало инфильтрацию дендритных клеток и лимфоцитов в опухоль [10]. Маркерами лимфатических и кровеносных сосудов в том числе служат высокоаффинные тирозинкиназные рецепторы VEGF-R<sub>1</sub>, VEGF-R<sub>2</sub>, VEGF-R<sub>3</sub>, через взаимодействие с которыми реализуется биологический эффект факторов семейства VEGF [11]. Рецепторы 1 и 2 преимущественно локализованы на клетках эндотелия кровеносных сосудов, а 3-й рецептор экспрессируется в основном на клетках эндотелия лимфатических сосудов, на котором частично экспрессируется и VEGF-R<sub>2</sub>. Понимание молекулярных механизмов

лимфангиогенеза может помочь в разработке новых терапевтических стратегий против распространения злокачественных опухолей [12]. Для выяснения роли факторов роста эндотелия сосудов в патогенезе развития меланомы кожи целесообразно использовать экспериментальные исследования. Перевиваемая меланома B16/F10 характеризуется коротким инкубационным периодом, быстрым ростом, типичным метастазированием, что делает эту опухоль адекватной моделью для данного исследования.

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня факторов ангио-, лимфангиогенеза и их рецепторов в ткани опухоли, ее перифокальной зоне и интактной коже мышей в динамике роста меланомы B16/F10.

### Материал и методы

Работа выполнена на мышах-самцах линии C57Bl/6j (n = 40), 8-недельного возраста массой тела 24–26 г. Животные были получены из ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий "Андреевка"» ФМБА (Московская область). В работе использовали штамм мышиной, метастазирующей в легкие меланомы B16/F10. Культура клеток меланомы B16/F10 была получена из РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (Москва). Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Все исследования проводили в соответствии с требованиями и условиями, изложенными в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Перевивка меланомы B16/F10 производилась под кожу правой задней лапки мышей по 0,5 мл взвеси опухолевой ткани в растворе Хенкса (2·10<sup>5</sup> клеток опухоли в среде 199) по стандартным методикам [13]. Мышам контрольной группы осуществлялось подкожное введение 0,5

Для корреспонденции: Бандовкина Валерия Ахтямовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. изучения патогенеза злокачественных опухолей, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, д. 63, e-mail: super.gormon@yandex.ru.

**Факторы роста эндотелия сосудов и их рецепторы в опухоли, перифокальной зоне и интактной коже мышей с меланомой B16/ F10**

| Ткань \ Показатель                         | VEGF-A, пг на 1 г ткани | VEGF-C, пг на 1 г ткани | VEGF-R1, нг на 1 г ткани | VEGF-R2, нг на 1 г ткани |
|--|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Интактные животные                         |                         |                         |                          |                          |
| Кожа                                       | 209,1 ± 15,1            | 6 480 ± 128             | 1,5 ± 0,1                | 27,2 ± 1,4               |
| 1 нед роста B16 (масса опухоли 115,7 мг)   |                         |                         |                          |                          |
| Кожа                                       | 293,3 ± 16,2*           | 23 000 ± 500*           | 3 ± 0,2*                 | 45,4 ± 3,1*              |
| Опухоль                                    | 1812,9 ± 154*           | 40 100 ± 1200*          | 2,9 ± 0,12*              | 222,5 ± 15,3*            |
| Перифокальная зона                         | 783,3 ± 62*             | 11 500 ± 600*           | 10,1 ± 0,78*             | 75,7 ± 5,1*              |
| 2 нед роста B16 (масса опухоли 4089,3 мг)  |                         |                         |                          |                          |
| Кожа                                       | 275,1 ± 18*             | 19 450 ± 700*           | 2,9 ± 0,11*              | 33,3 ± 1,4*,**           |
| Опухоль                                    | 10139,7 ± 421*,**       | 168 400 ± 1572*,**      | 44,0 ± 1,1*,#            | 399,6 ± 20,8*,**         |
| Перифокальная зона                         | 1272,7 ± 95*,**         | 113 800 ± 5620*,**      | 9,6 ± 0,7*               | 72,5 ± 6,7*              |
| 3 нед роста B16 (масса опухоли 5990, 1 мг) |                         |                         |                          |                          |
| Кожа                                       | 348,2 ± 24*             | 55 000 ± 782*,**        | 2,9 ± 0,1*               | 108,9 ± 7,1*,**          |
| Опухоль                                    | 12933,9 ± 600*          | 161 900 ± 2450*         | 38,6 ± 1,2*              | 351,1 ± 26,5*            |
| Перифокальная зона                         | 5210,3 ± 232*,**        | 106 900 ± 5678*         | 7,47 ± 0,54*             | 567,5 ± 31,2*,**         |

Пр и м е ч а н и е. \* – достоверно по отношению к показателям в ткани интактных животных ( $p < 0,05$ ); \*\* – по отношению к показателям в предыдущий срок исследования ( $p < 0,05$ ).

мл раствора Хенкса. Рост опухоли оценивали путем ежедневного замера в трех взаимно перпендикулярных диаметрах с последующим расчетом объема опухоли. В 1, 2 и 3-ю неделю эксперимента животных быстро декапитировали, все процедуры проводили в соответствии с международными правилами работы с животными (European Communities Council Directive, 86/609/ЕЕС). Опухоль, перифокальную зону и кожу выделяли сразу после декапитации. Из тканей получали 10% цитозольные фракции, приготовленные на 0,1 М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1% твина-20 и 1% БСА, в которых с помощью стандартных тест-систем ИФА-методами определяли уровень: VEGF-A, VEGF-C, VEGF-R<sub>1</sub>, VEGF-R<sub>2</sub>.

Статистическая обработка материала проводилась с помощью программы Statistica 6,0 с определением средних значений с указанием стандартных отклонений. Значимость различий средних показателей оценивалась с помощью критерия суммы рангов Вилкоксона. Существенными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Прежде всего обращают на себя внимание показатели факторов роста и их рецепторов в интактной коже. Установлено, что содержание VEGF-C значительно превосходило уровень VEGF-A более чем в 30 раз, также и уровень VEGF-R<sub>2</sub> превалировал над VEGF-R<sub>1</sub> в 18 раз. Этот факт может свидетельствовать о большей активности образования лимфатических сосудов над кровеносными сосудами в здоровой коже.

После трансплантации культуры клеток меланомы B16/F10 опухоль развилась у всех животных. В 1-ю неделю эксперимента масса опухоли составила в среднем 115,7 мг (0,41% от массы тела животного), при этом объем опухоли измерить не удалось ввиду ее малых размеров. Во 2-ю неделю масса опухоли в

среднем составила 4089,25 мг (14,1% от массы тела животного), а объем – 3,1 см<sup>3</sup>. К 3-й неделе эксперимента, несмотря на отсутствие изменения объема – в среднем 3,04 см<sup>3</sup>, масса опухоли составила в среднем 5990 мг (20,66% от массы тела животного). Продолжительность жизни мышей этой серии составила 3,5 ± 0,2 нед.

Результаты изучения факторов роста и их рецепторов представлены в таблице. Установлено достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение всех исследуемых показателей во всех образцах уже в 1-ю неделю эксперимента относительно показателей в коже интактных животных. Так, в 1-ю неделю в интактной коже уровень VEGF-A возрос в 1,4 раза, VEGF-C – в 3,5 раза, VEGF-R<sub>1</sub> – в 2 раза и VEGF-R<sub>2</sub> – в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). В этот срок в ткани опухоли увеличение VEGF-A, VEGF-C, VEGF-R<sub>1</sub> и VEGF-R<sub>2</sub> относительно интактной кожи составило соответственно 8,7; 6,2; 2 и 8,1 раза, а в перифокальной зоне опухоли – 3,7; 1,8; 6,7 и 2,8 раза ( $p < 0,05$ ).

Очевидно, что появление минимальной опухоли массой 115,7 мг сопровождается значительной активацией факторов неангио- и нелимфоангиогенеза не только в ткани самой опухоли, но и в тканях, ее окружающих, причем величина показателей зависит от степени удаления от места имплантации опухоли.

Через 2 нед от момента перевивки опухоли в интактной коже уровень изученных показателей не имел достоверных отличий от значений в предыдущий срок исследования.

Вместе с тем в ткани опухоли показатели увеличились относительно предыдущего срока исследования: VEGF-A – в 5,6 раза, VEGF-C – в 4,2 раза, VEGF-R<sub>1</sub> – в 15,2 раза и VEGF-R<sub>2</sub> – в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ). В ткани перифокальной зоны найдено увеличение только факторов роста, но не рецепторов: уровень VEGF-A возрос в 1,6 раза, VEGF-C – в 9,9 раза ( $p < 0,05$ ).

Через 3 нед от момента перевивки изменения не-



которых изученных показателей обнаружены только в интактной коже и ткани перифокальной зоны опухоли, а в ткани меланомы значения факторов роста и рецепторов не имели достоверных отличий от показателей в предыдущий срок исследования. В ткани интактной кожи уровень VEGF-A, VEGF-C и VEGF-R<sub>2</sub> повышался относительно предыдущего срока исследования в 1,3; 2,8 и 3,3 раза соответственно ( $p < 0,05$ ), а уровень VEGF-R<sub>1</sub> не изменялся. В ткани перифокальной зоны изменения коснулись VEGF-A, уровень которого повысился относительно предыдущего срока в 4,1 раза, и VEGF-R<sub>2</sub>, уровень которого повысился в 7,8 раза, а изменения содержания VEGF-C и VEGF-R<sub>1</sub> найдено не было.

Таким образом, в динамике роста перевивной меланомы кожи мышей обнаружено стадийное изменение факторов роста и рецепторов не только в ткани опухоли, но и в регионе ее окружающей, и ткани интактной кожи. Это, на наш взгляд, важно, так как считается, что в условиях злокачественного процесса факторы роста, в частности VEGF-A, синтезируются главным образом стромальными клетками [14]. Способность опухолей создавать свою лимфатическую сеть была обнаружена сравнительно недавно, что связано с отсутствием специфических маркеров лимфатических сосудов и недостатком знаний о молекулярном регулировании развития и функции лимфатической системы [15–18]. В настоящее время установлено, что фактором, ответственным за лимфангиогенез, является VEGF-C, который синтезируется эндотелием лимфатических сосудов, опухолевыми клетками и макрофагами и стимулирует пролиферацию эндотелиоцитов лимфатических капилляров [19]. Открытие лимфатических эндотелиальных маркеров определило анализ природы и структурной организации лимфатических сосудов при нелимфангиогенезе [20, 21].

Анализируя полученные результаты, можно отметить следующее. Появление злокачественной меланомы минимальных размеров сопровождается усилением выработки факторов роста и рецепторов в ткани опухоли, ее перифокальной зоны и интактной коже, что свидетельствует об активном развитии процессов неоангио- и нелимфангиогенеза не только в ткани опухоли.

Наши результаты согласуются с данными Н.П. Бгатовой и соавт. [22], показавшими динамику развития кровеносных и лимфатических микрососудов в экспериментальной лимфосаркоме LS. Авторами было показано уже на 2-е и 3-и сутки формирования в интерстиции капиллярных сетей, заполненных эритроцитами, вокруг которых шло накопление опухолевых клеток. А по периферии опухолевого роста начиналось формирование однослойного лимфатического канала, выстланного узкими эндотелиальными клетками, также заполнявшегося опухолевыми клетками.

Способность опухолевых клеток экспрессировать VEGF-A и VEGF-R связывают с активацией пролиферации опухоли, а VEGF-A отводят роль аутокринного фактора. В связи с этим А. Vartanian [23] предположила, что наблюдаемая высокая экспрессия маркеров неоангиогенеза необходима для формирования каналов васкулогенной мимикрии. Это предположение было подтверждено и показано, что VEGF-R<sub>1</sub> является единственным рецептором

VEGF-A, который регулирует образование васкулогенной мимикрии, и этот сигнальный путь не зависит от активности VEGF-R<sub>2</sub>, экспрессия которого в свою очередь регулирует неоангиогенез с участием эндотелиальных клеток.

Анализируя с этих позиций полученные нами результаты, а именно увеличение активности продукции VEGF-A и двух типов рецепторов, можно предположить существование на ранних этапах роста перевиваемой меланомы B16/F10 как процесса формирования новых кровеносных сосудов из эндотелиальных клеток, так и сосудистоподобных структур. При этом оба процесса происходят не только в ткани опухоли, но и в перифокальной зоне и в интактной коже.

Возможно, нечто подобное происходит и с лимфатическими сосудами, так как известно, что VEGF-R<sub>2</sub> является рецептором и для VEGF-C, который также был активирован в ткани меланомы B16/F10, ее перифокальной зоне и интактной коже уже на ранних этапах роста. В некоторых исследованиях было установлено, что при опухолевом лимфангиогенезе и распространении злокачественных клеток вновь образованные лимфатические сосуды вырастают преимущественно из существующей ранее местной лимфатической сети [24, 25], которая широко представлена в коже млекопитающих.

По мере прогрессирования злокачественного роста меняются приоритеты в системе ростовых факторов и ткани, в которых эта система активирована. Через 2 нед после перевивки меланомы B16/F10 в ткани опухоли и ее перифокальной зоне продолжает нарастать уровень VEGF-A и VEGF-C, но только в ткани меланомы нарастает гиперэкспрессия VEGF-R<sub>1</sub> и VEGF-R<sub>2</sub>. Очевидно, на этом этапе развития меланомы B16 аутокринная функция ростовых факторов больше связана с активацией пролиферации опухоли и построением ею новой сосудистой системы, при этом выраженного влияния на экспрессию факторов роста и их рецепторов в отдаленных регионах пока не оказывает.

В последнее время растет интерес к проблеме микроокружения, как оказалось, не только обеспечивающего поддерживающую функцию, но и отвечающего за особенности роста и распространения новообразования. Изучение микроокружения дает возможность понять индивидуальные особенности опухоли, такие как зависимость ее размеров от локализации в том или ином органе, закономерности метастазирования, рецидивирования и прочих форм прогрессирования [26].

В предтерминальной стадии развития меланомы B16/F10, когда опухоль занимает больше 20% от массы животного, активность системы ростовых факторов в ткани неоплазмы не претерпевает дальнейших превращений. При этом значимые изменения происходили в окружающем ее регионе. Прежде всего это касалось многочисленных мелких опухолевых отсеков. При этом в коже резко возрастает активность VEGF-C и VEGF-R<sub>2</sub>, но не VEGF-A и VEGF-R<sub>1</sub>, а в перифокальной зоне – VEGF-A и VEGF-R<sub>2</sub>, но не VEGF-C и VEGF-R<sub>1</sub>. Можно предположить, что в регионе, непосредственно прилежащем к видимому краю опухоли, интенсифицируется закладка кровеносных сосудов (неоангиогенез), а в более отдаленном регионе интенсифицируется создание лимфатических сосудов (лимфангиогенез).

Однако до настоящего времени окончательно не ясно, какие лимфатические сосуды – внутриопухолевые или расположенные в перитуморальной зоне – играют более важную роль в прогрессии опухоли. Некоторые авторы отмечают, что присутствие лимфатических сосудов в перитуморальной зоне может эффективно служить для транспорта клеток опухоли, так как они менее подвержены напряжению и обеспечивают больший объем тока лимфы [27]. В частности, это касается меланомы [28].

Таким образом, на протяжении всего развития меланомы B16/F10 в организме активно реализуются механизмы образования различных сосудов – неоангиогенез, нелимфогенез и васкулогенная мимикрия. Факторы роста и их рецепторы синтезируются не только опухолью, но и окружающими тканями и даже отдаленными от опухоли участками интактной кожи. До 2-й недели развития опухоли меланомы является лидирующим компонентом по экспрессии факторов роста и их рецепторов, однако к 3-й неделе лидерство переходит к перифокальной зоне, в которой продолжается нарастание как уровня VEGF, так и их рецепторов. Интересен тот момент, что для отдаленных от опухоли участков кожи гораздо более активным является синтез VEGF-C и его рецептора.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Чехонин В.П., Шейн С.А., Корчагина А.А., Гурина О.И. Роль VEGF в развитии неопластического ангиогенеза. *Вестник РАМН*. 2012; 2: 23–33.
2. Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat. Rev. Cancer*. 2002; 2 (10): 795–803.
3. Ferrara N., Gerber H.P., Le Coutre J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* 2003; 9 (6): 669–76.
4. Stepanova O. I., Krylov A. V., Lioudyno V. I., Kisseleva E. P. Gene expression for VEGF-A, VEGF-C, and their receptors in murine lymphocytes and macrophages. *Biochemistry (Moscow)*. 2007; 72 (11): 1194–8.
5. Mor F., Quintana F.J., Cohen I.R. Angiogenesis-inflammation cross-talk: VEGF is secreted by activated T-cells and induces Th1 polarization. *J. Immunol.* 2004; 172: 4618–23.
6. Huang Y., Chen X., Dikov M. M., Novitskiy S. V., Mosse A., Yang L. and Carbone D. P. Distinct roles of VEGFR-1 and -2 in the aberrant hematopoiesis associated with elevated levels of VEGF. *Blood*. 2007; 110: 624–31.
7. Xiaolei Wang, Ximei Chen, Jianping Fang, Changqing Yang. Overexpression of both VEGF-A and VEGF-C in gastric cancer correlates with prognosis, and silencing of both is effective to inhibit cancer growth. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2013; 6(4): 586–97.
8. Ying-Chun Zhao, Xiao-Jian Ni, Yong Li, Min Dai, Zhong-Xu Yuan, Yong-Yun Zhu, Chuan-Yu Luo. Peritumoral lymphangiogenesis induced by vascular endothelial growth factor C and D promotes lymph node metastasis in breast cancer patients. *World J. Surg. Oncol.* 2012; 10: 165.
9. Парсункова К.А., Михайлова И.Н., Евсегнеева И.В., Петенко Н.Н., Караулов А.В., Барышников А.Ю. и др. Сравнительный анализ содержания S100, CD44, TGF b2, VEGF-A в сыворотке крови больных диссеминированной меланомой на фоне вакцинотерапии. В кн.: *Материалы VI Международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность»*. М.: 2009; 178–81.
10. Achen M.G., Stacker S.A. Molecular control of lymphatic metastasis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008; 1131: 225–34.
11. Shayan R., Achen M.G., Stacker S.A. Lymphatic vessels in cancer metastasis: bridging the gaps. *Carcinogenesis*. 2006; 27 (9): 1729–38.
12. Al-Rawi M.A.A., Mansel R.E., Jiang W.G. Lymphangiogenesis and its role in cancer. *Histol. and Histopathol.* 2005; 20: 283–98.
13. Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К., Андропова Н. В., Гарин А. М. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. М.: Гриф и К; 2012; ч. 1: 642–57.
14. Wong S.Y., Haack H., Crowley D., Barry M., Bronson R.T., Hynes R.O. Tumor-secreted vascular endothelial growth factor-C is necessary for prostate cancer lymphangiogenesis, but lymphangiogenesis is unnecessary for lymph node metastasis. *Cancer Res.* 2005; 65 (21): 9789–98.
15. Oliver G., Detmar M. The rediscovery of the lymphatic system: old and new insights into the development and biological function of the lymphatic vasculature. *Genes and Dev.* 2002; 16 (7): 773–83.
16. Hirakawa S., Detmar M. New insights into the biology and pathology of the cutaneous lymphatic system. *J. Dermatol. Sci.* 2004; 35 (1): 1–8.
17. Farnsworth R.H., Achen M.G., Stacker S.A. Lymphatic endothelium: An important interactive surface for malignant cells. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2006; 19 (1): 51–60.
18. Pathak A.P., Artemov D., Neeman M., Bhujwala Z.M. Lymph node metastasis in breast cancer xenografts is associated with increased regions of extravascular drain, lymphatic vessel area, and invasive phenotype. *Cancer Res.* 2006; 66: 5151–8.
19. Zeng Y., Opekin K., Goad J., Williams T.D. Tumor-induced activation of lymphatic endothelial cells via vascular endothelial growth factor receptor-2 is critical for prostate cancer lymphatic metastasis. *Cancer Res.* 2006; 66 (1): 9566–75.
20. McColl B.K., Stacker S.A., Achen M.G. Molecular regulation of the VEGF family – inducers of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 2004; 112 (7–8): 463–80.
21. Omachi T., Kawai Y., Mizuno R., Nomiya T., Miyagawa Sh., Ohhashi T., Nakayama J. Immunohistochemical demonstration of proliferating lymphatic vessels in colorectal carcinoma and its clinicopathological significance. *Cancer Lett.* 2007; 246 (1–2): 167–72.
22. Бгатова Н.П., Мешалкин Ю.П., Изаак Т.И., Шедина В.В., Коробчевская К.Ю., Пожидаева А.А. и др. Микроциркуляторное русло экспериментальной лимфосаркомы и метастазирование опухолевых клеток при введении наночастиц. *Бюллетень СО РАМН*. 2008; 5: 18–25.
23. Vartanian A. Signaling pathways in tumor vasculogenic mimicry. *Biochemistry (Moscow)*. 2012; 77 (9): 1044–55.
24. He Y., Rajantie I., Ilmonen M., Makinen T., Karkkainen M.J., Haiko P. et al. Preexisting lymphatic endothelium but not endothelial progenitor cells are essential for tumor lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res.* 2004; 64: 3737–40.
25. He Y., Rajantie I., Pajusola K., Jeltsch M., Holopainen T., Yla-Herttuala S., Harding T. et al. Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels. *Cancer Res.* 2005; 65(11): 4739–46.
26. Фридман М.В., Демидчик Ю.Е. Ангиогенез и рак – медико-биологическое значение, методы оценки, перспективы дальнейшего изучения. *Онкологический журнал*. 2009; 3(2): 82–90.
27. Bono P., Wasenius V.-M., Heikkilä P., Lundin J., Jackson D.G., Joensuu H. High LYVE-1-positive lymphatic vessel numbers are associated with poor outcome in breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 7144–9.
28. Dadras S.S., Paul Th., Bertoincini J., Brown L.F., Muzikansky A., Jackson D.G. et al. Tumor lymphangiogenesis a novel prognostic indicator for cutaneous melanoma metastasis and survival. *Am. J. Pathol.* 2003; 162: 1951–60.

## REFERENCES

1. Chekhonin V.P., Shein S.A., Korchagina A.A., Gurina O.I. The role of VEGF in the development of neoplastic angiogenesis. *Vestnik RAMN*. 2012; 2: 23–33. (in Russian)

2. Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat. Rev. Cancer.* 2002; 2 (10): 795–803.
3. Ferrara N., Gerber H.P., Le Couter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* 2003; 9 (6): 669–76.
4. Stepanova O. I., Krylov A. V., Liudyno V. I., Kisseleva E. P. Gene expression for VEGF-A, VEGF-C, and their receptors in murine lymphocytes and macrophages. *Biochemistry (Moscow).* 2007; 72 (11): 1194–8.
5. Mor F., Quintana F.J., Cohen I.R. Angiogenesis-inflammation cross-talk: VEGF is secreted by activated T-cells and induces Th1 polarization. *J. Immunol.* 2004; 172: 4618–23.
6. Huang Y., Chen X., Dikov M. M., Novitskiy S. V., Mosse A., Yang L. and Carbone D. P. Distinct roles of VEGFR-1 and -2 in the aberrant hematopoiesis associated with elevated levels of VEGF. *Blood.* 2007; 110: 624–31.
7. Xiaolei Wang, Ximei Chen, Jianping Fang, Changqing Yang. Overexpression of both VEGF-A and VEGF-C in gastric cancer correlates with prognosis, and silencing of both is effective to inhibit cancer growth. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2013; 6(4): 586–97.
8. Ying-Chun Zhao, Xiao-Jian Ni, Yong Li, Min Dai, Zhong-Xu Yuan, Yong-Yun Zhu, Chuan-Yu Luo. Peritumoral lymphangiogenesis induced by vascular endothelial growth factor C and D promotes lymph node metastasis in breast cancer patients. *World J. Surg. Oncol.* 2012; 10: 165.
9. Parsunkova K.A., Mikhaylova I.N., Evsegneeva I.V., Petenko N.N., Karaulov A.V., Baryshnikov A.Yu. et al. A comparative content analysis of S100, CD44, TGF b2, VEGF-A in the serum of patients with disseminated melanoma on the background of vaccine therapy. In: *Proceedings of the VI International Conference on «Molecular Medicine and Biosafety» [Materialy VI Mezhdunarodnoy konferentsii «Molekulyarnaya meditsina i bio-bezopasnost'»]*. Moscow: 2009: 178–81. (in Russian)
10. Achen M.G., Stacker S.A. Molecular control of lymphatic metastasis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008; 1131: 225–34.
11. Shayan R., Achen M.G., Stacker S.A. Lymphatic vessels in cancer metastasis: bridging the gaps. *Carcinogenesis.* 2006; 27 (9): 1729–38.
12. Al-Rawi M.A.A., Mansel R.E., Jiang W.G. Lymphangiogenesis and its role in cancer. *Histol. and Histopathol.* 2005; 20: 283–98.
13. Treshchalina E. M., Zhukova O. S., Gerasimova G. K., Andronova N. V., Garin A. M. *The Guidelines for Conducting Pre-clinical Testing of Medicines [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv.]* Moscow: Grif i K; ch.1: 2012; 642–57. (in Russian)
14. Wong S.Y., Haack H., Crowley D., Barry M., Bronson R.T., Hynes R.O. Tumor-secreted vascular endothelial growth factor-C is necessary for prostate cancer lymphangiogenesis, but lymphangiogenesis is unnecessary for lymph node metastasis. *Cancer Res.* 2005; 65 (21): 9789–98.
15. Oliver G., Detmar M. The rediscovery of the lymphatic system: old and new insights into the development and biological function of the lymphatic vasculature. *Genes and Dev.* 2002; 16 (7): 773–83.
16. Hirakawa S., Detmar M. New insights into the biology and pathology of the cutaneous lymphatic system. *J. Dermatol. Sci.* 2004; 35 (1): 1–8.
17. Farnsworth R.H., Achen M.G., Stacker S.A. Lymphatic endothelium: An important interactive surface for malignant cells. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2006; 19 (1): 51–60.
18. Pathak A.P., Artemov D., Neeman M., Bhujwala Z.M. Lymph node metastasis in breast cancer xenografts is associated with increased regions of extravascular drain, lymphatic vessel area, and invasive phenotype. *Cancer Res.* 2006; 66: 5151–8.
19. Zeng Y., Opekin K., Goad J., Williams T.D. Tumor-induced activation of lymphatic endothelial cells via vascular endothelial growth factor receptor-2 is critical for prostate cancer lymphatic metastasis. *Cancer Res.* 2006; 66 (1): 9566–75.
20. McColl B.K., Stacker S.A., Achen M.G. Molecular regulation of the VEGF family – inducers of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 2004; 112 (7–8): 463–80.
21. Omachi T., Kawai Y., Mizuno R., Nomiya T., Miyagawa Sh., Ohhashi T., Nakayama J. Immunohistochemical demonstration of proliferating lymphatic vessels in colorectal carcinoma and its clinicopathological significance. *Cancer Lett.* 2007; 246 (1–2): 167–72.
22. Bgatova N.P., Meshalkin Yu.P., Izaak T.I., Shedina V.V., Korobchevskaya K.Yu., Pozhidaeva A.A. et al. The microcirculatory bed of the experimental lymphosarcoma and metastasis of tumor cells with the introduction of nanoparticles. *Byulleten' SO RAMN.* 2008; 5: 18–25. (in Russian)
23. Vartanian A. Signaling pathways in tumor vasculogenic mimicry. *Biochemistry. (Moscow).* 2012; 77 (9): 1044–55.
24. He Y., Rajantie I., Ilmonen M., Makinen T., Karkkainen M.J., Haiko P. et al. Preexisting lymphatic endothelium but not endothelial progenitor cells are essential for tumor lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res.* 2004; 64: 3737–40.
25. He Y., Rajantie I., Pajusola K., Jeltsch M., Holopainen T., Yla-Herttuala S., Harding T. et al. Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels. *Cancer Res.* 2005; 65(11): 4739–46.
26. Fridman M.V., Demidchik Yu.E. Angiogenesis and cancer biomedical importance, methods of assessment, the prospects for further study. *Onkologicheskii zhurnal.* 2009; 3(2): 82–90. (in Russian)
27. Bono P., Wasenius V.-M., Heikkilä P., Lundin J., Jackson D.G., Joensuu H. High LYVE-1-positive lymphatic vessel numbers are associated with poor outcome in breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 7144–9.
28. Dadras S.S., Paul Th., Bertoncini J., Brown L.F., Muzikansky A., Jackson D.G. et al. Tumor lymphangiogenesis a novel prognostic indicator for cutaneous melanoma metastasis and survival. *Am. J. Pathol.* 2003; 162: 1951–60.

Поступила 06.02.15