

## ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

*И.И. Алентов, Н.С. Сергеева, Б.Я. Алексеев, Н.В. Маршутина, А.А. Крашенинников. Изучение диагностической чувствительности нового опухолеассоциированного белка HE4 при онкоурологических заболеваниях.* ФГБУ МНИОИ им. П.А. Герцена Минздрава РФ, Москва

HE4 принадлежит к семейству кислых белков сыворотки молока (WAP). Показана диагностическая значимость данного антигена при раке яичников и эндометрия, однако данные о диагностической чувствительности HE4 для злокачественных новообразований других локализаций пока единичны.

Цель работы – оценить диагностическую значимость сывороточных уровней HE4 у первичных онкоурологических больных.

В исследовании проанализированы результаты определения уровня HE4 в сыворотке крови (СК) 110 первичных онкоурологических больных (мужчин): 48 – с раком почки (РП), 26 – с раком предстательной железы (РПЖ) и 36 – с раком мочевого пузыря (РМП). В качестве дискриминационного уровня (ДУ) HE4 использовали значение 70 пмоль/л.

Для всей обследованной группы больных РП средний уровень HE4 составил  $95,8 \pm 9,2$  пмоль/л. Доля случаев превышения ДУ HE4 у пациентов со светлоклеточным РП составила 41,9%. У больных хромофобным и папиллярным РП уровень HE4 был повышен в 55,6% и 75% случаев, соответственно. Частота превышения порогового уровня HE4 среди больных РПЖ составила 19,2%. Среди больных РМП сывороточные уровни HE4 превышали верхнюю границу нормы в 27,8% случаев, среднее значение маркера составило  $76,5 \pm 8,9$  пмоль/л.

Полученные данные отражают начальный этап исследования HE4 у мужчин с опухолями мочеполовых органов и обосновывают целесообразность дальнейшего изучения HE4 как возможного серологического опухолеассоциированного маркера в онкоурологии.

*Л.В. Ардатова, А.А. Кравец, В.С. Славгородский. Скрининг рака предстательной железы с учетом соотношения ПСА свободного и ПСА общего.* НУЗ Дорожная клиническая больница на станции Самара

В период с 2011–2012 гг. нами было обследовано 2018 мужчин с различным уровнем ПСА общего. Из них 939 мужчин соответствовало критерию отбора. В нашем случае мы хотели оценить вероятность обнаружения рака простаты с уровнем простатспецифического антигена (ПСА) от 4–20 нг/мл «серая зона», когда соотношение ПСА свободного и ПСА общего равно 13% и более, при диагностическом уровне от 13% и менее. Наибольшие трудности возникали при интерпретации данных по содержанию ПСА общего в отношении мужчин с уровнем ПСА общего от 4–20 нг/мл.

Для этих случаев мы использовали неинвазивную серологическую диагностику, т. е. соотношение 2-х серологических форм ПСА. Не было статистически достоверной разницы между группами: доброкачественной гиперплазии предстательной железы и раком предстательной железы – касательно возраста, уровня ПСА общего.

Показателем скрининга рака предстательной железы с учетом соотношения ПСА свободного и ПСА общего. При данном исследовании снижается уровень диагностических биопсий у пациентов с уровнем ПСА общий от 4–20 нг/мл, в нашем случае 21%. Однако доля ПСА свободного имеет диагностическое значение, главным образом, для нелеченных больных, поскольку терапия может изменить этот показатель, в нашем случае 4,3%.

**Выводы.** 1) для снижения количества диагностических биопсий у пациентов с уровнем ПСА общего от 4–20 нг/мл, необходимо определять соотношение ПСА свободного и ПСА общего; 2) определение уровня ПСА свободного в динамике позволяет контролировать эффективность терапии и осуществлять ее коррекцию.

*И.В. Бабкина, И.Н. Кузнецов, И.В. Булычева, Ю.Н. Соловьев, Н.Е. Кушлинский. Интерлейкины в сыворотке крови больных опухолями костей.* ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цитокины – это собирательное название для секретируемых лейкоцитами и другими клетками организма молекул, опосредующих межклеточные взаимодействия. В настоящее время известно более ста цитокинов. Цитокины, действующие на клетки иммунной системы, подразделяют на несколько групп: интерлейкины (факторы взаимодействия между лейкоцитами), интерфероны (цитокины с противовирусной активностью), факторы некроза опухолей (цитокины с цитотоксической активностью), колоннестимулирующие факторы (гемопоэтические цитокины), хемокины (цитокины, отвечающие за подвижность и адгезию).

Цель исследования – изучение уровней интерлейкинов (IL) IL-2, IL-6, IL-16 в сыворотке крови больных опухолями костей до начала специфического лечения и у практически здоровых людей.

Обследовали 134 больных опухолями костей (доброкачественные – 6, пограничные (гигантоклеточная опухоль кости – ГКО) – 22, злокачественные – 106 (остеосаркома – 45, хондросаркома – 24, опухоль Юинга – 27, злокачественная фиброзная гистиоцитома (ЗФГ) – 7, хордома – 3) в возрасте от 14 до 75 лет (медиана – 25 лет). В качестве контроля были использованы сыворотки крови 17 практически здоровых людей (8 мужчин и 9 женщин) в возрасте от 17 до 60 лет (медиана – 22,5). У всех больных диагноз установлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли. Определение IL-16, проводили с помощью наборов реактивов фирмы «Biosource» (США), IL-6 – «R&D», (США), IL-2 – «Bender MedSystems» (Австрия) до начала специфического лечения.

Показатели IL-16 отличные от нуля выявлены в образцах сыворотки крови 124 (93%) больных. Среднее содержание IL-16 при доброкачественных опухолях костей составило  $34,4 \pm 2,0$  пг/мл, и достоверно не отличалось от таковых показателей у больных пограничными ( $28,9 \pm 2,3$  пг/мл) и злокачественными опухолями костей ( $33,0 \pm 1,8$  пг/мл). Различий в содержании IL-16 в сыворотке крови с учетом морфологического строения опухоли при злокачественных новообразованиях костей не выявили. При периостальном варианте строения остеосаркомы уровни IL-16 были ниже, чем при типичном и паростальном, однако статистический анализ достоверных различий не выявил. Взаимосвязи между размером первичного новообразования кости и содержанием IL-16 в сыворотке крови не обнаружено ( $r = 0,38, p = 0,94$ ).

IL-6 определяли у 63 больных (доброкачественные – 5, пограничные (ГКО) – 12) злокачественные – 46). Частота выявления IL-6 в сыворотке крови практически здоровых людей составила 52%, у пациентов с новообразованиями костей – 95%. Среднее содержание IL-6 в сыворотке крови практически здоровых людей в среднем составило  $0,4 \pm 0,1$  пг/мл (пределы колебаний 0–2,1). При новообразованиях костей средний уровень IL-6 в крови был выше, чем у практически здоровых людей и составил  $15,9 \pm 4,4$  пг/мл, достоверных различий в уровнях IL-6 с учетом пола и возраста больных, не отмечено. При поражении опухолью трубчатых костей уровни IL-6 в крови были выше, чем при поражении плоских, однако различия также были статистически не достоверными. При доброкачественных новообразованиях костей средний уровень IL-6 в сыворотке крови в среднем составил  $1,2 \pm 0,4$  пг/мл и был достоверно выше, чем у практически здоровых людей и значительно ниже, чем у больных злокачественными опухолями костей ( $17,1 \pm 4,7$  пг/мл). Анализ содержания IL-6 в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей с учетом гистологического строения опухоли

показал, что при остеосаркоме концентрация IL-6 в среднем составила  $6,9 \pm 2,4$  пг/мл, что в 14 раз достоверно выше, по сравнению с практически здоровыми людьми. У 5 больных, с локализацией опухоли в бедренной кости в течение первых трех месяцев с момента обращения в клинику были обнаружены метастазы в легких. Содержание IL-6 в сыворотке крови при первичном обследовании было достоверно выше, чем у больных без метастазов –  $15,2 \pm 10,1$  и  $3,9 \pm 1,0$  пг/мл соответственно. При опухоли Юинга среднее содержание IL-6 составило  $19,1 \pm 8,1$  пг/мл, при хондросаркоме –  $15,5 \pm 10,4$  пг/мл и было значительно выше, чем у практически здоровых людей, больных доброкачественными новообразованиями кости и остеосаркомой. Максимальные средние уровни IL-6 выявлены у пациентов с ЗФГ –  $25,8 \pm 11,9$  пг/мл. При пограничных опухолях костей (ГКО) средние уровни IL-6 были выше, чем у практически здоровых людей, больных доброкачественными и злокачественными новообразованиями костей и составили  $29,6 \pm 18,3$  пг/мл.

Содержание IL-2 изучали в сыворотке крови 67 больных опухолями костей (доброкачественные – 8, пограничные (ГКО – 9), злокачественные – 50), в возрасте 14-50 лет, контрольная группа состояла из 10 практически здоровых людей соответствующего возраста. Значимых уровней IL-2 в сыворотке крови практически здоровых людей не обнаружили. При опухолях костей только у одной пациентки с остеосаркомой бедра содержание IL-2 в сыворотке крови было выше предела чувствительности метода ( $9,9$  пг/мл) и составило  $17,60$  пг/мл.

Частота выявления IL-16 в сыворотке крови при новообразованиях костей составила 93%, достоверных различий в уровнях в IL-16 с учетом гистологического строения новообразования не выявлено. Взаимосвязи между размером первичной опухоли и содержанием IL-16 в сыворотке крови не обнаружено. Частота выявления и содержание IL-6 в крови практически здоровых людей достоверно ниже, чем у пациентов с новообразованиями костей. Это является косвенным подтверждением экспериментальных данных о способности, как опухолевых клеток, так и клеток, охваченных воспалительным процессом, продуцировать IL-6. IL-2 в образцах сыворотки крови практически здоровых людей отсутствовал. При опухолях костей только у 1 больной (1,4%) без сопутствующей патологии выявлен значимый уровень IL-2.

**Д.В. Буланов. Оценка прогностически значимых молекулярно-биологических и иммуногистохимических характеристик опухолей семейства саркомы Юинга.** Европейский медицинский центр, Москва

В последние годы все больше внимания уделяется молекулярным и клеточным маркерам, характеризующим фундаментальные биологические свойства различных опухолей. С конца 1990-х гг. в литературе стал общепринятым термин «опухоли семейства саркомы Юинга» (ОССЮ), объединяющий классическую саркому Юинга кости, ее экстраклеточный аналог – периферическую примитивную нейроэктодермальную опухоль кости (pPNET) и злокачественную мелкоклеточную опухоль торакопульмональной зоны (опухоль Аскина). Однако, несмотря на значительный прогресс онкологии в области костной патологии, до настоящего времени остается много неясного в вопросах диагностики мелкоклеточных опухолей костей и мягких тканей. Общеизвестно, что патоморфологические особенности ОССЮ, выявляемые при гистологическом исследовании, являются недостаточными для установления окончательного диагноза, что диктует необходимость поиска иммуногистохимических и цитогенетических маркеров и определения их прогностической значимости для данного вида опухолей. Предполагается, что учет иммуноморфологических и цитогенетических особенностей может послужить важнейшим инструментом выработки стратегии лечения ОССЮ.

Исследования проводили на биопсийном и операционном материале патологоанатомического отделения Московской городской онкологической больницы № 62, полученном от

84 больных, находившихся на лечении с 1998 по 2010 г. Исследованный материал был разделен на 2 группы: 1 группа (основная) – биопсийный материал, полученный от 35 больных с морфологически верифицированным диагнозом ОССЮ (24 мужчины, 11 женщин, медиана возраста составила 26,8 лет). Больные с ОССЮ ( $n = 35$ ) были разделены на 1-ю возрастную группу, которую составили пациенты от 20 до 30 лет ( $n = 24$ ), и 2-ю возрастную группу – пациенты старше 30 лет ( $n = 11$ ). В зависимости от наличия признаков прогрессирования заболевания (наличие отдаленных метастазов, продолженный рост опухоли, местный рецидив) данная группа больных была разделена на следующие подгруппы: при отсутствии метастазов (период наблюдения составил от 2 до 12 лет;  $n = 17$ ) и наличии метастазов ( $n = 18$ ). В исследуемую группу вошли: 25 случаев первичной саркомы Юинга кости, 8 – pPNET мягких тканей, включая забрюшинное пространство и внутриорганный локализацию, 2 – опухоль Аскина с локализацией в переднем средостении. Длительность наблюдения за больными составила от 2-х до 12 лет (в среднем – 7 лет). 2 группа (контрольная) – биопсийный материал, полученный от 49 больных с морфологически верифицированными диагнозами злокачественных опухолей костей и мягких тканей, имеющих сходный с ОССЮ морфологическую картину и иммунофенотип (32 мужчины, 17 женщин, медиана возраста – 32,6 лет).

Морфологическое исследование фрагментов ткани опухоли, фиксированных забуференным формалином, включало в себя микроскопическое исследование серийных срезов окрашенных рутинными методами (гематоксилин-эозин) с применением в части случаев декальцинации. Для гистологического исследования биопсийного материала использовали традиционный метод парафиновой заливки (не менее 8 образцов опухоли в каждом случае, взятых, в том числе на границе с окружающими тканями, а также из краев резекции). Гистологические срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином с применением дополнительных методик окрашивания опухолевых клеток (окрашивание по Гимзе) и гистохимических методов (ШИК или PAS – реакция). Иммуногистохимическое исследование осуществляли на срезах с парафиновых блоков толщиной 3–4 мкм авидин-биотино-пероксидазным методом по стандартной методике, с использованием первичных антител («Dako», Novocastra™): Vax, Bcl-2, PCNA, Ki-67, p53. В качестве вторичных антител использовали биотинилированные антитела к иммуноглобулинам мыши и кролика (EnVision, «Dako», Novocastra™). Оценивали частоту обнаружения исследуемых иммуногистохимических маркеров в ткани опухоли, рассчитанную как величину, выраженную в процентах и характеризующую количество случаев больных с ОССЮ, в образцах опухолевой ткани которых обнаружены иммунопозитивные клетки с использованием формулы  $v = n^1/n \times 100$  ( $v$  – частота обнаружения иммуногистохимического маркера,  $n^1$  – количество случаев больных с ОССЮ, в образцах опухолевой ткани которых обнаружены иммунопозитивные клетки для исследуемого иммуногистохимического маркера,  $n$  – общее количество больных исследуемой группы). Оценивали удельное количество позитивно окрашенных опухолевых клеток, экспрессирующих следующие маркеры клеточной пролиферации и апоптоза: Vax, Bcl-2, PCNA, Ki-67, p53. Удельное количество позитивно окрашенных клеток оценивали в 10 полях зрения ( $\times 400$ , минимум в 1000 клетках препарата) стандартизированными методами морфометрии в иммуногистохимии с помощью системы анализа изображений, программы «Видеогест-Морфо-4». Молекулярно-генетическое исследование. Для выявления трех наиболее характерных для опухолей семейства саркомы Юинга химерных онкогенов (*EWS/FLI1* type1, *EWS/FLI1* type2, *EWS/ERG*) использовали метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (Real Time PCR). Материалом для молекулярного исследования служила тотальная РНК, выделенная из биопсийного материала больных саркомой Юинга ( $n = 30$ ) после фиксации забу-

ференным формалином и парафиновой заливки. Выделение тотальной РНК из парафиновых блоков. Выделение тотальной РНК производили из 2–3 микротомных срезов толщиной 10 микрон с парафиновых блоков, в зоне, содержащей опухолевый материал, после предварительного просмотра гистологических препаратов, окрашенных гематоксилин-эозином.

При иммуногистохимическом исследовании серийных парафиновых срезов образцов тканей ОССЮ выявили различную частоту обнаружения изучаемых маркеров: маркер клеточной пролиферации Ki-67 и ядерный фактор PCNA обнаруживались в ОССЮ у всех обследованных пациентов. Более чем у половины пациентов в исследованных биоптатах СЮ обнаружена экспрессия белков p53, Bcl-2 и Вах, в 62,1, 37,8 и 34,5% случаев соответственно. Сравнительная характеристика иммуногистохимических маркеров в изучаемых возрастных группах показала ряд отличий. Оценка отличий экспрессии изучаемых иммуногистохимических маркеров показала, что в исследуемых возрастных группах они, в первую очередь, были характерны для белка p53 и Bcl-2. Экспрессию белка p53 в ОССЮ у больных 1-й группы обнаруживали в 1,4 раза чаще ( $p < 0,05$ ), в то же время протеин Bcl-2 выявлялся в 3,1 раза чаще ( $p < 0,05$ ) у больных 2-й возрастной группы. Установлено, что экспрессия факторов пролиферации Ki-67 и PCNA в ОССЮ обнаружена одинаково часто при наличии или отсутствии метастазов. Белок p53 в 1,7 раза чаще ( $p < 0,05$ ) был выявлен в опухолях у больных с метастазами. В первичной опухоли частота обнаружения экспрессии маркера Bcl-2 определялась на 11% реже при наличии метастазов. Наиболее выраженные отличия были обнаружены при исследовании маркера Вах: отсутствие метастазов у больных с ОССЮ ассоциировалось с его обнаружением в опухоли у 53,3% больных, в то время как при наличии метастазов данный белок был обнаружен только в 14,3% случаев. Частота обнаружения экспрессии белка p53 в опухоли при наличии метастазов была в 2,4 раза выше, чем при их отсутствии ( $p < 0,05$ ). Результаты молекулярно-генетического исследования показали, что в 5 случаях из 27 (18,7%) не удалось выявить транскриптов ни одного из исследуемых генов, что, в целом, соответствует мировым данным: устойчивые транслокации выявляются в среднем у 85% пациентов с доказанным диагнозом саркомы Юинга. В 21 из 22 (95,4%) позитивных случаев ОССЮ определяли транслокацию *EWS/FLI1* type1, в одном случае – транслокация *EWS/FLI1* type2. Транслокация типа *EWS/ERG* в данной группе больных выявлена не была. Наиболее часто выявляемый тип мутации – t(11;22)(q24;q12), обнаруживаемый в опухолях семейства саркомы Юинга. Согласно полученным данным, выявление специфических транслокаций в ОССЮ с помощью Real-time PCR является надежным диагностическим методом, позволяющим подтвердить или установить диагноз, как минимум, в 80% наблюдений.

Выявление значимых различий в удельном количестве иммунореактивных клеток и частоты их обнаружения при исследовании белков контролирующих процессы апоптоза имеет большое значение. Механизм регуляции этого процесса целесообразно рассматривать с позиции структурно-функциональных взаимоотношений между белками регулирующими процесс апоптоза, с учетом выраженности мутаций гена p53. Регуляция функциональной активности белков семейства Bcl-2 посредством определенных сигнальных молекул и путей, активируемых ими, является перспективной задачей с целью воздействия на опухолевую клетку. В последние годы экспрессия белков p53 и Bcl-2 была исследована в различных злокачественных новообразованиях. Согласно полученным нами данным, выявлены прямые корреляционные связи между ростом удельного количества p53 и Bcl-2-иммунопозитивных клеток и частоты их обнаружения в ОССЮ в группе больных с прогрессированием заболевания по сравнению с пациентами в состоянии ремиссии. Несмотря на установление связей между степенью выраженности экспрессии ряда белков и клиническим течением ОС-

СЮ, показано, что исследование одного какого-либо иммуногистохимического маркера не обеспечивает необходимой базы для прогнозирования течения заболевания. Результаты настоящего исследования позволяют предложить для дифференциальной диагностики ОССЮ использовать наряду с качественными иммуноморфологическими методами количественную оценку изучаемых маркеров, а также Real Time PCR для выявления специфически транслокаций.

**Ж.П. Васнева, Е.В. Соснина, Л.В. Беляева. Распределение уровней СА 125 у женщин с доброкачественными и злокачественными новообразованиями яичников.** ОАО Самарский диагностический центр

Ранее было показано, что повышенные уровни СА 125 при скрининговом обследовании женщин старше 70 лет регистрировались в 6,8% случаев. Целью данной работы явилось исследование распределения СА 125 у женщин с новообразованиями яичников. В периферической крови 500 женщин (средний возраст (СВ) 51,8 лет) в 2012 г. определяли уровни СА 125 (ДК – 35,0 МЕ/мл) с использованием ИФТС («DRG», Германия). Статистическую обработку производили с помощью Statistica 5.5. Средний уровень СА 125 в совокупной группе женщин –  $71,2 \pm 36,0$  МЕ/мл. Доброкачественные новообразования у пациенток по направительному диагнозу (СВ – 50,6) отмечались в 84,8% случаев. Средний уровень СА 125 составил  $22,3 \pm 8,5$  (до 50 лет – 33,1; 50–70 лет – 13,1; > 70 лет – 9,9) МЕ/мл. Повышенные уровни СА 125 (> ДК) отмечены в 3,5% случаев, в равной степени в каждой возрастной группе (средний уровень СА 125 –  $350,2 \pm 233,0$  МЕ/мл). У оставшихся 96,5% пациенток уровень СА 125 составил  $10,7 \pm 0,57$  МЕ/мл. Злокачественные новообразования у пациенток (СВ – 58,4) по направительному диагнозу отмечались в 15,2% случаев, уровень СА 125 –  $343,9 \pm 230,3$  (до 50 лет – 13,9; 50–70 лет – 567,3; > 70 лет – 29,2) МЕ/мл. Повышенный уровень СА 125 в данной группе отмечался в 9,2% случаев (уровень СА 125 –  $3626,3 \pm 2285,1$  МЕ/мл), 71,4% случаев был в возрасте 50–70 лет. В остальных 90,8% случаях уровень СА 125 составил  $11,7 \pm 2,0$  МЕ/мл, все 17 пациенток в процессе лечения попали в эту группу. Таким образом, можно заключить, что у 3,5% женщин с доброкачественными новообразованиями яичников по направительному диагнозу регистрируются высокие уровни СА 125 в каждой возрастной группе.

**Ж.П. Васнева, Е.В. Соснина, Л.В. Беляева. Распределение уровней ПСА у мужчин с доброкачественными (ДГПЖ) и злокачественными (РПЖ) новообразованиями простаты.** ОАО Самарский диагностический центр

Ранее было показано, что повышенные уровни ПСА общего при скрининговом обследовании мужчин старше 70 лет регистрировались в 7% случаев. Целью работы явилось исследование распределения ПСА общего у мужчин с новообразованиями простаты. В периферической крови 1000 мужчин (средний возраст (СВ) 68 лет) в 2012 г. определяли уровни ПСА общего (ДК – 4,0 нг/мл) и ПСА свободного с использованием ИФТС («DRG», Германия). Статистическую обработку производили с помощью Statistica 5.5. Средний уровень ПСА общего в совокупной группе мужчин –  $11,1 \pm 3,2$  нг/мл, ПСА свободного –  $1,1 \pm 0,1$ . Пациенты с ДГПЖ по направительному диагнозу (СВ – 67,5) отмечались в 89,0% случаев. Средний уровень ПСА общего –  $2,96 \pm 0,25$  нг/мл, ПСА свободного –  $0,97 \pm 0,1$  (до 50 лет – 0,87; 50–70 лет – 1,8; > 70 лет – 2,2) нг/мл. Повышенные уровни ПСА общего (> ДК) отмечались в 14,3% случаев (средний уровень ПСА общего –  $11,67 \pm 2,2$  нг/мл). Средний уровень ПСАобщ. у оставшихся 85,7% пациентов –  $1,56 \pm 0,07$  нг/мл. Пациенты с РПЖ (СВ – 72,6) по направительному диагнозу отмечались в 11,0% случаев. Средний уровень ПСАобщ. –  $77,3 \pm 28,1$  (50–70 лет – 61,45; > 70 лет – 84,7) нг/мл, ПСАсвоб. –  $1,78 \pm 0,42$ . Повышенные уровни ПСАобщ. отмечались в 45,5% случаев (СВ – 73,6, средний уровень ПСАобщ. –  $172,0 \pm 60,8$  нг/мл). В остальных 54,5% случаях (СВ – 71,7) средний уровень ПСАобщ. –  $1,15 \pm 0,12$  нг/мл. Таким образом, можно заключить,

что у мужчин как с ДППЖ, так и с РПЖ повышенные уровни ПСАобщ регистрируются значительно чаще, чем при скрининговом обследовании популяции.

*Е.С. Герштейн, Д.Н. Кушлинский, О.И. Костылева, В.Д. Ермилова, Ю.В. Крюк, А.В. Масляев, Л.И. Короленкова.*  
**Инсулиноподобные факторы роста и связывающие их белки в сыворотке крови больных опухолями женской репродуктивной системы: клинико-морфологические корреляции.** ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Сигнальная система инсулиноподобных факторов роста играет важнейшую роль в возникновении и прогрессии различных злокачественных опухолей. Она включает инсулиноподобные факторы роста 1 и 2 типа (ИФР-1 и ИФР-2) – митогенные пептиды, высокомолекулярные друг другу и инсулину, трансмембранные рецепторы ИФР, а также связывающие белки крови (ИФРСБ), которые образуют сложно регулирующую сеть взаимодействий как между собой, так и с другими биологическими регуляторами роста и выживаемости клеток. В экспериментальных исследованиях продемонстрировано участие ИФР на всех стадиях развития опухолевого процесса: злокачественной трансформации клеток, роста опухоли, местной инвазии и отдаленного метастазирования, устойчивости к лечению.

Цель исследования – изучить уровни и соотношение различных компонентов ИФР-сигнальной системы в сыворотке крови больных различными онкологическими заболеваниями, сопоставить полученные данные с морфологическими и клиническими параметрами, характеризующими пролиферативный, инвазивный и метастатический потенциал, а также васкуляризацию опухолей.

В исследование вошли 79 больных раком молочной железы (у 29 из них до и после хирургического удаления опухоли), 64 больных с различными эпителиальными поражениями шейки матки и 65 практически здоровых женщин в качестве группы контроля. В сыворотке крови пациентов определяли содержание ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-1 и ИФРСБ-3 с помощью стандартных наборов реактивов для иммуноферментного анализа фирмы «Mediagnost GmbH» (Германия). У 13 больных новообразованиями яичников содержание ИФР/ИФРСБ одновременно определено в сыворотке крови, лизатах опухоли и асцитической жидкости. При сравнении и анализе взаимосвязи показателей использовали непараметрические критерии: парный тест Вилкоксона, тест Манна–Уитни и тест корреляции рангов Спирмена (R). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica (версия 8.0).

Показано, что содержание ИФР-1 в сыворотке крови женщин контрольной группы достоверно выше, чем у больных РМЖ как до, так и после лечения. Уровень ИФР-2, напротив, оказался достоверно выше у больных РМЖ, чем в контрольной группе. Продemonстрирована также противоположная зависимость сывороточного содержания двух факторов роста от состояния репродуктивной функции больных РМЖ: уровень ИФР-1 достоверно выше у больных репродуктивного возраста, чем у больных в постменопаузе, а содержание ИФР-2, напротив, выше у пожилых пациенток, находящихся в постменопаузе, чем у более молодых больных. Таким образом, косвенно подтвердилась взаимосвязь экспрессии и продукции ИФР с гормональным статусом женщин. Продemonстрирована также взаимосвязь сывороточных концентраций ИФР-1 с рецепторным статусом РМЖ: уровень этого фактора роста был достоверно выше в сыворотке крови больных с опухолями, положительными по рецепторам прогестерона (РП), по сравнению с пациентками с РП-отрицательными опухолями. ИФР-1 был также выше у больных с HER2/неу-негативными опухолями, чем у пациенток с HER2/неу-позитивными опухолями. Достоверной взаимосвязи уровней ИФР-1 в сыворотке крови больных РМЖ со статусом рецепторов эстрогенов (РЭ) в опухоли не выявлено. Уровень ИФР-2 практически не зависел от рецепторного статуса

РМЖ. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что высокий уровень ИФР-1 ассоциирован с прогностически более благоприятными типами РМЖ, зависимыми от экзогенных гормонов и не имеющими рецепторов эпидермального фактора роста, способствующих проявлению автономной пролиферативной активности. В то же время, взаимосвязи уровней ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови с гистологическим типом опухоли не обнаружено. Не выявлено также связи исходных уровней ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови больных РМЖ с показателями распространенности процесса по системе TNM.

Продemonстрировано несколько значимых закономерностей, характеризующих роль ИФР-сигнальной системы в патогенезе рака шейки матки. Из 64 обследованных больных с различными эпителиальными поражениями шейки матки у 34% была цервикальная интраэпителиальная гиперплазия (CIN) 1-2, у 11% - микрокарцинома шейки матки IA стадии (мРШМ), и у 55% - инвазивный РШМ 1В и более стадии. Эти степени повреждений представляют собой важнейшие этапы цервикального канцерогенеза: запуск опухолевой трансформации (CIN1-2), выход неоплазированного эпителия за базальную мембрану (мРШМ) и очевидно инвазивный процесс (РШМ). Так же, как при РМЖ, обнаружено более низкое содержание ИФР-1 в сыворотке крови больных инвазивным раком по сравнению с контролем, менее выраженное снижение уровней ИФР-1 выявлено и на начальных этапах заболевания. Аналогичную закономерность наблюдали для ИФР-2: его содержание в сыворотке крови женщин группы контроля было значимо выше, чем в группе больных РШМ, но практически не отличалось от такового у больных CIN1-2 и мРШМ. При патологиях шейки матки выявлены также значимые нарушения в системе ИФР-связывающих белков крови. Наиболее высокие уровни ИФРСБ-1 в сыворотке крови обнаружены у больных РШМ, они были значимо выше, чем в контроле, однако достоверно не отличались от показателей больных CIN1-2 и мРШМ. Напротив, содержание ИФРСБ-3 в сыворотке крови больных РШМ было значимо меньше, чем у женщин группы контроля, и несколько ниже, чем у больных мРШМ. Эти результаты свидетельствуют о том, что уже при CIN1-2 происходит повышение уровня ИФРСБ-1 и снижение уровня ИФРСБ-3 в сыворотке крови, а при РШМ различия становятся значимыми, что свидетельствует об участии этих белков в цервикальном канцерогенезе.

Содержание ИФР-1 в сыворотке крови 13 обследованных больных раком яичников было достоверно ниже, чем в контроле; содержание ИФРБП-1 в несколько раз выше, чем в контроле, а уровни ИФР-2 и ИФРСБ-3 достоверно не отличались от контрольной группы. Только в единичных случаях в ткани опухоли обнаружен ИФР-1, тогда как остальные белки присутствовали во всех исследованных образцах. Выявлены значимые корреляционные взаимосвязи между сывороточными уровнями ИФР-1 и ИФРСБ-1 ( $r = -0,69; p = 0,009$ ); ИФР-1 и ИФРСБ-3 ( $r = 0,68; p = 0,01$ ); ИФР-2 и ИФРСБ-1 ( $r = -0,67; p = 0,012$ ); ИФР-2 и ИФРСБ-3 ( $r = 0,81; p = 0,0008$ ). Кроме того, обнаружена отрицательная корреляция уровней ИФР-1 в сыворотке и ИФРСБ-1 в опухоли ( $r = -0,57; p = 0,04$ ); положительная – между ИФР-1 в сыворотке и ИФРСБ-3 в асцитической жидкости ( $r = 0,61; p = 0,027$ ); между ИФР-2 в сыворотке и в асците ( $r = 0,60; p = 0,029$ ); между ИФР-2 в сыворотке и ИФРСБ-3 в асците ( $r = 0,65; p = 0,015$ ).

Предварительный анализ показал снижение уровней ИФР-1 в сыворотке крови больных опухолями женской репродуктивной системы по сравнению с контролем. Уровень ИФР-2 в сыворотке крови онкологических больных либо увеличивался, либо менялся незначительно. Продemonстрированы также разнонаправленные изменения уровней ИФР-связывающих белков сыворотки крови (увеличение ИФРСБ-1 и снижение ИФРСБ-3) при некоторых видах опухолей.

*Исследование поддержано РФФИ, грант № 12-03-00401.*

Ф.В. Доненко<sup>1</sup>, А.О. Кабиева<sup>2</sup>. **Сывороточные опухоль-специфические факторы – необходимое условие роста опухоли в организме.** <sup>1</sup>ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва; <sup>2</sup>РГП на ПХВ Казахский НИИ онкологии и радиологии МЗ Республики Казахстан, Алматы

Об опухоль-специфических сывороточных факторах говорят, когда описывают различные биологические эффекты сыворотки крови животных с опухолью (например, явление усиления метастазирования опухолей). Так Фишер и соавт. на примере 8 опухолей различного генеза показали последствия удаления первичного опухолевого узла в виде увеличения митотического индекса оставшихся опухолевых клеток. Авторы пришли к выводу, что существует опухоль-специфический сывороточный фактор, который ускоряет деление опухолевых клеток. Временной интервал между первой работой этой группы авторов, в которой они описали биологические эффекты опухоль-специфического сывороточного фактора, и второй работой, в которой описана неудачная попытка его идентификации, составляет около 10 лет, что указывает, с одной стороны, на интерес и значимость этой проблемы, а с другой – на ее сложность. Можно предположить, что проблемы в идентификации сывороточного фактора были связаны с тем, что удаление первичного опухолевого узла – это всегда сложная хирургическая операция с наркозом, кровопотерей, травматизацией нормальных тканей. Для исключения влияния этих весьма значимых факторов мы использовали в наших исследованиях в качестве основной экспериментальной модели асцитную карциному Эрлиха. Эта опухоль получена более 100 лет назад и в настоящее время растет на различных линиях мышей. Поэтому, если гипотетически представить наиболее агрессивную автономную опухоль, способную преодолевать межклеточные барьеры иммунологической совместимости, то это будет именно карцинома Эрлиха. Удаление данной опухоли сводится к прокалыванию брюшины инъекционной иглой и эвакуации различных количеств асцитной жидкости, содержащей опухолевые клетки. Поскольку опухолевые клетки свободно плавают в асцитной жидкости, то никакой раневой поверхности не образуется, а контактное торможение между ними отсутствует. Тем не менее, как оказалось, даже такая минимально травматичная процедура вызывает увеличение митотической активности оставшихся опухолевых клеток через 24 ч после удаления асцита. Причем увеличение митотической активности прямо пропорционально количеству удаленного асцита. Если исходное количество опухолевых клеток в фазе G2/M составляло около 15%, то при удалении 1,5 мл асцитной жидкости увеличивалось до 30%, а при удалении 5–6 мл возрастало до 80%. Но такой «взрыв» показателя митотической активности наблюдали только через 24 часа после удаления опухоли, а затем он снижался практически до исходного уровня. Возникает вопрос: как клетки «узнали», что их стало меньше? Контактного торможения в асците нет, а при удалении асцита концентрация клеток в асцитной жидкости не изменяется. Ответ очевиден. Некий фактор вырабатывается вне опухоли организмом-опухоленосителем в количестве, достаточном для деления 15% клеток. Когда часть клеток удаляют, то количества этого фактора становится достаточным для деления большего процента опухолевых клеток. Но почему через сутки митотическая активность опухолевых клеток снижается практически до исходного уровня? Ведь за сутки количество элиминированных опухолевых клеток не может восстановиться до исходного уровня. Здесь также ответ очевиден. Включается обратная связь, которая снижает выработку опухоль-специфического сывороточного фактора. Реальность существования обратной связи доказывает тот факт, что если у мышей через 7 ч после удаления асцитной жидкости взять иммунокомпетентные клетки (лейкоциты крови, перитонеальные клетки, клетки селезенки) и ввести интактным животным, то у них развивается состояние устойчивости к последующей перевивке опухоли. Этот эффект у экспериментальных животных нельзя вызвать

никакими другими экспериментальными методами (вакцинацией опухолевыми антигенами, убитыми опухолевыми клетками и т. д.). При заборе иммунокомпетентных клеток в другие временные интервалы после удаления асцита (например, через 3 или 10 ч) у мышей отмечается резкое замедление роста карциномы Эрлиха. Если в норме асцитная карцинома Эрлиха вызывает гибель мышей в течение 2 нед, то после введения иммунокомпетентных клеток мыши живут с асцитом до 3 месяцев. При этом, если у такой мыши взять асцит и ввести интактной мыши, то она погибнет от асцита в течение 2 нед. Этот экспериментальный факт позволяет утверждать, что клетки асцитной карциномы Эрлиха не утратили своей злокачественности, но проявить ее они могут только в том случае, если выработка опухоль-специфического сывороточного фактора не нарушена. Данное утверждение означает, что рост злокачественной клетки в организме возможен только при наличии опухоль-специфического сывороточного фактора.

Получены данные, что этот сывороточный фактор является сывороткой крови и вырабатывается печенью. Чтобы понять механизм влияния серпинов, необходимо учесть два экспериментальных факта. Первый – иммунокомпетентные клетки, ассоциированные с органами и тканями организма, содержат тканеспецифичный набор протеаз. Отметим, что протеазы могут быть высокоспецифичными. Так, например, протеаза *Klebsiella pneumoniae* разрушает белки-мишени, но при этом оставляет активными собственные белки микроорганизма. Вес протеазы составляет около 20 кДа, но этот белок распознает чужое. То есть бактерия имеет мощную и эффективную иммунную систему способную распознавать и уничтожать чужое. Многие протеазы млекопитающих имеют молекулярную массу до 100 кДа. Мы можем только предполагать, насколько сложная система распознавания заключена в этой молекуле. Второй факт – после взаимодействия серпинов с иммунокомпетентными клетками последние вырабатывают специфические катепсины. Мы высказали предположение, что вырабатываемые печенью серпины определяют в норме большинство биологических взаимодействий в организме. Взаимодействуя с иммунокомпетентными клетками, они защищают от действия их катепсинов определенное количество клеток определенного органа или ткани. Катепсины блокируют также рост клеток организма где-либо в другом месте вне родного органа. Это явление известно как хоминг эффект. Именно с синтезом печени серпинов, вероятно, связан эффект, который наблюдается при трансплантации этого органа. Известно, что при трансплантации печени выраженность иммунологических реакций организма против трансплантата очень снижена, что дает возможность около 30% больным не применять специальное иммунодепрессивное лечение. Подобный механизм толерантности, вероятно, имеют плоские гельминты шистоматоза (паразитируют в кровеносных сосудах и тканях организмов вне кишечника), которые вырабатывают серпины с высокой степенью гомологии с серпинами человека!? Показано, что именно эти серпины защищают паразита от иммунной системы организма хозяина.

Ранее в работах А.Г. Бабаевой было показано, что удаление одного из парных органов в организме крыс приводит к увеличению митотической активности клеток в оставшемся органе. Причем временные интервалы увеличения митотической активности (в ее работах максимум митотической активности отмечался через 17 ч) практически те же, что и временные интервалы увеличения митотической активности после удаления опухоли. Среди временных работ, которые подтверждают существование системы количественной регуляции роста тканей в организме, стоит упомянуть такой вид косметологических операций как липосакция. После операции липосакции развивается состояние липоматоза. В литературе, по понятным причинам, не удалось найти описания роста жировиков в подкожной клетчатке, но факты, когда жировики растут в пищеводе, трахее, под капсулой почки и угрожают жизни пациента,

скрыть гораздо сложнее. Жировая клетка по сути приобретает свойства злокачественной (рецидивирование и метастазирование). В обзоре E.Gorelik приведены литературные данные о том, что в организме регулируется не только количество опухолевых клеток, но и количество микроорганизмов и паразитов при хронических заболеваниях. Хронические инфекции очень тяжело поддаются лечению, так как спустя какое-то время развивается рецидив заболевания. Биологический смысл этого механизма состоит в следующем. Организм не может обеспечить стерильность кожных покровов и слизистых. Проще «прописать» определенные микроорганизмы в определенных участках слизистых и кожных покровов, чтобы эти микроорганизмы защищали данные участки от другой микрофлоры. В то же время серпины не позволяют развиваться этим микроорганизмам в других тканях и органах организма-хозяина (хеминг эффект). Сказанное выше также справедливо для микрохимизма. Явление микрохимизма заключается в том, что иммунная система организма хозяина не уничтожает чужеродные по главному комплексу гистосовместимости клетки. Таким образом, опухоль-специфические сывороточные факторы являются только частным случаем проявления регуляторной системы гомеостаза тканей и органов организмов.

Таким образом, явление регуляции различных метаболических процессов с помощью специфических протеаз и антипротеаз (серпинов) хорошо известны: эмбриогенез, коагуляция, фибринолиз, калликреин/кинин/кининогеновая система. В данной работе высказана гипотеза, что это явление регуляции еще более глобальное. Тот факт, что серпины филогенетически древние и очень консервативные в эволюции белки появляются в многоклеточных организмах, также может указывать на их участие в иммунной системе, которая количественно контролирует структуру органов и тканей.

*И.Н. Кабановская<sup>1</sup>, О.В. Лебединская<sup>1</sup>, А.Э. Выдрина<sup>1</sup>, В.В. Мочальникова<sup>2</sup>.* **Применение иммуногистохимического метода для характеристики лейкоцитарных инфильтратов при раннем раке желудка.** <sup>1</sup>ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера, <sup>2</sup>ГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Цель исследования – изучение иммуногистохимических особенностей лейкоцитарных инфильтратов в стенке желудка, пораженной опухолевым процессом. Исследовали биоптаты стенки желудка, взятые во время операции у 26 больных с аденокарциномой и перстневидно – клеточным раком I стадии. Средний возраст пациентов составил  $60,24 \pm 2,19$  лет. Визуализацию и фотосъемку проводили на микроскопе Micros в программе Score Photo. Анализ осуществляли в программе ImageJ. Для выявления экспрессии маркеров Т-лимфоцитов (CD3, CD8) и В-лимфоцитов (CD 20) использовали авидин-биотиновый метод. Подсчет количества позитивно и негативно окрашенных клеток проводили в квадратной закрытой тест-системе. Проведена статистическая обработка данных (Biostat 5). Выявлено, что численная плотность CD3-позитивных клеток примерно одинакова в очаговых и диффузных лейкоцитарных скоплениях (44,9 и 45,4% соответственно). Причем среди Т-лимфоцитов количество CD8<sup>+</sup> клеток статистически значимо отличается в первых и вторых типах инфильтратов (38,1 и 50% соответственно). В то же время концентрация В-лимфоцитов (CD20<sup>+</sup>) статистически значимо выше в очаговых инфильтратах по сравнению с диффузными (80,9 и 69,6% соответственно). Полученные результаты демонстрируют существенные отличия в распределении субпопуляций Т- и В-лимфоцитов в составе очаговых и диффузных лейкоцитарных инфильтратов слизистой оболочки при раннем раке желудка. Использование метода иммуногистохимии позволяет выявить функциональные характеристики иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих опухолевые участки и перитуморозные области при злокачественных новообразованиях, что имеет значение для оценки прогноза заболевания и разработки методов терапии.

*Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-96037p\_урал\_a и Администрацией Пермского края.*

*К.Н. Конторщикова, А.В. Алясова.* **Содержание железа, меди, цинка в крови больных раком молочной железы.** ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России

Опухолевый рост характеризуется нарушением многих видов обмена веществ, в том числе и микроэлементного состава крови. Под наблюдением находились 142 больных раком молочной железы (РМЖ). Все пациентки получали противоопухолевое лечение, включавшее мастэктомию, лучевую терапию, курсы полихимиотерапии (ПХТ). 48 больным дополнительно назначались инфузии озонированного физиологического раствора (ОФР). Контролем служила кровь 30 здоровых женщин. Для оценки микроэлементного состава плазмы крови в динамике использовался метод эмиссионной спектрографии. В плазме крови больных РМЖ обнаружено значимое снижение уровней цинка ( $11,59 \pm 0,48$  мкмоль/л при норме  $17,10 \pm 0,36$  мкмоль/л), меди  $12,12 \pm 0,54$  мкмоль/л (норма  $18,93 \pm 0,60$  мкмоль/л), железа  $13,87 \pm 0,62$  мкмоль/л (норма  $21,58 \pm 0,69$  мкмоль/л). При увеличении размера первичного очага от 1,0 до 8,0 см имело место повышение уровня цинка и снижение железа. Наличие метастазов в регионарных лимфатических узлах сопровождалось снижением уровня цинка на фоне увеличения количества железа. Лучевая терапия способствовала повышению в плазме крови больных концентрации меди и железа и снижению уровня цинка. После мастэктомии отмечалось снижение количества железа. У больных, принимавших только ПХТ, наблюдалось статистически значимое увеличение уровней железа, снижение цинка при тенденции к повышению концентрации меди. Содержание цинка у лиц, поступивших на 6 курс ПХТ, было на 15,4% меньше, чем у больных, прошедших на 1 курс. При инфузии ОФР совместно с ПХТ по окончании лечения концентрация цинка увеличивалась на 11,4%, уровень меди снижался на 14,1%, а содержание железа возрастало на 22,1%. Таким образом, показано, что озон снимает металлодепрессивное действие ПХТ, повышая тем самым эффект лечения. Выявленные изменения ассоциируются с увеличением общей и безрецидивной выживаемости больных этой группы.

*Г.В. Кориунов, Н.Н. Павленко, Е.В. Гладкова, С.Г. Шахмартова, Д.М. Пучиньян.* **Серологические маркеры при доброкачественных и злокачественных опухолях костной системы.** ФГБУ Саратовский НИИ травматологии и ортопедии Минздрава РФ

Цель – повышение объективности дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований костной системы по уровням серологических маркеров.

У 229 больных с доброкачественными (гигантоклеточная опухоль, костная киста, фиброзная дисплазия, хондрома, костно-хрящевой экзостоз) и злокачественными (метастатическое поражение костей, солитарная миелома, остеогенная саркома, хондросаркома) опухолями костной системы после клинического обследования в сыворотке венозной крови проводили определение количественного значения методом твердофазного иммуноферментного анализа ИФА на планшетах неоптерина (NP нг/мл), молекул адгезии сосудистого эндотелия (vCAM пг/мл), молекул межклеточных молекул адгезии (ICAM пг/мл), фактора некроза опухолей и интерлейкина – 6 (TNF $\alpha$  и IL-6 нг/мл) на ридере «Anthos 2020» (Австрия) с помощью наборов «Bender MedSystems» (Австрия).

Рассчитывали коэффициент К по формуле:

$$K = N + \frac{\sqrt{vCAM}}{\sqrt{ICAM}} + \frac{\sqrt{TNF-\alpha}}{\sqrt{IL-6}}$$

При значении  $K \leq 12,5$  диагностировали доброкачественный процесс, при значении  $K > 12,5$  – злокачественный процесс.

Морфологическими (cito- и гистологическими с морфометрией) методами исследования диагностики доброкачественной и злокачественной опухоли были подтверждены.

Операционные характеристики предлагаемого метода рассчитаны с использованием четырехпольных таблиц согласно методам, предложенным Флетчером Р.И. и соавт. (1998) и Власовым В.В., (2001) следующие: диагностическая чувствительность данного способа дифференциальной диагностики – 91%, диагностическая специфичность – 97,5%, общая диагностическая точность – 95,3%.

Таким образом, предлагаемый способ может быть включен в качестве дополнительного дифференциально-диагностического теста при опухолях костной системы.

*О.В. Лебединская, А.П. Годовалов, Д.В. Суворов, А.В. Хоринко.* **Изменение показателей периферической крови онкологических больных под действием химиотерапии.** ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера

Цель исследования – изучение влияния химиотерапии на некоторые показатели периферической крови больных раком молочной железы. Исследовали пробы крови 123 пациенток с диагнозом рак молочной железы IIIA степени после радикальной резекции и 5-ти курсов химиотерапии (однократное внутривенное введение доксирубина, 5-фторурацила и циклофосфана). Изучали количественный состав лейкоцитов периферической крови, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), концентрацию глюкозы, креатинина, общего билирубина, аспартат аминотрансферазы (АсТ) и аланин аминотрансферазы (АлТ). Установлено, что после пятого курса химиотерапии у пациенток наблюдается лейкопения. Количество сегментоядерных нейтрофилов уменьшается от  $6,27 \pm 0,23$  до лечения и до  $1,91 \pm 0,08 \cdot 10^9/\text{л}$  после лечения ( $p < 0,05$ ), моноцитов – от  $1,55 \pm 0,08$  до  $(0,94 \pm 0,06) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ) и лимфоцитов – от  $0,40 \pm 0,04$  до  $(0,15 \pm 0,01) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ). После цитостатической терапии у больных повышается СОЭ от  $21,49 \pm 1,13$  до  $29,89 \pm 1,16$  мм/ч ( $p < 0,05$ ). При биохимическом исследовании крови отмечено снижение концентрации глюкозы от  $5,99 \pm 0,76$  до лечения и до  $5,30 \pm 0,06$  ммоль/л после лечения, повышение уровня креатинина от  $83,11 \pm 1,15$  до  $104,51 \pm 1,16$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) и общего билирубина ( $17,48 \pm 1,04$  до  $25,05 \pm 1,18$  мкмоль/л;  $p < 0,05$ ). Увеличивается активность печеночных ферментов (АсТ – с  $29,98 \pm 1,31$  до  $48,03 \pm 2,76$  ед/л; АлТ – с  $37,30 \pm 1,96$  до  $57,10 \pm 2,03$  ед/л;  $p < 0,05$ ). Таким образом, проведенные курсы химиотерапии оказывают супрессивный эффект на лейкоцитарный состав периферической крови больных. Изменения биохимических показателей, выявленные в настоящем исследовании, указывают на токсическое действие полихимиотерапии на организм.

*Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-96037p\_ура\_л а и Администрацией Пермского края.*

*О.В. Лебединская<sup>1</sup>, И.Ж. Шубина<sup>2</sup>, М.В. Киселевский<sup>2</sup>.* **Выявление микрометастазов у онкологических больных с использованием метода иммуномагнитной сепарации.** ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера, <sup>2</sup>ГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Целью исследования является оценка возможности применения метода иммуномагнитной сепарации для интраоперационной диагностики микрометастазов в лимфатических узлах и костном мозге у больных немелкоклеточным раком легких и раком пищевода. В результате проведения магнитной сепарации образцов костного мозга, взятых у 25 онкологических больных, в 15 обнаружены от 2 до 15 клеток, окруженных мечеными антителами к цитокератинам магнитными шариками в виде розеток. Однако обнаруженные в позитивных образцах крупные клетки с ядрами округлой или овальной формы при цитологическом анализе не квалифицировались как опухолевые. Иммунофлюоресцентное исследование клеток с фиксированными на мембране магнитными шариками показало, что они экспрессируют маркер гемопозитических клеток — CD45 так же, как и ЦК-негативные мононуклеарные лейкоциты костного мозга. В образцах лимфатических узлов, пораженных метастазами, обнаруже-

но большое количество окруженных магнитными шариками клеток, которые при последующем стандартном цитологическом исследовании идентифицированы как опухолевые. У 4 пациентов в морфологически интактных лимфатических узлах обнаружены единичные ЦК-позитивные клетки, которые при окрашивании гематоксилином-эозином также были расценены как опухолевые. Таким образом, метод магнитной сепарации позволяет получить обогащенную фракцию цитокератин-положительных клеток и может быть использован для целей интраоперационной диагностики микрометастазов. Однако наличие в препаратах клеток с фиксированными на их мембране магнитными шариками, покрытыми антителами к цитокератинам, не дает оснований однозначно квалифицировать выделенные клетки как опухолевые. Для более точной верификации микрометастазов в костном мозге и лимфатических узлах онкологических больных необходимо дополнительное стандартное окрашивание клеток с последующим цитологическим исследованием.

*Н.В. Любимова, А.Н. Данилов, Т.А. Турко, О.М. Вотякова.* **Свободные легкие цепи иммуноглобулинов в диагностике и мониторинге множественной миеломы.** ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Электрофоретический анализ белков сыворотки крови и суточной мочи с последующей иммунофиксацией входит в стандарт биохимического обследования больных с моноклональными парапротеинемиями. Появление нового метода определения  $\kappa$ - и  $\lambda$ -свободных легких цепей иммуноглобулинов (СЛЦ) в сыворотке крови обусловило клинический интерес к их исследованию у пациентов с моноклональными гаммапатиями.

Цель исследования – сравнительный анализ концентраций СЛЦ в сыворотке крови больных множественной миеломой (ММ) и здоровых доноров, оценка значимости их определения в диагностике и оценке эффективности лечения ММ.

Исследование СЛЦ выполнено в сыворотке крови 63 больных с активной секретирующей ММ (из них 10 больных – с ММ Бенс-Джонса) и 6 больных с несекретирующей ММ в возрасте от 23 до 75 лет, а также 60 практически здоровых мужчин и женщин от 25 до 82 лет. Концентрацию СЛЦ (мг/л) определяли в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе «Hitachi 911» наборами реактивов «Freelite Human Lambda» и «Freelite Human Kappa» (Binding Site, UK).

В сыворотке крови практически здоровых людей концентрация  $\kappa$ -СЛЦ составила  $13,8 (3,0-21,5)$  мг/л,  $\lambda$ -СЛЦ –  $9,5 (5,0-27,0)$  мг/л, соотношение  $\kappa/\lambda$  –  $1,29 (0,86-1,62)$ , которые были сопоставимы с рекомендованными референсными значениями СЛЦ. В общей группе больных наибольшие концентрации СЛЦ обнаружены у пациентов с ММ Бенс-Джонса. У пациентов с несекретирующей ММ уровни СЛЦ были в пределах нормы, однако соотношение  $\kappa/\lambda$  было повышенным, что свидетельствовало о нарушении процессов синтеза и секреции СЛЦ в результате возможного формирования патологического клона плазматических клеток у этих больных. Нами была установлена прямая корреляционная зависимость  $\kappa$ -СЛЦ и соотношения  $\kappa/\lambda$  с содержанием общего белка (соответственно  $r = 0,512$  и  $r = 0,475$ ;  $p < 0,05$ ), а также обратная зависимость с уровнем альбумина ( $r = -0,473$ ;  $p < 0,05$ ). Серийное определение СЛЦ в сыворотке крови больных, получающих полихимиотерапию, выявило положительную динамику уже после первых курсов лечения. В целом у группы больных с секрецией моноклонального белка  $\kappa$ -типа концентрация  $\kappa$ -СЛЦ до лечения в среднем составила  $945,3 (14,4-4257,0)$  мг/л при соотношении  $\kappa/\lambda$   $235,1 (1,54-1364)$ . После проведенного лечения концентрация  $\kappa$ -СЛЦ достоверно снизилась до  $238,0 (23,1-2519)$  мг/л с соответствующим уменьшением  $\kappa/\lambda$  до  $41,7 (2,5-434,3)$ . Уровни  $\lambda$ -СЛЦ и соотношение  $\kappa/\lambda$  при первичном обследовании больных составили  $496,0 (27,7-1998)$  мг/л и  $0,07 (0,004-0,22)$ . После

химиотерапии концентрация  $\lambda$ -СЛЦ существенно снижалась и соответствовала 91,1 (4,9–531,9) мг/л ( $p < 0,05$ ), при этом соотношение к/л практически нормализовалось 0,59 (0,02–1,81). Новый метод определения СЛЦ характеризуется большей диагностической чувствительностью (91,7%) по сравнению с электрофорезом сыворотки крови и мочи (78,3 и 66,7% соответственно).

Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности и специфичности СЛЦ как биохимического маркера ММ и целесообразности определения их концентрации в сыворотке крови больных моноклональными гаммапатиями при первичном обследовании, а также в динамике для мониторинга заболевания.

*Н.В. Маршутина, Н.С. Сергеева. Современные подходы в использовании серологических опухолеассоциированных маркеров для активного выявления и уточняющей диагностики рака яичников.* ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздрава РФ, Москва

В последние 20 лет получили развитие исследования серологических опухолеассоциированных маркеров (ОМ) в активном выявлении рака предстательной железы и рака яичников (РЯ). Через несколько лет стала очевидной проблема недостаточной чувствительности и специфичности СА 125 при ранних стадиях РЯ. Улучшение результатов скрининга РЯ, основанного на СА 125, может быть достигнуто несколькими путями. Первым подходом стала разработка алгоритма ROC (risk of ovarian cancer algorithm), учитывающего возраст обследуемой женщины и характер изменений СА 125 во времени. ROC-алгоритм использовали в первой линии мультимодального скринингового исследования UKSTOS, результаты которого будут подведены в ближайшее время. Перспективным направлением является дополнение СА 125 другими ОМ: HE4; аполипопротеином-1, транстиретином и трансферрином. Используются и некоторые другие панели серологических ОМ. В рамках скрининговой программы PLCO для активного выявления РЯ применяется оценка уровня СА 125 в сочетании с трансвагинальным УЗИ. Для определения вероятности наличия РЯ у женщин с образованиями в малом тазу (дифференциальная диагностика на предоперационном этапе) были разработаны два алгоритма, включающие оценку серологических ОМ. Первым стал RMI (risk of malignancy index) учитывающий результаты УЗИ, СА 125 и менопаузальный статус женщин. Накапливаются данные по ROMA (risk of ovarian malignancy algorithm), характеризующегося, по предварительным результатам, лучшими показателями чувствительности/специфичности, чем RMI. ROMA основан на сочетании определения СА125 с HE4 и менопаузальным статусе пациентки. В сообщении будут обсуждены данные литературы, касающиеся использования серологических ОМ в скрининговых исследованиях и уточняющей диагностике РЯ.

*А.А. Николаев, Е.С. Герштейн, О.И. Костылева, В.В. Делекторская, Е.К. Дворова, В.В. Пророков. Сравнительный анализ ключевых показателей системы инсулиноподобных факторов роста в сыворотке крови больных колоректальным раком и у здоровых людей.* ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Инсулиноподобные факторы роста (ИФР) индуцируют сигнальную сеть, жизненно необходимую для модуляции фундаментальных клеточных процессов, таких как рост, выживание, пролиферация и дифференцировка. Отклонения в работе этой системы играют важную роль при различных патологических состояниях, включая метаболические нарушения, нейродегенеративные и онкологические заболевания. Семейство ИФР состоит из лигандов: инсулина, ИФР-1 и ИФР-2; рецепторов на клеточной поверхности: ИФР-1 рецептор (ИФР-1R), манноз6-фосфат/ИФР-2 рецептор (M6F/ИФР-2R), рецептор инсулина (IR) и гибридный рецептор (IR/ИФР-1R); 10 высоко аффинных связывающих белков (ИФРСБ) и их протеаз. ИФР-сигнальный путь – один

из возможных механизмов активации каскада митоген-активируемых протеинкиназ (МАР-киназ) и сигнального каскада, ключевыми компонентами которого являются фосфатидилинозитол-3 киназа (PI-3K) и серин-треониновая протеинкиназа Akt (протеинкиназа B). Установлено, что ИФР-1 индуцирует активацию МАР-киназного пути через сигнальный белок Ras, что в конечном итоге приводит к ингибированию апоптоза посредством дезактивации одного из проапоптотических белков – Bad и усилению пролиферации клеток. Комплекс ИФР-1/ИФР-1R индуцирует фосфорилирование и активацию PI-3K, которая, в свою очередь, активирует Akt, фосфорилирующую и инактивирующую Bad и блокирующую апоптоз.

Цель данного исследования – сравнительный анализ ключевых компонентов системы-ИФР в сыворотке крови больных колоректальным раком (КРР) и у практически здоровых людей (группа контроля) с учетом основных клинических и морфологических характеристик заболевания.

Показатели ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-1, ИФРСБ-3 определяли до лечения в сыворотке крови с помощью наборов реактивов для иммуноферментного анализа (фирма «DSL», США) у 74 больных колоректальным раком (КРР) (35/47,3% женщин и 39/52,7% мужчин): рак толстой кишки – 17/23%, рак прямой кишки – 49/66,2%, рак анального канала – 8/10,8%. Группу контроля составили 30 практически здоровых людей (13/43,3% женщин, 17/56,7% мужчин). У всех пациентов КРР выявлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли: у 66 больных выявлена аденокарцинома и у 8 плоскоклеточный рак анального канала. Всех пациентов распределили по стадиям: I – 16 (21,6%), II стадий – 17 (22,9%), IIa – 7 (9,5%), IIc – 2 (2,7%). IIIa – 4 (5,4%), IIIb – 7 (9,5%), III – 9 (12,2%), IVa – 2 (2,7%), IV – 10 (13,5%).

Распределение показателей отличалось от нормального закона и при описании показателей применяли медиану и квартили, при сравнении групп – непараметрические критерии. Уровни ИФР-1 были достоверно выше у больных КРР (167 нг/мл), чем в контроле (127 нг/мл,  $p < 0,00004$ ), а показатели ИФРСБ-1, наоборот, выше в группе контроля (3670 нг/мл), чем у пациентов (2341 нг/мл,  $p < 0,00001$ ). Сывороточные значения ИФР-2 и ИФРСБ-3 не различались между больными КРР и здоровыми людьми. При совмещении тестов, 50 из 74 (67,5%) больных КРР имели отличие от контроля, то есть были либо с превышением порогового значения ИФР-1, либо с «низкими» значениями ИФРСБ-3, из них 15 (20,3%) были с отклонениями обоих показателей.

Обнаружено достоверное различие сывороточных показателей системы ИФР – ИФР-1 и ИФРСБ-3 между больными КРР и здоровыми людьми. Иммуноферментное определение ИФР-1 и ИФРСБ-3 в сыворотке крови можно применять в клинической проктологии в качестве дополнительного теста при подозрении на злокачественную опухоль толстой кишки. Обсуждается связь ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-1 и ИФРСБ-3 с основными клинико-морфологическими показателями у больных колоректальным раком.

*Ю.Е. Никольский, Н.Б. Захарова, А.Н. Понукалин, М.Л. Чехонацкая. Значение фактора роста эндотелия сосудов в диагностике «маленьких опухолей» при раке почки.* ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России

Результаты количественного определения цитокинов, хемокинов и других маркеров межклеточного взаимодействия одновременно в моче и сыворотке или плазме крови у 550 пациентов клиники урологии ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава России показали, что использование молекулярно-клеточных технологий в диагностике заболеваний почек существенно дополняет существующие лабораторные технологии диагностики начальных стадий хронической болезни почек. Они создают новую диагностическую платформу, позволяющую на молекулярном уровне прогнозировать риск развития, распространенность и агрессивность заболеваний почек.

В последние годы проводится изучение основных маркеров ангиогенеза в качестве показателей активности опухолевого роста и метастазирования при раке почек. Установлено, что в активации опухолевого роста при раке почек активное участие принимают факторы роста эндотелия сосудов. Значение процессов активации ангиогенеза на этапе выявления «маленьких» злокачественных новообразований почек, до 4 см в диаметре по результатам МРТ, изучено недостаточно.

В связи с этим целью настоящей работы стало исследование диагностического и прогностического значения фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) плазмы и мочи у больных с «маленькими» злокачественными новообразованиями почек. 20 – практически здоровых лиц, 8 – с доброкачественными новообразованиями почек, 24 – с раком почек T0-T1 стадий (с диаметром опухоли до 4 см по данным МРТ). Всем пациентам проведены лабораторные методы исследования: ОАК, ОАМ, определения содержания мочевины, креатинина в сыворотке крови; инструментальные методы обследования включали: УЗИ почек, мочевого пузыря (в том числе ТРУЗИ), предстательной железы у мужчин, печени, регионарных лимфоузлов (с целью исключения метастазов); обзорная и экскреторная урография; рентгенография легких (с целью исключения метастазов); МРТ (или КТ) органов брюшинного пространства. С помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа в сыворотке крови и моче определяли содержание в плазме крови и моче VEGF. Использовали наборы реактивов ЗАО «Вектор Бест», Новосибирск. При статистической обработке результатов использовали непараметрические методы анализа и РОК-анализ. Результаты исследования показали, что подъем содержания VEGF в плазме и моче имеет место только у больных со злокачественными новообразованиями почек. То есть «маленькие» опухоли почек в диаметре до 4 см отличает значимый подъем маркера. Чувствительность и специфичность в дифференциальной диагностике пациентов с раком почки T0-1 по сравнению с доброкачественными новообразованиями и группой контроля по уровню VEGF плазмы крови и мочи от 88–99 и 81–94%.

Почечно-клеточный рак относится к одному из наиболее трудных форм рака для диагностики и лечения. До появления метастазов в других органах он протекает бессимптомно. В связи с этим одновременное исследование в моче и плазме крови VEGF позволит подтвердить развитие злокачественного новообразования почек непосредственно как до, так и после выполнения методов визуализации (КТ и МРТ) уже на этапе появления «маленькой» опухоли.

*Л.В. Овчинникова, В.Д. Ермилова, И.К. Воронников, И.В. Терешкина, Е.С. Герштейн. Система активации плазминогена как показатель метаболической активности рака молочной железы и потенциальная мишень противоопухолевой терапии.* ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Известно, что одним из ключевых факторов в инвазивной активности злокачественных опухолей считают разрушение окружающей базальной мембраны и внеклеточного матрикса (ВКМ) ассоциированными с опухолью протеазами и, в частности, сериновой протеазы - активатора плазминогена урокиназного типа (uPA). При этом, uPA секретируется в виде неактивного предшественника про-uPA и после связывания со специфическими рецепторами на поверхности клетки превращается под действием плазмина и некоторых других протеолитических ферментов в активную молекулу. Активный uPA катализирует превращение плазминогена в плазмин, а последний способен разрушать компоненты опухолевой стромы и активировать металлопротеазы (ММП), в частности, коллагеназу IV, расщепляющую коллаген и другие компоненты базальной мембраны и ВКМ, что и способствует инвазии и метастазированию опухолей. Связывание uPA с рецептором на поверхности клетки существенно стимулирует весь процесс активации плазминогена и образования плазмина, а по механизму обратной связи происходит инактивация рецептора в результате его расщепления плазмином

и самим uPA. Стало известно, что активность uPA подавляют белковые ингибиторы - PAI-1 и PAI-2. Кроме uPA в активации плазминогена участвует также активатор тканевого типа (tPA). Рецепторы для uPA и tPA различны, однако оба ингибитора uPA эффективно действуют и на tPA. Подавление активации плазминогена на различных уровнях (ингибирование активаторов, торможение их связывания с рецепторами) может быть одним из подходов к разработке новых видов терапии.

Цель исследования – анализ роли uPA, PAI-1 и tPA при раке молочной железы (РМЖ) и их потенциальное значение в качестве мишеней для новых схем противоопухолевой антиметастатической терапии.

Определение концентрации uPA, PAI-1 и tPA в цитозолях опухолей использовали наборы для иммуноферментного исследования «сэндвичевого» типа на основе антител, разработанных в лаборатории эндокринологии Университета г. Наймеген (Нидерланды).

В исследование включены 102 больных с I-IV стадиями РМЖ. У 35 из них были сопоставлены средние концентрации изучаемых показателей в опухолях и гистологически неизмененных тканях. uPA обнаружили во всех исследованных образцах, PAI-1 в опухолях 64 (63%) больных, и tPA в опухолях 76 (75%) больных. Средняя концентрация uPA в опухолях оказалась в 3,9 раза выше, чем в неизмененной ткани молочной железы, а концентрация PAI-1 в опухоли превышала его концентрацию в неизменной ткани в 5,2 раза. В то же время, концентрации tPA в опухолях и гистологически неизмененных тканях достоверно не отличались. Только у 4 из 35 больных концентрация uPA в нормальной ткани незначительно превышала соответствующий показатель в опухоли. Для PAI-1 такое соотношение наблюдали только у одной из 20 обследованных больных, а для tPA выявлены различные соотношения концентраций в опухоли и неизмененной ткани молочной железы. Самая высокая концентрация uPA обнаружена в опухолях больных Ib стадии, этот показатель достоверно выше, чем у больных III-IV стадий, и превышал показатели больных с I и IIa стадиями. Можно выделить две тенденции: при относительно ранних стадиях заболевания (I-Ib) концентрация uPA в РМЖ увеличивается с увеличением распространенности процесса, при дальнейшем распространении процесса концентрация uPA в опухоли снижается. Аналогичные тенденции наблюдали и для PAI-1. Для tPA выявлены противоположные тенденции: наибольшая концентрация этого фермента обнаружена в опухолях больных I стадии, а наименьшая - в опухолях больных IIIa стадии. При распространенном процессе (IIIb и IV стадии) концентрация tPA практически такая же, как и при ранних стадиях заболевания. По мере увеличения размера опухоли концентрация uPA постепенно снижается, достоверным является различие между опухолями, соответствующими критериям T<sub>1</sub> и T<sub>4</sub>. Концентрация PAI-1 достоверно увеличивались от T<sub>1</sub> к T<sub>3</sub>, но вновь снижалась при T<sub>4</sub>. Концентрация tPA, напротив, достоверно снижалась при увеличении размера опухоли от T<sub>1</sub> до T<sub>3</sub>, но возрастала при T<sub>4</sub>. Что касается статуса лимфатических узлов, то наибольшие концентрации uPA и PAI-1 и наименьшая концентрация tPA в первичной опухоли отмечены при единичных метастазах в подмышечных лимфатических узлах на стороне поражения (N<sub>1</sub>). Таким образом, выявлена противоположная направленность изменений внутриопухолевой концентрации uPA и PAI-1, с одной стороны, и tPA, с другой, в зависимости от стадии РМЖ. Наибольшей инвазивностью и метастатическим потенциалом, если судить по уровню и соотношению изученных компонентов системы активации плазминогена, обладают опухоли на ранних этапах метастазирования. По данным некоторых авторов, uPA и tPA являются эстроген-регулируемыми белками. Концентрация uPA в PЭ<sup>+</sup>-опухолях почти в полтора раза превышала его концентрацию в PЭ<sup>-</sup>-опухолях, а концентрация tPA в PЭ<sup>+</sup>-опухолях была более чем вдвое выше, чем в PЭ<sup>-</sup>отрицательных. Различия для tPA статистически достоверно. Кроме того, обна-

ружена слабая, но достоверная положительная корреляция между концентрацией tPA и содержанием РЭ в опухолях.

Таким образом, нами продемонстрировано, что вышеуказанные изменения в экспрессии отдельных компонентов системы активации плазминогена, в особенности увеличение концентрации uPA, являются в первичной опухоли большинства больных РМЖ. В связи с этим можно предполагать, что uPA является перспективной и достаточно избирательной мишенью для антиметастатической противоопухолевой терапии РМЖ. Кроме того, уровень и соотношение экспрессии uPA, tPA, PAI-1, PAI-2 в опухоли может служить показателем метастатической и инвазивной активности опухоли, а стало быть и прогностическим фактором при злокачественных опухолях.

*О.В. Сомонова, А.В. Маджуга, А.Л. Елизарова, И.И. Матвеева.* **Нарушения системы гемостаза у больных первичными и метастатическими опухолями печени.** ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Известно, что больные злокачественными новообразованиями подвержены высокому риску венозной и артериальной тромбоэмболической болезни, а возникновение тромбоза осложняет лечение и ухудшает показатели выживаемости. В современных исследованиях показано, что злокачественная опухоль повышает риск развития тромбоза глубоких вен верхних и нижних конечностей, а также тромбоэмболии легочной артерии в 4–7 раз. По данным некоторых исследователей, тромбоэмболические осложнения являются одной из наиболее частых причин летальности у онкологических больных. Патогенетические механизмы, обуславливающие развитие тромбоэмболических осложнений у больных злокачественными новообразованиями, включают комплекс взаимодействий между опухолевой клеткой, больным и системой гемостаза. Из элементов классической триады Вирхова именно гиперкоагуляция, индуцированная опухолевыми клетками, является определяющим фактором внутрисосудистого тромбообразования у онкологических пациентов. Кроме того, у онкологических больных активация системы гемостаза обусловлена поступлением в кровоток из опухолевых клеток высокоактивного тканевого фактора, образующего комплекс с фактором VIIa. В свою очередь, этот комплекс активизирует факторы Ха и тромбин, запускающие процесс внутрисосудистого свертывания крови. Опухолевые клетки также выделяют в кровь специфический раковый прокоагулянт, который непосредственно активирует X фактор свертывания крови. Также в опухолевых клетках обнаружены и другие прокоагулянтные активности: в частности, прокоагулянтная активность, обладающая свойствами фактора V, которая ускоряет формирование протромбиназного комплекса; обнаружена прокоагулянтная активность, обладающая свойствами фактора XIII, усиливающая прочность сформированного фибринового сгустка. Нормальные ткани могут вырабатывать прокоагулянтные активности в ответ на опухоль.

Цель исследования – изучение системы гемостаза у больных первичными и метастатическими опухолями печени.

Обследовали 120 больных злокачественными опухолями печени до начала лечения. Из них - 30 пациентов первичными опухолями печени, и 90 пациентов - с метастазами рака толстой кишки в печень. Контрольная группа состояла из 30 практически здоровых людей. Изучены основные звенья системы гемостаза (прокоагулянтное, антикоагулянтное, фибринолитическое и тромбоцитарное) на автоматическом анализаторе «STA Evolution» и агрегометре «Chrono-log».

У больных первичным раком печени наблюдалась умеренная гиперкоагуляция, которая проявлялась, в основном, гиперфибриногенемией (до 480 мг/дл). Уровень Д-димера повышался незначительно (до 1,5 мкг/мл). Показатели антитромбина III и протеина С находились в пределах нормы. Отмечено умеренное снижение агрегации тромбоцитов (до 63%). У больных с метастазами рака толстой кишки в печени выявлены более глубокие изменения гемостаза, которые

свидетельствовали о развитии хронической формы синдрома ДВС. У этой группы больных наблюдали выраженную гиперфибриногенемию на фоне значительного повышения уровня Д-димера (5,9 кг/мл). Содержание антитромбина III, протеина С и плазминогена снижалось (до 70–72%). Одновременно у этих пациентов имело место повышение уровня фактора Виллебранда (до 240%).

Снижение уровня естественных антикоагулянтов (антитромбина III и протеина С), синтезируемых печенью, на фоне повышенного содержания Д-димера и фактора Виллебранда до начала лечения являются факторами риска развития тромбоэмболических осложнений в послеоперационном периоде, а также риска развития более тяжелых форм синдрома ДВС.

*Р.М. Тазетдинова, Р.Ф. Широких, Э.А. Имельбаева, А.Ж. Гильманов, М.Н. Валеева.* **Значимость определения простатоспецифического антигена в условиях центральной городской больницы.** МУЗ Нефтекамская центральная городская больница, Нефтекамск, ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Уфа

Одним из наиболее востребованных онкомаркеров в условиях ЦГБ Нефтекамска с 2001 г. является простатоспецифический антиген (ПСА) - органоспецифичный маркер рака предстательной железы (РПЖ). Поскольку РПЖ встречается в основном после 50 лет, анализ ПСА используется для скринингового обследования лиц мужского пола старше 40 лет и мониторинга лечения РПЖ. Нормальная концентрация ПСА в сыворотке крови здоровых мужчин составляет до 4 нг/мл, хотя ведутся дебаты о снижении порога до 3,2 нг/мл. При концентрации ПСА более 30 нг/мл вероятность наличия опухоли составляет 75–85%, более 50 нг/мл – у 80% больных отмечается инвазивная форма рака, более 100 нг/мл – у всех больных имеются метастазы.

Из обследованных нами в 2009–2011 гг. 4147 мужчин нормальные значения ПСА были выявлены у 2519 человек (60,7%). Среди первично обследованных в 2009 г. число лиц с нормальными уровнями ПСА составило 78,8%, в 2010 г. – 80%, в 2011 г. – 81,4%, что косвенно свидетельствует об эффективности скрининга. Пограничные концентрации ПСА (4–10 нг/мл), характерные для неопухолевых заболеваний простаты - простатита и ДГПЖ, выявлены у 121 человека (11,2%) в 2009 г., у 120 человек (11,7%) в 2010 г. и у 112 человек (9,3%) в 2011 году. Повышенные значения ПСА (10–30 нг/мл) в 2009 г. выявлены у 230 человек (21,2%); в 2010 г. – у 204 человек (19,9%); в 2011 г. - у 194 человек (18,6%). Концентрации ПСА выше 30 нг/мл выявлены в 2009 г. у 44 (4%), в 2010 г. - у 30 (2,9%), в 2011 г. – у 25 человек (2,4%), причем в этой группе преобладали лица старше 65 лет (87% случаев). Среди обследованных со значениями концентрации ПСА более 40 нг/мл 61% составили лица старше 75 лет, еще 32% - от 65 до 75 лет; вероятность наличия РПЖ у них высока.

В рамках программы дополнительной диспансеризации за 2009–2011 гг. на ПСА было обследовано 2330 человек, при этом выявлено 88 человек (3,8%) со значениями ПСА 4–10 нг/мл и 41 человек (1,8%) с концентрацией ПСА более 10,0 нг/мл. Выявленные носители высокого уровня ПСА подвергались углубленному урологическому исследованию; некоторым была проведена биопсия.

Таким образом, массовый скрининг мужчин – жителей города Нефтекамска на раннее выявление РПЖ по уровню ПСА показал свою информативность, о чем свидетельствует увеличение доли лиц с повышенным уровнем онкомаркера в группе старше 60 лет по сравнению с группой 40–60 лет. Однако необходимо помнить, что уровень ПСА может быть повышен и при других заболеваниях железы (аденома, простатит). Соответственно, только на основании одного этого теста нельзя судить о той или иной патологии простаты. Однако повышение уровня ПСА является поводом для проведения дополнительных исследований, включая биопсию простаты, что вместе с ультразвуковым исследованием и клиническими данными позволяет выявлять РПЖ уже на I стадии.

Ю.С. Тимофеев, И.В. Бабкина, И.В. Булычева, Ю.Н. Соловьев, И.Н. Кузнецов, М.Д. Алиев, Н.Е. Кушлинский. **Исследование сывороточных уровней ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-1, ИФРСБ-3 при новообразованиях костей.** ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Опухоли костей – редкая группа онкологических заболеваний, отличающаяся высокой злокачественностью, неблагоприятным прогнозом, трудностями в диагностике и лечении. Лабораторные биохимические и молекулярно-генетические методы исследования злокачественных и доброкачественных опухолей костей в настоящее время пока еще недостаточно широко используют. Однако разработка лабораторных методов исследования пациентов с новообразованиями костей позволит в перспективе проводить предварительную оценку ряда биологических характеристик новообразования, что позволит своевременно выработать оптимальную тактику лечения и мониторинга за пациентом. В настоящее время активно изучают различные клеточные сигнальные системы, отвечающие за рост, пролиферацию и дифференцировку клеток. Одной из таких систем является система инсулиноподобного фактора роста - «система ИФР». Данная система представлена лигандами (ИФР-1, ИФР-2), рецепторами (ИФР-1Р, ИФР-2Р), рецептором инсулина, а также белками сыворотки крови, связывающими инсулиноподобные факторы роста (ИФРСБ1-10), которые регулируют активность лигандов. В нормальных условиях система ИФР вовлечена в процессы роста организма, дифференцировки различных тканей, процессов регенерации. При патологических состояниях данная система способна приводить к формированию злокачественного фенотипа, воздействуя на клеточный цикл, неангиогенез, метастазирование. Система ИФР тесно связана с другими клеточными системами, такими как система матриксных металлопротеаз (ММП), система VEGF, система активаторов плазминогена. Значение ИФР при новообразованиях костей изучено недостаточно, однако данные литературы свидетельствуют о повышенной экспрессии ИФР-1 в тканях остеосаркомы костей. Представлены данные о некоторых изменениях в гене *IGF1*, которые могут приводить к нарушению экспрессии ИФР-1 при остеосаркоме. Кроме того, имеются данные о зависимости роста саркомы Юинга от активности рецептора ИФР-1Р.

Цель настоящего исследования – изучение сывороточных уровней основных компонентов системы ИФР у больных злокачественными, пограничными и доброкачественными опухолями костей, выявление их клинической значимости в патогенетических механизмах и связь с определенными морфологическими и клиническими характеристиками новообразований.

В исследование включено 113 больных с впервые выявленными новообразованиями костей, среди которых 74 пациента со злокачественными новообразованиями, 14 - с пограничными опухолями (гигантоклеточная опухоль кости) и 25 - с доброкачественными новообразованиями в возрасте от 14 до 69 лет, поступивших в хирургическое отделение общей онкологии ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН и получавших специфическое лечение. В контрольной группе было 49 практически здоровых людей соответствующего возраста и пола. Среди пациентов: у 25 выявлена остеосаркома, у 21 – хондросаркома, у 18 – саркома Юинга, у 5 - 3ФГ и у 5 – хордома. Уровни ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-1, ИФРСБ-3 определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом реактивами фирмы DSL (США) при использовании автоматического ридера «Elx 800» («Biotek Instruments Inc.», США). Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7 (Statsoft, США).

Уровни ИФР-1 обнаружены у всех 113 пациентов с впервые выявленным новообразованием кости и не получавших лечение, а также у 47 практически здоровых людей (группа контроля). Среднее значение ИФР-1 в сыворотке крови по всей выборке составило  $215,4 \pm 8,3$  нг/мл, медиана 186,0 нг/мл.

Минимальное значение во всей выборке составило 55,4 нг/мл, максимальное 644,6 нг/мл. Уровень ИФР-1 при новообразованиях костей ( $241,1 \pm 10,5$  нг/мл) достоверно превышал его показатели в сыворотке крови практически здоровых людей ( $153,8 \pm 6,5$  нг/мл;  $p < 0,05$ ). Не выявлено достоверных различий в показателях ИФР-1 между злокачественными, пограничными и доброкачественными новообразованиями костей, но при этом каждая группа больных в отдельности показала достоверное превышение среднего значения ИФР-1 относительно контроля. Среднее значение ИФР-1 при остеосаркоме ( $289,7 \pm 25,8$  нг/мл) достоверно превышало этот показатель при хондросаркоме ( $211,9 \pm 17,3$  нг/мл;  $p = 0,03$ ). Уровень ИФР-1 при саркоме Юинга ( $282,7 \pm 22,8$  нг/мл) также превышал таковой показатель при хондросаркоме ( $211,9 \pm 17,3$  нг/мл;  $p = 0,024$ ). Анализ значений ИФР-1 при хордоме ( $118,4 \pm 20,3$  нг/мл) был достоверно ниже, чем у пациентов с остеосаркомой, хондросаркомой, саркомой Юинга, а также ниже среднего значения ИФР-1 при гигантоклеточной опухоли кости. Не выявлено достоверных различий между уровнями ИФР-1 в группе больных саркомами костей при учете критерия T1 и T2. Также не обнаружено достоверных различий в уровнях ИФР-1 в зависимости от локализации очага и типа пораженной кости. У больных с новообразованиями костей имеется некоторая зависимость значений ИФР-1 от пола. Так, уровень ИФР-1 в сыворотке крови у мужчин ( $275,3 \pm 14,7$  нг/мл) с высокой степенью достоверности превышал значение ИФР-1 у женщин ( $202,3 \pm 13,4$  нг/мл). У пациентов с саркомами костей, с развитием отдаленных метастазов в течение 12 мес от начала лечения исходные показатели ИФР-1 в сыворотке крови составили  $297,0 \pm 33,8$  нг/мл и были достоверно выше, чем у больных, у которых за данный период времени не обнаружено метастазов ( $229,3 \pm 13,2$  нг/мл). При анализе безметастатической выживаемости отмечена тенденция, согласно которой 1-летняя выживаемость в группе с ИФР-1  $\geq 244,5$  нг/мл ниже. Показатель 1-летней безрецидивной выживаемости в группе пациентов с уровнем ИФР-1  $< 244,5$  нг/мл составил 85,2%, а в группе с уровнем ИФР-1  $\geq 244,5$  нг/мл – 67,7%. Показатели ИФР-2 выявлены в сыворотке крови у 113 пациентов с первичными новообразованиями костей и у 45 практически здоровых людей (группа контроля). Среднее значение ИФР-2 по всей выборке составило  $1768,2 \pm 37,4$  нг/мл, медиана 1697,3 нг/мл. Обнаружено достоверное превышение ИФР-2 в сыворотке крови больных саркомами костей ( $1982,5 \pm 58,9$  нг/мл) над уровнем данного показателя при доброкачественных новообразованиях ( $1569,0 \pm 62,6$  нг/мл) и в контроле ( $1457,3 \pm 38,1$  нг/мл). Также выявлено достоверное повышение ИФР-2 в сыворотке пациентов с пограничными опухолями костей ( $1991,0 \pm 86,4$  нг/мл) по сравнению с доброкачественными новообразованиями и контролем. Обнаружены достоверно высокие показатели сывороточного ИФР-2 у больных остеосаркомой ( $2101,5 \pm 120,1$  нг/мл), хондросаркомой ( $2017,9 \pm 88,2$  нг/мл) и саркомой Юинга ( $1979,3 \pm 123,0$  нг/мл) над уровнями ИФР-2 при доброкачественных новообразованиях и в контроле. Также нами выявлены достоверные различия между показателями ИФР-2 при остеосаркоме и злокачественной фиброзной гистиоцитоме ( $1626,1 \pm 98,6$  нг/мл), а также при остеосаркоме и хордоме ( $1606,4 \pm 126,6$  нг/мл). Достоверных различий в уровне ИФР-2 в зависимости от размеров, локализации опухоли и типа пораженной кости не отмечено. Показатели 1-летней безрецидивной выживаемости в группе пациентов с уровнем ИФР-2  $< 1917,7$  нг/мл составили 83,4%, а в группе с высоким значением ИФР-2  $\geq 1917,7$  нг/мл – 69,7%. В группе с более высокими уровнями ИФР-2 показатели выживаемости ниже, однако согласно критерию Log-rank различия не являются достоверными. ИФРСБ-1 выявлен у 156 человек, из них - 107 пациентов с новообразованиями костей и 49 практически здоровых людей. Выявлены достоверные различия между сывороточными уровнями ИФРСБ-1 в группе больных саркомами костей ( $33,2$  нг/мл) и практиче-

ски здоровыми людьми (23,9 нг/мл). При сравнении показателей ИФРСБ-1 в сыворотке крови больных различными гистологическими вариантами сарком костей достоверные различия обнаружены только между пациентами с остеосаркомой (40,1 нг/мл) и контролем (23,9 нг/мл). Достоверной зависимости уровней ИФРСБ-1 от локализации, размера опухоли и типа пораженной кости не обнаружено. У пациентов с саркомами костей, которые впоследствии получали химиотерапию, в группе, в которой эффект химиотерапии оценен как положительный (стабилизация или частичная регрессия), исходный уровень ИФРСБ-1 был более высоким ( $35,8 \pm 3,7$  нг/мл), чем в группе, в которой наблюдали прогрессирование процесса, несмотря на проводимое химиотерапевтическое лечение ( $23,2 \pm 4,4$  нг/мл). Сывороточные уровни ИФРСБ-3 обнаружены у 158 человек, из них – у 110 пациентов с новообразованиями костей и у 48 практически здоровых людей. При доброкачественных новообразованиях костей медиана ИФРСБ-3 в сыворотке крови составила 6029,6 нг/мл, что достоверно выше, чем уровень этого белка у пациентов с саркомами костей (5093,5 нг/мл), а также значительно выше, чем в группе контроля (4106,0 нг/мл).

Согласно полученным нами данным сывороточные показатели ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-1 и ИФРСБ-3 у больных новообразованиями костей достоверно превышают возрастную норму. Значения ИФР-1, ИФР-2, ИФРСБ-3 зависят также от характера процесса, причем уровни ИФР-2 достоверно выше при злокачественных новообразованиях костей, чем при доброкачественных, а показатели ИФРСБ-3 выше при доброкачественных новообразованиях, чем при злокачественных. Концентрации ИФР-1 и ИФР-2 варьировали в зависимости от гистологического варианта злокачественных новообразований костей. При этом у наиболее агрессивных опухолей значения данных факторов выше. Следует отметить, что уровни изученных факторов не зависят от размера опухоли, ее локализации и типа пораженной кости. Также выявлена зависимость между ранним (в течение 1 года) развитием отдаленных метастазов злокачественных опухолей костей и исходным (до начала терапии) уровнем ИФР-1 в сыворотке крови.

*И.А. Топчиева, А.А. Ващенко, Р.А. Хвастунов, К.Д. Капланов, О.В. Островский. Роль исследования свободноциркулирующей ДНК и целостности внутриклеточной ДНК в мониторинге онкологических больных.* ГБОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, ВОКОД № 1

Современный подход к борьбе со злокачественными новообразованиями базируется на использовании высокоточной диагностики и комплексного мониторингования эффективности лечения. Наряду со специфическим анализом генов промоторов, применением ДНК-FISH технологий и т.п. существуют более простые процедуры, имеющие практическое значение. К ним можно отнести такие методы, как кометный анализ повреждения ДНК (метод ДНК-комет) и определения содержания циркулирующей ДНК в сыворотке крови.

Исследовали образцы цельной периферической крови и сыворотку крови, полученные от 56 здоровых доноров и 42 больных злокачественными образованиями. Условия проведения процедуры кометного анализа оптимизированы на всех его этапах от взятия образцов до определения вариантов детекции результатов и их интерпретации. Показано, что химио- и радиотерапия вызывают увеличение доли клеток с поврежденной ДНК. Кроме того, были определены достоверные различия по критерию Манна-Уитни между содержанием цДНК в сыворотке больных онкологическими заболеваниями и здоровых добровольцев. Обнаружены статистически значимые различия по содержанию цДНК у больных до и после оперативного вмешательства.

Таким образом, разработанные процедуры могут быть использованы для мониторинга течения онкологического процесса и прогнозирования развития побочных эффектов проводимой терапии.

*О.А. Шарашенидзе, В.Д. Ермилова, Ю.В. Крюк, И.Б. Манухин. Система эпидермального фактора роста и опухоли яичников.* ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ; ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Рак яичников (РЯ) – одна из наиболее распространенных и крайне неблагоприятных относительно прогноза опухолей у женщин. В настоящее время РЯ в развитых странах по-прежнему занимает 1-е место в структуре смертности от злокачественных новообразований женских половых органов. При этом, средняя 5-летняя выживаемость больных РЯ составляет 40-50%. Пациентки с I стадией РЯ имеют 5-летнюю выживаемость 70-80%, с II стадией – 57-67%, с III-IV стадиями – она составляет только 5-10%. Поэтому раннее выявление РЯ позволяет радикально улучшить показатели выживаемости данной категории больных. Этиология РЯ неизвестна, патогенез изучен не до конца. Вместе с тем, существенное место в патогенезе РЯ принадлежит онкогенам K-ras, c-erbB2/HER2, гену-супрессору p53, последний играет важную роль в апоптотическом самоустраниении клеток, получивших критические повреждения ДНК. У носительниц мутаций генов BRCA-1 и BRCA-2 риск РЯ достигает 60%. Сложность ранней диагностики РЯ связана не только с отсутствием симптомов заболевания, но и сложностью их дифференциальной диагностики, а также многообразием гистологических его вариантов. Вместе с тем, большую часть (90-95%) всех новообразований яичников составляют эпителиальные опухоли, которые включают в себя: доброкачественные, пограничные и злокачественные. Трудности ранней диагностики и высокий метастатический и инвазивный потенциал РЯ определяют необходимость углубленного изучения механизмов распространения опухоли, знание которых позволит индивидуализировать прогноз рака яичников, улучшить мониторинг и оптимизировать подходы к назначению неоадьювантной и адьювантной терапии. В последнее десятилетие пристальное внимание исследователей привлекает изучение локальных механизмов регуляции активности опухолевых клеток, особенно паракринным и аутокринным, так как их нарушения чаще всего сопровождают патологические процессы. Нарушение процессов их регуляции может приводить к генетическому «самоу» пролиферации, что, в свою очередь, может «запустить» механизм неопластической трансформации. Среди наиболее активных ауто- и паракринных регуляторов можно выделить эпидермальный фактор роста (ЭФР) и некоторые другие, гомологичные первичной структуре ему лиганды ( $\alpha$ -трансформирующий фактор роста, амфигулин и др.), связывающиеся с общим трансмембранным рецептором, названным по титульному лиганду рецептором эпидермального фактора роста (РЭФР). Показано, что одной из важнейших причин прогрессирования заболевания в случае РЯ является нарушение работы системы ЭФР, в которую входят как сам ЭФР в качестве лиганда, так и еще 3 рецептора семейства ErbB, что приводит к автономной пролиферации клеток РЯ.

Цель исследования – сравнительный анализ содержания РЭФР и ЭФР-подобных пептидов (ЭФР-ПП) в злокачественных и доброкачественных эпителиальных опухолях яичников и их связь с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания.

Исследование содержания РЭФР в мембранной фракции (12 доброкачественных опухолей и 44 РЯ) проводили радиолигандным методом. В качестве меченого лиганда использовали мышиный ЭФР (receptor grade; «Sigma», США), йодированный с помощью  $\text{Na}^{125}\text{I}$  в присутствии хлорамина Т. 0,1 мл суспензии мембран инкубировали в течение 1 ч при температуре 20-25°C с 3,5 нМ  $^{125}\text{I}$ -ЭФР в присутствии и в отсутствии 200-кратного избытка немеченого ЭФР («Sigma», США). По окончании инкубации пробирки помещали в ледяную баню и осаждали лиганд-рецепторный комплекс охлажденной суспензией гидроксипатита («Sigma»; DNA-grade) в PBS-буфере (2:1 по объему). Добавляли к пробам по 0,5 мл PBS

и центрифугировали 3-5 мин при 2000xg, 4°C (центрифуга РС-6), надосадочную жидкость удаляли, и затем трижды промывали осадок гидроксилатата 1 мл PBS. Просчитывали радиоактивность осадка на гамма-счетчике (ЛКВ, Швеция) и вычисляли количество специфически связанного <sup>125</sup>I-ЭФР по разнице между общим и неспецифическим связыванием. Количество РЭФР выражали в фмоль/мг мембранного белка. Содержание ЭФР-ППП определяли радиорецепторным методом. В качестве связывающей системы использовали суспензию мембран плаценты человека, содержащую большое количество РЭФР (3261 ± 172 фмоль/мг белка). В данном методе определяется суммарное содержание всех пептидов, взаимодействующих с РЭФР. Для построения калибровочной кривой в качестве стандарта использовали рекомбинантный человеческий α-ТФР («Sigma», США). Радиоактивность просчитывали на гамма-счетчике, содержание ЭФР-ППП в исследуемых образцах выражали в пг/мг ДНК.

РЭФР обнаружены в 25% доброкачественных опухолей и в 61,4% РЯ, а ЭФР-ППП в 60 и 54,8% соответственно. Медианы содержания РЭФР и ЭФР-ППП в выше указанных группах больных не различались. Не установлено корреляционной зависимости между содержанием РЭФР и ЭФР-ППП в опухоли больных доброкачественными и злокачественными новообразованиями яичников. Одновременно в опухоли 40 больных РЯ были определены РЭФР и ЭФР-ППП: в 14 (35%) опухолях маркеры не выявлены, в 10 (25%) обнаружены только ЭФР-ППП, в 9 (22,5%) – только РЭФР и в 7 (17,5%) опухолях обнаружены оба маркера. В 10 доброкачественных новообразованиях яичников исследовали частоту выявления РЭФР и ЭФР-ППП: в 6 (60%) из них выявлен фенотип – РЭФР(-) ЭФР-ППП(-), в 3 (30%) – РЭФР(+)-ЭФР-ППП(+), в 1 (10%) наблюдении – РЭФР(-)ЭФР-ППП(+). Следовательно, для доброкачественных новообразований яичников был характерен рецепторный фенотип РЭФР(-)ЭФР-ППП(-) (60%), тогда как в РЯ такое сочетание выявлено только в 35% наблюдений. Не обнаружено корреляционной зависимости между возрастом больных новообразованиями яичников и содержанием РЭФР и ЭФР-ППП в опухоли. Дисперсионный анализ также не выявил достоверных изменений в содержании РЭФР и ЭФР-ППП при увеличении возраста пациенток в обеих группах. Не отмечено различий в содержании РЭФР и ЭФР-ППП в опухоли при изучении состояния репродуктивной функции, а также длительности постменопаузы. Так, частота выявления значений РЭФР в опухоли больных РЯ выше порогового уровня равнялась 20% у больных с сохраненной репродуктивной функцией и составила 41,7% у пациенток в постменопаузе, различия не достоверны ( $p = 0,4$ ). У больных РЯ с односторонним и двусторонним опухолевым поражением яичников частота выявления РЭФР была одинаковой и составила соответственно 40,0 и 37,9%, а медианы этого маркера также в этих двух группах пациенток не различались (37,5 и 36,5 фмоль/мг белка соответственно). Также не отмечено различий в этих двух группах пациенток в частоте выявления ЭФР-ППП при одностороннем (46,4%) и двустороннем (42,9%) РЯ. Медианы содержания ЭФР-ППП в РЯ не зависели от одно- и двустороннего поражения органа. Установлена достоверно большая частота обнаружения РЭФР(-) опухолей яичников среди больных РЯ с I стадией процесса (71,4%) по сравнению с пациентками с большей распространенностью процесса. Также необходимо отметить, что если в группе больных с I-II стадиями РЯ частота выявления повышенных значений РЭФР (более 13 фмоль/мг белка – пороговое значение РЭФР) составила 22,2% (2 из 9), то у больных с III-IV стадиями она уже равнялась 40% (14 из 35) ( $p = 0,001$ ). Не обнаружено достоверных различий в содержании РЭФР в РЯ с учетом стадии заболевания. Содержание ЭФР-ППП в РЯ также не было достоверно связано со стадией заболевания, однако следует отметить снижение частоты ЭФР-ППП(-) опухолей по мере повышения стадии заболевания: с 75,0% – при I стадии до 43,8% – при IV стадии ( $p = 0,16$ ). Отмечена тенденция к снижению частоты выявления РЭФР(-)ЭФР-ППП(-)

опухолей яичников по мере увеличения стадии заболевания. Так, частота выявления отрицательного РЭФР(-)ЭФР-ППП(-) фенотипа РЯ составила 50% (4 из 8) в I-II стадиях, 37,5% (6 из 16) – в III стадии и 25,0% (4 из 16) – в IV стадии. При этом, отмечено увеличение числа опухолей с фенотипом РЭФР(-) ЭФР-ППП(+) при увеличении стадии заболевания: 12,5% (1 из 8 больных) при I-II стадиях, 18,8% (3 из 16 больных) при III, 37,5% (6 из 16 пациенток) при IV. Следует отметить, что такое сочетание маркеров не было характерно для доброкачественных новообразований яичников. Проведен анализ связи содержания показателей РЭФР и ЭФР-ППП в опухоли больных РЯ с учетом критериев системы TNM. Несмотря на то, что все наблюдаемые различия статистически не достоверны, отметим наибольшую частоту выявления РЭФР(-) опухолей у больных без метастазов в регионарных лимфатических узлах (100%), а также при критерии T1 (75%). Не установлено связи между содержанием ЭФР-ППП в опухоли больных РЯ и критериями TNM. Показатели РЭФР в РЯ не зависели от наличия или отсутствия асцита. Недостаточно чаще (50%) выявляли отрицательный фенотип РЭФР(-)ЭФР-ППП(-) опухоли у больных РЯ без асцита, чем с асцитом (24%). Наиболее редко (55,6%) обнаруживали РЭФР(-) опухоли при серозном РЯ по сравнению с эндометриодным (80%) и муцинозным (100%). Уровни РЭФР в опухоли не зависели от гистологического варианта строения РЯ. Частота выявления ЭФР-ППП(-) опухолей у больных серозным РЯ составила 51,5%, эндометриодным – 80%, муцинозным – 50%. Выявление отрицательного фенотипа РЭФР(-)ЭФР(-) опухолей обнаружено в 53,3% наблюдений (8 из 15) при серозном РЯ и 80% (4 из 5) – при эндометриодном. РЭФР(-) опухоли встречались среди высокодифференцированных РЯ в 81,8%, в умеренно дифференцированных – в 53,9% и в низкодифференцированных – в 61,1%. Содержание РЭФР в опухоли не зависело от степени дифференцировки РЯ. ЭФР-ППП(-) фенотип РЯ чаще выявляли в высокодифференцированных опухолях (70%), чем в умеренно (53,9%) и низкодифференцированных (47,1%), а наиболее высокая медиана содержания ЭФР-ППП (934 пг/мг ДНК) отмечена в умеренно дифференцированных РЯ по сравнению с высоко (241 пг/мг ДНК) и низкодифференцированными опухолями (244 пг/мг ДНК), различия недостоверны. Следует отметить, что частота фенотипа опухолей яичников РЭФР(-)ЭФР-ППП(-) при высокой степени дифференцировки РЯ составила 60%, при умеренной – 27,3% и низкой – 29,4%. Кроме того, чаще в низкодифференцированных РЯ выявляли РЭФР(-)ЭФР-ППП(+) (35,3%), чем в умеренно (18,2%) и высокодифференцированных (20,0%). В то же время для умеренно дифференцированных РЯ был характерен фенотип РЭФР(+)-ЭФР-ППП(-) (36,4%), по сравнению с высоко (10%) и низкодифференцированными (17,6%) опухолями.

Достоверно чаще РЭФР выявляли в злокачественных (40%), чем в доброкачественных эпителиальных опухолях яичников (25%). Показатели РЭФР колебались в широких пределах (от 10 до 1120 фмоль/мг белка) и медианы их были достоверно выше в РЯ (40 фмоль/мг белка), чем в доброкачественных опухолях яичников (от 0 до 13; 11 фмоль/мг белка соответственно). Уровни РЭФР не зависели достоверно от гистологического варианта РЯ, степени его дифференцировки, стадии заболевания, наличия асцита. Частота выявления отрицательного фенотипа РЯ по РЭФР(-)ЭФР-ППП(-) при высокой степени дифференцировки РЯ составила 60%, при умеренной – 27,3% и низкой – 29,4%.

*К.А. Шахова<sup>1</sup>, О.С. Янченко<sup>1</sup>, Е.Ю. Конторщикова<sup>2</sup>. Исследование растворимых дифференцировочных молекул и цитокинов периферической крови в диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей тела матки.*  
<sup>1</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, <sup>2</sup>Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко, Нижний Новгород

Цель работы – оценить сывороточный уровень растворимых дифференцировочных молекул CD8, CD25, CD50, CD54, CD18, олигомерных фракций растворимых CD8,

CD25, CD50 и CD54 молекул, ассоциатов CD18-CD50, CD18-CD54, цитокинов IL-4, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$  в крови больных миомой матки и раком эндометрия. Исследовано 40 образцов крови пациенток с гистологически подтвержденным диагнозом миомы матки и 20 образцов больных раком эндометрия (I стадия). Контролем служили образцы крови 150 здоровых доноров. Содержание растворимых антигенов определяли иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител серии ИКО.

Только при раке эндометрия зарегистрировано увеличение сывороточной концентрации IL-10, растворимых комплексов молекул адгезии CD18-CD54. При этом содержание суммарной и олигомерной фракции растворимых молекул CD54 и растворимых ассоциатов CD18-CD54 и CD18-CD50 коррелировали с увеличением концентрации IL-4. У пациенток с доброкачественной опухолью по сравнению с донорами повышалось сывороточное содержание суммарных фракций растворимых молекул CD38. При миоме матки, характеризующейся большими размерами и/или множественностью миоматозных узлов, наблюдалось повышение по сравнению с донорами сывороточного содержания суммарной фракции растворимых молекул CD50 и IFN $\gamma$ . Сывороточное содержание суммарной и олигомерной фракции растворимых молекул CD50, а также растворимых ассоциатов CD18-CD54 и CD18-CD50 коррелировало с повышенной концентрацией IFN $\gamma$ . Таким образом, уровни растворимых дифференцировочных молекул периферической крови больных миомой матки и раком эндометрия могут рассматриваться в качестве дополнительных критериев в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей тела матки.

*А.М. Щербаков, Е.С. Герштейн, Е.В. Ошкина, Л.К. Овчинникова, Н.Е. Кушлинский.* **Прогностическое значение активированной киназы АКТ, фактора роста эндотелия сосудов и его рецепторов при раке молочной железы.** ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Белок Akt (Protein kinase B, PKB, RAC-PK- $\alpha$ ) - серин/треониновая киназа, играющая важную роль в регуляции клеточного метаболизма. Киназа Akt является основным нижележащим эффектором PI3K - фермента, контролирующего пролиферацию, апоптоз, аноксис, синтез белка, гликолиз и выживаемость клеток, а нарушение регуляции PI3K/Akt-сигнального пути тесно взаимосвязано с различными механизмами опухолевой трансформации и устойчивости злокачественных клеток к некоторым противоопухолевым препаратам. Классическим механизмом активации PI3K/Akt-сигнального пути принято считать взаимодействие SH2 доменов регуляторной субъединицы p85-PI3K с клеточными тирозинкиназами как нерецепторными (p60-src), так и рецепторными (EGFR, VEGFR, HER2/нец, PDGFR, FGFR). Активное развитие в последние годы таргетных подходов в терапии рака молочной железы (РМЖ) значительно расширило список препаратов и соединений, проходящих предклиническую фазу исследований. Наиболее перспективными в настоящее время считаются комбинированные схемы терапии, включающие две и более молекулярные цели, особенно такие подходы востребованы для опухолей резистентных к различным видам терапии. В этой связи становится актуальным поиск новых прогностических показателей РМЖ и выявление групп больных с высокой чувствительностью к таргетным препаратам. Ранее мы показали, что белок Akt1 (одна из форм Akt) и его нижележащий эффектор NF- $\kappa$ B являются потенциальными маркерами гормонорезистентности при рецепторположительном РМЖ.

Цель исследования – анализ прогностического значения активированной (фосфорилированной) киназы Akt1 (pAkt1) и ассоциированных с ней белков фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и двух форм его рецепторов (VEGFR1 и VEGFR2) при раке молочной железы.

В исследование включены 43 больные РМЖ в I-IV стадиях, проходившие лечение в ФГБУ Российский онкологический

научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН в 2002–2004 гг. Возраст больных колебался от 35 до 75 лет (медиана – 55 лет). Уровень pAkt1, VEGF, VEGFR1, VEGFR2 в лизатах тканей определяли с помощью стандартных наборов реактивов для иммуноферментного анализа. Для всех больных, включенных в исследование, проспективно фиксировали отдаленные результаты лечения, в том числе дату возникновения первого рецидива и/или дату смерти. Всего выявлено 9 случаев смерти и 3 рецидива заболевания.

У 48% обследованных больных активность Akt1 в опухоли была выше, чем в гомологичной гистологически неизменной ткани. Уровни pAkt1 в опухоли и неизменной ткани молочной железы достоверно положительно коррелировали между собой ( $r = 0,5$ ;  $p < 0,05$ ). Обнаружили достоверное увеличение уровня pAkt1 в опухоли на поздних стадиях заболевания (III–IV) по сравнению с ранними стадиями (I–IIa) ( $p < 0,05$ ). Кроме того, выявлена достоверная взаимосвязь уровня pAkt1 с размером опухоли: в 71% опухолей максимальным размером  $>5$  см наблюдали увеличение уровня pAkt1 (по сравнению с гистологически неизменной тканью), а в небольших опухолях ( $< 5$  см) – только в 42% образцов ( $p < 0,05$ ). Учитывая выше указанное, мы предположили, что значительное накопление pAkt1 в РМЖ может быть фактором, влияющим на общую выживаемость, и разделили больных на группы в зависимости от превышения уровня pAkt1 в опухоли медианы этого показателя в исследованной выборке. Для анализа безрецидивной и общей выживаемости больных разделили на две группы в зависимости от соотношения активности Akt1 в опухоли и неизменной ткани. Показана тенденция к снижению безрецидивной выживаемости в группе больных РМЖ с повышенной активностью Akt1 в опухоли ( $p = 0,17$ ) по сравнению с пациентами, у которых активность Akt1 в опухоли была ниже, чем в окружающей ткани. Взаимосвязи общей выживаемости с увеличением pAkt1 в опухоли по сравнению с нормальной тканью не выявлено. Продемонстрирована тенденция к увеличению общей 9-летней выживаемости в группе больных, у которых уровень pAkt1 в опухоли не превышал медиану ( $p = 0,1$ ). Анализ вышележащих эффекторов Akt1 - VEGF, VEGFR1, VEGFR2 – выявил увеличение уровней этих белков в 73–85% исследованных опухолей по сравнению с неизменными тканями. Таким образом, у большинства обследованных больных внутриопухолевое содержание VEGF, VEGFR1, VEGFR2 повышено и не представляется возможным стратифицировать больных в зависимости от превышения этих показателей в опухоли по сравнению с нормальной тканью молочной железы. Группы для анализа 9-летней выживаемости формировали в зависимости от средних значений и медиан исследованных показателей в опухоли. Не выявлено взаимосвязи уровней VEGF и VEGFR2 в опухоли с общей и безрецидивной выживаемостью больных РМЖ. Безрецидивная 9-летняя выживаемость в группе больных с внутриопухолевым содержанием VEGFR1 ниже среднего значения по выборке была выше, чем в группе, в которой VEGFR1 превышал средний показатель ( $p=0,05$ ). На момент проведения анализа в группе 15 больных с пониженным содержанием VEGFR1 в опухоли рецидивов не зафиксировано, что может указывать на перспективность использования этого показателя как фактора прогноза РМЖ.

Почти в 50% случаев РМЖ наблюдается увеличение уровня pAkt1 в опухоли по сравнению с гомологичной неизменной тканью. При этом активность Akt1 возрастает на поздних стадиях заболевания, в опухолях больших размеров. Уровень вышележащих эффекторов Akt1 VEGF, VEGFR1, VEGFR2 повышен в 73–85% исследованных опухолей по сравнению с неизменными тканями. Анализ 9-летней выживаемости больных РМЖ показал, что наиболее перспективными прогностическими показателями являются внутриопухолевое содержание белка pAkt1 и одного его эффекторов - VEGFR1.