

характеризуется высокой клинической эффективностью и позволяет достичь объективного ответа при опухолевых плевритах (80%, продолжительность ответа 8,5 мес), опухолевых асцитах (73,2%, 5,1 мес) и опухолевых перикардитах (95,7%, 3,4 мес). Данный вид иммунотерапии был хорошо переносим пациентами и не вызывал серьезных побочных эффектов, за исключением умеренных и обратимых проявлений гриппоподобного синдрома.

Таким образом, на основании полученных в исследовании данных внутриполостная ИЛ-2-биотерапия как наиболее доступный метод лечения в онкологической практике может эффективно применяться при опухолевых серозитах у больных при прогрессировании опухоли после 2–3 линий системной лекарственной терапии, не токсична и имеет хороший профиль переносимости.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Киселевский М.В. Адоптивная иммунотерапия при злокачественных опухолях. *Вестник РАМН*. 2003;1: 40–4.
2. Сельчук В.Ю., Бычков М.Б., Киселевский М.В. ред. *Опухолевые серозиты*. М.: Практическая медицина; 2011.
3. Титов К.С., Демидов Л.В., Шубина И.Ж., Киселевский М.В. Сравнение эффективности и переносимости внутрибрюшинной клеточной и ИЛ-2-иммунотерапии у больных с химиорезистентными асцитными формами рака желудка. *Российский онкологический журнал*. 2014; 3: 24–8.
4. Hontscha C., Borck Y., Zhou H., Messmer D., Schmidt-Wolf I.G.H. Clinical trials on CIK cells: first report of the international registry on CIK cells (IRCC). *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2011; 137 (2): 305–10.
5. Manjili M.H. Revisiting cancer immunoediting by understanding cancer immune complexity. *J. Pathol.* 2011; 224 (1): 5–9.
6. Sutlu T., Alici E. Natural killer cell-based immunotherapy in cancer: current insights and future prospects. *J. Intern. Med.* 2009; 266(2): 154–81.
7. Wang E., Panelli M.C., Monsurró V., Marincola F.M. A global approach to tumor immunology. *Cell Mol. Immunol.* 2004; 1 (4): 256–65.
8. Xue S.A., Stauss H.J. Enhancing immune responses for cancer therapy. *Cell Mol. Immunol.* 2007; 4 (3): 173–84.
9. June C.H. Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic. *J. Clin. Invest.* 2007; 117 (6): 1466–76.
10. Rosenberg S.A., Lotze M.T., Yang J.C., Topalian S.L., Chang A.E., Schwartzentruber D.J. et al. Prospective randomized trial of high-dose interleukin-2 alone or in conjunction with lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with advanced cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 1993; 85 (8): 622–32.
11. Sangiolo D. Cytokine induced killer cells as promising immunotherapy for solid tumors. *J. Cancer.* 2011; 2: 363–8.

12. Liu X., Li D., Zhang C. et al. Treatment of 121 patients with malignant effusion due to advanced lung cancer by intrapleural transfer of autologous or allogeneic LAK cells combined with rIL-2. *Chin. Med. Sci. J.* 1993; 8 (3): 186–9.
13. Ruggeri L., Capanni M., Urbani E., Perruccio K., Shlomchik W.D., Tosti A. et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science.* 2002; 295: 2097–100.

#### REFERENCES

1. Kiselevskiy M.V. Adoptive immunotherapy in cancer. *Vestnik RAMN*. 2003; 1: 40–4. (in Russian)
2. Sel'chuk V.Yu., Bychkov M.B., Kiselevskiy M.V., eds. *Tumor serosity. [Opukholevye serozity.]* Moscow: Prakticheskaya meditsina. 2011. (in Russian)
3. Titov K.S., Demidov L.V., Shubina I.Zh., Kiselevskiy M.V. Comparison of efficacy and tolerance of the intraperitoneal cell-based and IL-2 immunotherapy of patients with chemotherapy-resistant gastric cancer and malignant ascites. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal*. 2014; 3: 24–8. (in Russian)
4. Hontscha C., Borck Y., Zhou H., Messmer D., Schmidt-Wolf I.G.H. Clinical trials on CIK cells: first report of the international registry on CIK cells (IRCC). *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2011; 137 (2): 305–10.
5. Manjili M.H. Revisiting cancer immunoediting by understanding cancer immune complexity. *J. Pathol.* 2011; 224 (1): 5–9.
6. Sutlu T., Alici E. Natural killer cell-based immunotherapy in cancer: current insights and future prospects. *J. Intern. Med.* 2009; 266 (2): 154–81.
7. Wang E., Panelli M.C., Monsurró V., Marincola F.M. A global approach to tumor immunology. *Cell Mol. Immunol.* 2004; 1 (4): 256–65.
8. Xue S.A., Stauss H.J. Enhancing immune responses for cancer therapy. *Cell Mol. Immunol.* 2007; 4 (3): 173–84.
9. June C.H. Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic. *J. Clin. Invest.* 2007; 117 (6): 1466–76.
10. Rosenberg S.A., Lotze M.T., Yang J.C., Topalian S.L., Chang A.E., Schwartzentruber D.J. et al. Prospective randomized trial of high-dose interleukin-2 alone or in conjunction with lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with advanced cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 1993; 85 (8): 622–32.
11. Sangiolo D. Cytokine induced killer cells as promising immunotherapy for solid tumors. *J. Cancer.* 2011; 2: 363–8.
12. Liu X., Li D., Zhang C. et al. Treatment of 121 patients with malignant effusion due to advanced lung cancer by intrapleural transfer of autologous or allogeneic LAK cells combined with rIL-2. *Chin. Med. Sci. J.* 1993; 8 (3): 186–9.
13. Ruggeri L., Capanni M., Urbani E., Perruccio K., Shlomchik W.D., Tosti A. et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science.* 2002; 295: 2097–100.

Поступила 15.01.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.351-006-018-092:612.13]-091.8

**Кит О.И., Франциянц Е.М., Никипелова Е.А., Комарова Е.Ф.**

## НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕОПЛАСТИЧЕСКОГО АНГИОГЕНЕЗА В ТКАНИ ОБРАЗОВАНИЙ ПРЯМОЙ КИШКИ РАЗЛИЧНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ

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

*Развитие и рост неоплазмы осуществляются при непосредственной ее способности продуцировать ангиогенные факторы, стимулирующие неоваскуляризацию. В опухолевых образованиях прямой кишки различного генеза (первичные аденокарциномы III стадии (n = 73) и полипы (n = 35): тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, тубулярно-ворсинчатая аденома) изучали показатели тканевой фибринолитической системы и уровень факторов роста.*

Общей чертой в ткани рака прямой кишки и полипов является повышенное содержание VEGF-A, VEGF-R и TGF- $\beta$ 1, а также усиленное образование плазмина, что свидетельствует об усилении ангиогенеза и нарушении процессов пролиферации клеток ткани. Экспрессия факторов роста и функционирование фибринолитической системы в случае злокачественной трансформации находится в более четком взаимодействии и взаимовлиянии, имеет большее количество корреляционных связей. В ткани полипов показатели изученных факторов в целом занимают промежуточное положение между раковой и интактной тканью, что показывает возможные пути их злокачественной трансформации.

Ключевые слова: факторы роста; фибринолитическая система; рак прямой кишки; полипы; перифокальная зона.

Для цитирования: Российский онкологический журнал. 2015; 20(2): 12–18.

## SOME INDICES OF NEOPLASTIC ANGIOGENESIS IN TISSUES OF RECTAL TUMORS WITH VARIOUS MORPHOLOGICAL STRUCTURES

Kit O.I., Frantsiyants E.M., Nikipelova E.A., Komarova E.F.

Rostov Research Institute of Oncology, 344037, Rostov-on-Don, Russia

*The development and growth of the neoplasm is carried out directly by the ability to produce angiogenic factors that stimulate neovascularization. In the tumors of the rectum of various origins (primary adenocarcinoma of stage III (n = 73) and polyps (n = 35): tubular adenoma, villous adenoma, tubular-villous adenoma) the performance of tissue fibrinolytic system and the level of growth factors was studied.*

*A common feature in the tissue of colorectal cancer and polyps is the high content of VEGF-A, VEGF-R and TGF- $\beta$ 1, as well as the increased formation of plasmin, which indicates an increase in angiogenesis and cell proliferation processes violation tissue. Expression of growth factors and functioning of the fibrinolytic system in the case of malignant's transformation is in better interaction and mutual influence and has a greater number of correlations. In tissue polyps indicators of studied factors generally occupy an intermediate position between the cancer and the intact tissue, which shows the possible ways of their cancer's transformation.*

Key words: growth factors; fibrinolytic system; rectal cancer; polyps; perifocal area.

Citation: Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. 2015; 20(2): 12–18. (In Russ.)

Correspondence to: Ekaterina Komarova – PhD, Doctor of Biological Sciences; e-mail: super.gormon@ya.ru.

Received 23.01.15

Развитие и рост неоплазмы осуществляются при непосредственной ее способности продуцировать ангиогенные факторы, стимулирующие неоваскуляризацию злокачественной опухоли. В настоящее время активно разрабатываются механизмы образования неполноценного сосудистого русла опухоли и изучаются факторы, обеспечивающие этот процесс. Установлено, в частности, что ангиогенным действием обладают компоненты плазматических мембран аденокарциномы толстой кишки, способные связываться с лектином. К проангиогенным факторам прежде всего относят факторы роста, повышение экспрессии генов которых найдено в злокачественных опухолях различного генеза [1, 2].

Вместе с тем открытым остается вопрос о том, является ли ангиогенная активность до начала опухолевой трансформации и роста неоплазмы или после. Сосудистая система доставляет кислород и питательные вещества, элиминирует шлаки и осуществляет паракринную стимуляцию опухолевых клеток [3]. При перевивке двух клонов аденокарциномы толстой кишки человека под кожу мышей было установлено, что образование новых сосудов предшествовало началу опухолевого роста и отмечалось уже через несколько дней после перевивки [4]. Таким образом, неоплазмы сами подготавливают себе сосудистые пути, которые необходимы для создания и поддержания в периферических клетках гипeroxического и перокси-геназного состояний, необходимых для их развития.

Целью настоящего исследования стало изучение показателей тканевой фибринолитической системы и уровня некоторых факторов роста в ткани полипов и злокачественной опухоли прямой кишки.

### Материал и методы

Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ «РНИОИ». Обязательным условием включения в обследование было добровольное информированное согласие всех больных.

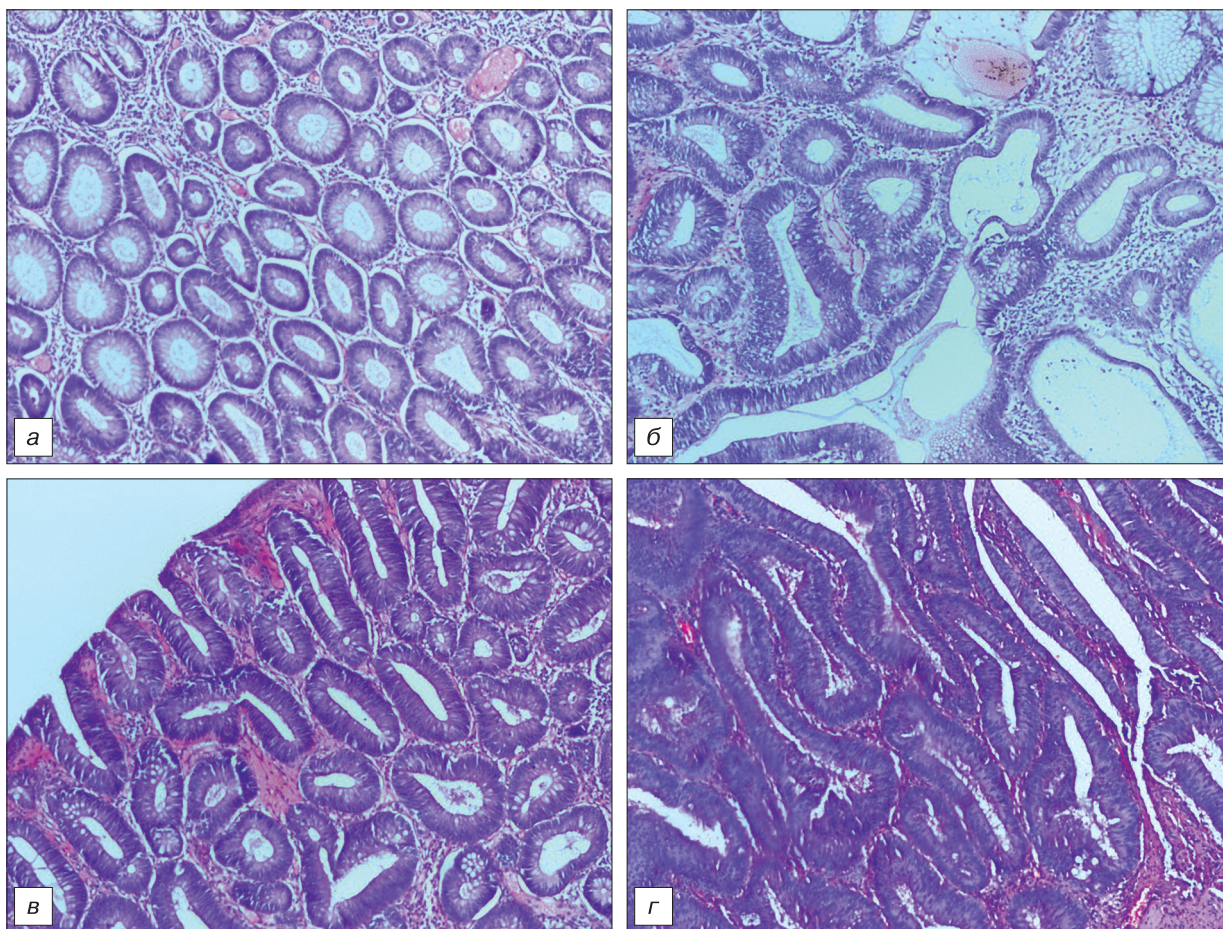
Исследовали образцы тканей, полученных от 73 больных с первичными аденокарциномами (III стадия) и 35 больных с полипами прямого отдела толстой кишки: тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, тубулярно-ворсинчатая аденома (см. рисунок).

При тубулярной аденоме определялись извитые железы. В строме отмечалась лимфоцитарная инфильтрация. В ворсинчатых аденомах определяли многочисленные тонкие ворсинки с заостренными кончиками. Сочетание тубулярных и ворсинчатых структур с преобладанием последних расценивали как тубулярно-ворсинчатые. Возраст всех больных составил от 38 до 74 лет.

В ходе оперативных вмешательств производилось удаление злокачественных и доброкачественных образований кишки с последующим биохимическим исследованием образцов ткани опухоли, ткани, непосредственно прилегающей к опухолевому очагу (перифокальная зона), а также визуально неизмененных участков кишки, отступая 10 см от края опухолевой ткани (линия резекции – условно-интактная ткань).

В 10% цитозольных фракциях ткани, приготовленных на калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1% твин-20 и 1% БСА, определяли активность

Для корреспонденции: Комарова Екатерина Федоровна – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. лаб. изучения патогенеза злокачественных опухолей, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14 линия, д. 63, e-mail: super.gormon@ya.ru.



Морфологические изменения в аденомах толстой кишки.

*а* – тубулярная аденома; *б* – тубулярная аденома с кистозным расширением просвета желез; *в* – тубулярно-ворсинчатая аденома; *г* – ворсинчатая аденома. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ .

комплекса плазмин-антиплазмин – PAF, содержание и активность ингибитора плазминогена урокиназного типа (uPA), ингибитора плазминогена тканевого типа (tPA),  $\alpha_2$ -макроглобулина (Immunodiagnostik, Германия) и уровень ростовых факторов – VEGF-A и его рецептора VEGF-R, EGF (Biosource, США), IFR-1 и IFR-2 (Mediagnost, США), TGF- $\beta_1$  (Bender MedSystems, Австрия) методом твердофазного иммуноферментного анализа и активность плазминогена (ПГ) спектрофотометрическим методом (ACTI-CHROMEPLG, США).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel (Windows XP). Данные представлены в виде  $M \pm m$ . Разницу отличий оценивали по критерию Стьюдента и считали достоверной при  $p < 0,05$ . Анализ корреляции между параметрами определяли по коэффициенту линейной корреляции Пирсона ( $r$ ), корреляцию считали достоверной при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Квазидноизрезультатов, представленных в табл. 1, в образцах ткани злокачественной опухоли уровень VEGF-A и его рецептора превышал показатель в интактной ткани в 11,7 и 1,8 раза. При этом коэффициент VEGF-A/VEGF-R в ткани злокачественной

опухоли прямой кишки, определяющий уровень свободного VEGF-A, превосходил показатель в условно интактной ткани в 6,7 раза.

Выше чем в интактной ткани было содержание инсулиноподобных факторов роста IGF-I и IGF-II – в 1,6 и 2,1 раза соответственно. В ткани злокачественной опухоли прямой кишки найдено повышенное, TGF- $\beta_1$  относительно интактной ткани прямой кишки в 1,8 раза.

Все показатели уровня изученных ростовых факторов в перифокальной зоне злокачественной опухоли прямой кишки не имели достоверных отличий от значений в ткани по линии резекции (см. табл. 1).

Согласно данным литературы, уровни VEGF и его рецептора, вероятно, могут интерпретироваться как показатели злокачественности опухоли. Считается, что эти показатели играют значительную роль в проявлении и развитии рака толстой кишки [5, 6]. Это нашло подтверждение в нашем исследовании (см. табл. 1; табл. 2).

Так, в ткани опухоли больных раком прямой кишки, имеющих метастазы в печень, уровень VEGF-A превышал значения в ткани опухоли больных, не имеющих метастазов, в среднем в 2,5 раза (см. табл. 2). При этом уровень рецептора в ткани опухоли больных раком прямой кишки с метастазами

Таблица 1

## Уровень факторов роста в ткани новообразований прямой кишки без метастазов в печень

Показатель	Рак			Полип		
	опухоль	перифокальная зона	линия резекции	опухоль	перифокальная зона	линия резекции
VEGF-A, пг на 1 г ткани	3113,9 ± 121,4*	297,3 ± 25,6**	265,1 ± 21,9	801,8 ± 76,3*	218,7 ± 19,4**	238,1 ± 25,2
VEGF-R, пг на 1 г ткани	60,5 ± 4,2*	39,2 ± 3,6**	34,5 ± 2,8	75,7 ± 6,3*	30,9 ± 2,4**	28,0 ± 2,9
VEGF-A/ VEGF-R	51,5 ± 4,2*	7,6 ± 0,6**	7,7 ± 0,8	10,5 ± 1,2	7,1 ± 0,6**	8,5 ± 0,9
IGF-I, мкг на 1 г ткани	13,9 ± 1,4*	8,9 ± 0,9**	8,5 ± 0,7	10,1 ± 0,8	9,1 ± 0,8	9,9 ± 0,9
IGF-II, нг на 1 г ткани	7,2 ± 0,7*	3,5 ± 0,3**	3,5 ± 0,7	5,7 ± 0,5	6,5 ± 0,7	5,7 ± 0,6
TGF-β1, пг на 1 г ткани	469,7 ± 15,8*	298,2 ± 28,3**	255,4 ± 24,3	451,8 ± 32,8*	255,8 ± 21,3**	269,0 ± 21,8
EGF, пг на 1 г ткани	63,8 ± 7,4	69,8 ± 5,8	66,3 ± 5,4	80,2 ± 9,1	67,1 ± 5,8	57,2 ± 6,4

Примечание. \* – достоверно по отношению к показателям в соответствующей интактной ткани; \*\* – в ткани соответствующей опухоли.

Таблица 2

## Уровень факторов роста в ткани рака прямой кишки в зависимости от метастазирования

Показатель	Без метастазов в печень			С метастазами в печень		
	опухоль	перифокальная зона	линия резекции	опухоль	перифокальная зона	линия резекции
VEGF-A, пг на 1 г ткани	3113,9 ± 121,4	297,3 ± 25,6	265,1 ± 21,9	7703,8 ± 532,4*	274,7 ± 25,3	264,1 ± 31,2
VEGF-R, пг на 1 г ткани	60,5 ± 4,2	39,2 ± 3,6	34,5 ± 2,8	65,9 ± 5,7	39,8 ± 4,1	37,8 ± 3,2
VEGF-A/VEGF-R	51,5 ± 4,2	7,6 ± 0,6	7,7 ± 0,8	150,7 ± 14,6*	6,9 ± 0,8	7,1 ± 0,6
EGF, пг на 1 г ткани	13,9 ± 1,4	8,9 ± 0,9	8,5 ± 0,7	288,2 ± 23,7*	67,7 ± 6,2*	74,1 ± 4,8*

Примечание. \* – достоверно по отношению к показателям в соответствующей ткани без метастазов.

в печень не имел достоверных отличий от значений в ткани опухоли больных, не имеющих метастазов, а коэффициент VEGF-A/ VEGF-R возрос в среднем в 2,9 раза. В опухоли больных раком прямой кишки с метастазами в печени уровень EGF был повышен в 20,7 раза относительно показателя в ткани рака без метастазов. Очевидно, что показатели VEGF-A/ VEGF-R и EGF можно считать прогностическими в плане развития прогрессирования злокачественного процесса.

Анализ направленности изменения уровня VEGF, IGF-I и IGF-II в исследуемых образцах тканей показал, что оба IGF имеют прямое влияние на содержание VEGF-A в ткани злокачественной опухоли прямой кишки. Прослеживалась высокая положительная корреляционная связь уровней VEGF-A и IGF-I ( $r = 76$ ;  $p < 0,01$ ) и VEGF-A и IGF-II ( $r = 79$ ;  $p < 0,01$ ). Положительные корреляции высокой степени были выявлены между уровнем VEGF-A и TGF-β1 ( $r = 78$ ;  $p < 0,01$ ).

Для понимания патогенетической значимости ростовых факторов интерес представляло изучение их уровня экспрессии в ткани доброкачественных образований прямой кишки (тубулярная аденома, ворсинчатая аденома, тубулярно-ворсинчатая аденома).

Необходимо отметить, что мы не обнаружили достоверных различий в уровне показателей в ткани тубулярной аденомы, ворсинчатой аденомы и тубулярно-ворсинчатой аденомы, поэтому объединили их в одну группу. Было установлено, что в ткани полипов уровень VEGF-A превышал показатель в интактной ткани прямой кишки в 3,4 раза, оставаясь при этом в

3,9 раза ниже, чем в ткани злокачественной опухоли. Уровень рецептора VEGF-R в ткани полипов превышал значения показателя в интактной ткани в 2,7 раза, а ткани рака толстой кишки – в 1,3 раза. Вместе с тем уровень коэффициента соотношения VEGF-A/ VEGF-R в ткани полипов не имел достоверных отличий от показателей в интактной ткани и был в 4,9 раза ниже, чем в ткани злокачественной опухоли (см. табл. 1).

Известно, что на ранних этапах малигнизации аденомы толстой кишки играет роль VEGF-A, причем рост уровня экспрессии отмечается и в участках, макро- и микроскопически не вовлеченных в патологический процесс [7]. Связывание VEGF-A с VEGF-рецептором-2 необходимо для нормального ангиогенеза и гемопоза, и основные эффекты VEGF-A опосредованы через этот рецептор.

Не обнаружено в ткани полипов изменения содержания IGF-I и IGF-II относительно интактной ткани. Повышенными по сравнению со значениями в интактной ткани были уровень TGF-β1 – в 1,7 раза и EGF – в 1,4 раза. При этом содержание TGF-β1 и EGF не имело достоверных отличий от ткани такового в опухоли.

Корреляционная связь была обнаружена между уровнем VEGF-A, VEGF-R, TGF-β1 и EGF: положительная высокой степени – между экспрессией VEGF-A и TGF-β1 ( $r = 81$ ;  $p < 0,01$ ) и средней – между уровнями VEGF-A и EGF ( $r = 62$ ;  $p < 0,01$ ), VEGF-R и EGF ( $r = 60$ ;  $p < 0,01$ ).

Показатели всех изученных факторов в перифокальной зоне полипов достоверно не отличались от

## Показатели тканевой фибринолитической системы новообразований прямой кишки

Показатель	Рак			Полип		
	опухоль	перифокальная зона	линия резекции	опухоль	перифокальная зона	линия резекции
РАР, нг на 1 г ткани	109 ± 10,1*	64,7 ± 6,8**	77,6 ± 6,2	65,1 ± 5,4* (n = 30); 97,5 ± 3,6* (n = 5)	99,7 ± 7,5*, **	43,3 ± 3,5
Плазминоген, мМ на 1 г ткани	1,9 ± 0,14*	1,9 ± 0,2*	2,8 ± 0,3	2,9 ± 0,3 (n = 30); 1,9 ± 0,1* (n = 5)	1,7 ± 0,2*, **	2,7 ± 0,3
t-РА акт., ед. на 1 г ткани	3,1 ± 0,73*	5,4 ± 0,5*, **	7,1 ± 0,74	4,7 ± 0,5*	9,7 ± 0,8*, **	6,5 ± 0,7
t-РА содержание, нг на 1 г ткани	32,3 ± 7,8	36,2 ± 3,4	38,5 ± 6,3	46,8 ± 3,2*	71,1 ± 6,3*, **	37,3 ± 2,4
u-РА акт., ед. на 1 г ткани	0,68 ± 0,12*	0,49 ± 0,05*, **	0,21 ± 0,05	0,28 ± 0,3	0,29 ± 0,4**	0,22 ± 0,3
u-РА содержание, нг на 1 г ткани	45,6 ± 3,2*	22,1 ± 2,1*, **	5,7 ± 0,09	5,6 ± 0,2	5,1 ± 0,4	5,5 ± 0,6
α <sub>2</sub> -МГ, мг на 1 г ткани	8,5 ± 0,95	9,1 ± 0,7	8,95 ± 1,5	8,5 ± 0,6	47,0 ± 3,9*, **	8,8 ± 0,9

Примечание. \* – достоверно по отношению к показателям в соответствующей интактной ткани; \*\* – в ткани соответствующей опухоли.

значений в интактной ткани. Полученные результаты позволяют заключить, что изменение уровня VEGF-A, VEGF-R, TGF-β1 и EGF можно считать патогенетическими факторами развития рака толстой кишки.

Далее представляло интерес изучение некоторых показателей активности тканевой фибринолитической системы в опухолях прямой кишки (табл. 3).

Мы обнаружили t-РА и u-РА в исследованных образцах условно-интактной ткани (по линии резекции) прямой кишки. При этом уровень и активность t-РА были выше, чем содержание и активность u-РА в 33,8 и 6,7 раза. Вместе с тем в ткани злокачественной опухоли прямой кишки уровень активаторов плазминогена имел разнонаправленный характер. Уровень активности u-РА в указанных образцах неоплазмы был повышен относительно интактной ткани в 3,2 раза, а содержание u-РА в злокачественной опухоли было выше, чем в интактной ткани, в 8 раз (см. табл. 3). Другая направленность изменений наблюдалась относительно показателей t-РА в ткани злокачественной опухоли прямой кишки. Так, уровень активности t-РА был снижен в 2,3 раза относительно интактной ткани, а содержание t-РА не отличалось от контрольных значений.

Уровень плазмина в тканях опухоли была повышенной в 1,4 раза, при этом отмечалось снижение активности плазминогена в 1,5 раза (см. табл. 3). Активность α<sub>2</sub>-макроглобулина в ткани опухоли прямой кишки не имела достоверных отличий от значений в визуально не измененной ткани.

Исходя из полученных результатов, очевидно, что в ткани злокачественной опухоли прямой кишки было повышено образование плазмина, а повышение уровня активаторов плазминогена связано с их важной ролью в процессе неоваскуляризации. Известно, что, активируя внеклеточный протеолиз, активаторы плазминогена участвуют в разрушении базальной мембраны и матриксных белков, создавая условия для миграции эндотелиальных клеток и формирования новых капилляров [8, 9].

Было изучено состояние тканевой фибринолитической активности в ткани перифокальной зоны

опухоли прямой кишки (см. табл. 3). Уровень показателей плазмина и α<sub>2</sub>-макроглобулина в ткани перифокальной зоны опухоли не имели достоверных отличий от значений в интактной ткани по линии резекции, а показатель активности плазминогена достоверно не отличался от значений в ткани опухоли. Все остальные исследуемые показатели занимали промежуточное положение между значениями в ткани рака и интактной ткани.

В ткани 85,7% полипов уровень плазмина был в 1,5 раза выше относительно интактной ткани, но в 1,7 раза ниже, чем показатель в ткани злокачественной опухоли. При этом не отмечено снижения содержания плазминогена в ткани полипа прямой кишки относительно интактной ткани (см. табл. 3). В 5 из 35 образцов полипов прямой кишки уровень плазмина оказался повышенным в 2,3 раза относительно интактной ткани и не имел достоверных отличий от показателей в ткани злокачественной опухоли прямой кишки. Изменения касались и уровня плазминогена: в указанных 5 образцах его содержание было снижено относительно интактной ткани на 29,6% и не имело достоверных отличий от значений в ткани злокачественной опухоли. Ткань полипов и опухоли принципиально различалась по уровню активаторов плазминогена. В отличие от ткани опухоли в ткани полипов не обнаружено изменение уровня активатора плазминогена урокиназного типа по отношению к интактной ткани, вместе с тем активность t-РА была сниженной на 27,7% на фоне повышения содержания t-РА на 25,5%. Не найдено, как и в ткани опухоли, изменения активности α<sub>2</sub>-макроглобулина. То есть в ткани полипов часть изученных показателей по направленности изменения активности были сходны с таковыми в ткани злокачественной опухоли, а часть достоверно не отличалась от интактной ткани.

Интересные изменения обнаружены в ткани перифокальной зоны полипов: активность РАР повышалась относительно интактной ткани в 2,3 раза и была выше в 1,5 раза, чем в ткани перифокальной зоны злокачественной опухоли. Это происходило на фоне снижения на 37% содержания плазминогена относительно нормы.

Так же как и в ткани полипа, в ткани перифокальной зоны не обнаружено изменения активности и содержания активатора плазминогена урокиназного типа. При этом активность и содержание активатора плазминогена тканевого типа были выше в 1,5 и 1,9 раза соответственно, чем в интактной ткани, и в 2,1 и 1,5 раза, чем в ткани полипа. Активность  $\alpha_2$ -макроглобулина в ткани перифокальной зоны полипов превосходила значения в ткани по линии резекции и полипов в среднем в 5,3 раза.

Обобщая результаты изучения состояния фибринолитической системы в ткани доброкачественных и злокачественных новообразований прямой кишки, обнаружены общие и различные черты. К общим моментам относится повышение уровня плазмина, снижение содержания тканевого ингибитора плазминогена и неизменность активности  $\alpha_2$ -макроглобулина. При этом в ткани рака прямой кишки была значительно увеличена урокиназа при сниженном содержании плазминогена и активности тканевого его активатора. Напротив, в ткани полипов эти показатели не изменились относительно интактной ткани. Также среди различий в функционировании системы фибринолиза доброкачественных и злокачественных новообразований прямой кишки выявлено разнонаправленное изменение активности тканевого активатора плазминогена. Исходя из вышесказанного, можно предположить, что в ткани новообразований прямой кишки независимо от гистотипа происходит активация фибринолитической системы за счет усиления образования плазмина на фоне неизменной активности ингибитора  $\alpha_2$ -макроглобулина. Однако в ткани рака активация плазминогена происходит за счет урокиназы, а в ткани полипов превалирует активатор тканевого типа. Наши результаты согласуются с многочисленными исследованиями, где указывается усиление активности урокиназы при различных процессах злокачественного характера [10–12].

Интересные результаты были получены при анализе корреляций компонентов системы фибринолиза и ростовых факторов ткани рака и полипов прямой кишки. Считается, что VEGF запускает активацию каскадов протеиназ, участвующих в деградации экстраклеточного матрикса. Связываясь с эндотелиальными клетками, VEGF индуцирует экспрессию активаторов и ингибиторов плазминогена, урокиназных рецепторов, матриксных металлопротеиназ коллагеназы и желатиназы А, стимулирует фосфорилирование FAK (Focal adhesion kinase), в то же время снижается уровень тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ 1 и 2 [13].

Все изученные показатели при раке прямой кишки имеют четко выраженные корреляционные связи разной направленности и степени. Однако наиболее сильные положительные корреляции отмечены для уровня VEGF-A, VEGF-R, EGF, TGF- $\beta$ 1 с уровнем PAP и u-PA антигена и активности (для VEGF  $r_1 = 78$ ,  $r_2 = 79$ ,  $r_3 = 80$ ;  $p_{1-3} < 0,05$ , для VEGF-R  $r_1 = 77$ ,  $r_2 = 81$ ,  $r_3 = 78$ ;  $p_{1-3} < 0,05$ , для EGF  $r_1 = 77$ ,  $r_2 = 81$ ,  $r_3 = 78$ ;  $p_{1-3} < 0,05$ , для TGF- $\beta$ 1  $r_1 = 78$ ,  $r_2 = 79$ ,  $r_3 = 77$ ;  $p_{1-3} < 0,05$ ). Сильные отрицательные корреляционные связи обнаружены в ткани рака прямой кишки между уровнем VEGF-A, VEGF-R, EGF, TGF- $\beta$ 1 и содержанием плазминогена и t-PA-активности: для VEGF  $r_1 = -80$ ,  $r_2 = -77$ ;  $p_{1,2} < 0,05$ , для VEGF-R  $r_1 = -78$ ,

$r_2 = -77$ ;  $p_{1,2} < 0,05$ , для EGF  $r_1 = -79$ ,  $r_2 = -80$ ;  $p_{1,2} < 0,05$ , для TGF- $\beta$ 1  $r_1 = -80$ ,  $r_2 = -79$ ;  $p_{1,2} < 0,05$ .

Важно заметить, что для ткани полипов прямой кишки такие четкие взаимосвязи были обнаружены только для уровня PAP и факторов роста VEGF-A, VEGF-R и TGF- $\beta$ 1 (для VEGF-A  $r = 81$ ;  $p < 0,01$ , для VEGF-R  $r = 80$ ;  $p < 0,01$ , и для TGF- $\beta$ 1  $r = 79$ ;  $p < 0,01$ ).

Таким образом, мы обнаружили повышенный уровень VEGF-A и TGF- $\beta$ 1, а также усиленное образование плазмина в ткани рака и полипов, что является общей чертой и свидетельствует об усилении ангиогенеза и нарушении процессов пролиферации и дифференцировки клеток ткани в доброкачественных, аналогично таковым в злокачественных новообразованиях прямой кишки. Однако большее количество корреляционных связей в случае злокачественной трансформации говорит о более согласованной работе изученных систем, а также об их большей вовлеченности в исследованные процессы. Можно предположить, что экспрессия факторов роста и функционирование фибринолитической системы в тканях злокачественных опухолей находится в четком взаимодействии и взаимовлиянии. В ткани полипов показатели изученных факторов в целом занимают промежуточное положение между раковой и интактной тканью, что показывает возможные пути их злокачественной трансформации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бабкина И.В., Осипов Д.А., Соловьев Ю.Н., Булычева И.В., Мачак Г.Н., Алиев М.Д., Кушлинский Н.Е. Эндостатин, плацентарный фактор роста и факторы роста фибробластов первого и второго типа в сыворотке крови больных первичными опухолями костей. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009; 148 (8): 218–22.
2. Xudong Tang, Qunzhou Zhang, Shihong Shi, YunYen, Xiangyong Li, Yuefei Zhang et al. Bisphosphonates suppress insulin-like growth factor 1-induced angiogenesis via the HIF-1 $\alpha$ /VEGF signaling pathways in human breast cancer cells. *Int. J. Cancer*. 2010; 126 (1): 90–103.
3. Жуков Н.В. Ангиогенез как фактор метастазирования и мишень для противоопухолевой терапии. *Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2009; 8 (4): 27–33.
4. Runkel S, Hunter N., Milas L. An intradermal assay for quantification and kinetics studies of tumor angiogenesis in mice. *Radiat Res*. 1991; 126 (2): 237–43.
5. Bendardaf Riyad, Buhmeida Abdelbaset, Hilska Marja et al. VEGF-1 expression in colorectal cancer is associated with disease localization, stage, and long-term disease-specific survival. *Anticancer Res*. 2008; 28 (68): 3865–70.
6. Beştaş R., Kaplan M.A., İşikdoğan A. The correlation between serum VEGF levels and known prognostic risk factors in colorectal carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2014; 61(130): 267–71.
7. Hanrahan V., Currie M.L., Cunningham S.P. et al. The angiogenic switch for vascular endothelial cell growth factor (VEGF)-A, VEGF-B, VEGF-C, and VEGF-D in the adenoma-carcinoma sequence during colorectal cancer progression. *J. Pathol.* 2003; 200 (2): 183–94.
8. Парфенова Е.В., Плеханова О.С., Ткачук В.А. Система активаторов плазминогена в ремоделировании сосудов и ангиогенезе. *Биохимия*. 2002; 67 (1): 139–56.
9. Mostefai H.A., Andriantsitohaina R., Martinez M.C. Plasma membrane microparticles in angiogenesis: role in ischemic diseases and in cancer. *Physiol. Res*. 2008; 57 (3): 311–20.
10. Матякин Е.Г., Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. и др. Активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов и их

ингибитор PAI-1 в опухолях больных раком слизистой оболочки полости рта: взаимосвязь с основными клинико-морфологическими факторами. *Российский биотерапевтический журнал*. 2009; 4: 29–32.

11. Воротников И.К., Тулеуова А.А., Мамедов У.Р. и др. Содержание активатора плазминогена урокиназного типа в цитозоле опухолей молочной железы. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2010; 6: 28–31.
12. Францианц Е.М., Моисеенко Т.И., Кошелева О.Н., Адамян М.Л. Состояние некоторых компонентов фибринолитической системы ткани эндометрия при синхронном развитии рака эндометрия и миомы матки. *Паллиативная медицина и реабилитация*. 2012; 4: 43–6.
13. Folkman J. Angiogenesis. *Annu. Rev. Med.* 2006; 57: 1–18.

## REFERENCES

1. Babkina I.V., Osipov D.A., Solov'yev Yu.N., Bulycheva I.V., Machak G.N., Aliev M.D., Kushlinskiy N.E. Endostatin, placental growth factor, fibroblast growth factors of the first and second types in the serum of patients with primary tumors of bone. *Byulleten' experimental'noy biologii i meditsiny*. 2009; 148 (8): 218–22. (in Russian)
2. Xudong Tang, Qunzhou Zhang, Shihong Shi, YunYen, Xiangyong Li, Yuefei Zhang et al. Bisphosphonates suppress insulin-like growth factor 1-induced angiogenesis via the HIF-1 $\alpha$ /VEGF signaling pathways in human breast cancer cells. *Int. J. Cancer*. 2010; 126 (1): 90–103.
3. Zhukov N.V. Angiogenesis as a factor in metastasis and a target for anticancer therapy. *Voprosy gematologii, onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2009; 8 (4): 27–33. (in Russian)
4. Runkel S., Hunter N., Milas L. An intradermal assay for quantification and kinetics studies of tumor angiogenesis in mice. *Radiat Res.* 1991; 126 (2): 237–43.
5. Bendardaf Riyad, Buhmeida Abdelbaset, Hilska Marja et al. VEGF-1 expression in colorectal cancer is associated with disease localization, stage, and long-term disease-specific survival. *Anticancer Res.* 2008; 28 (68): 3865–70.
6. Bestaş R., Kaplan M.A., İşikdoğan A. The correlation between serum VEGF levels and known prognostic risk factors in colorectal carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2014; 61(130): 267–71.
6. Hanrahan V., Currie M.L., Cunningham S.P. et al. The angiogenic switch for vascular endothelial cell growth factor (VEGF)-A, VEGF-B, VEGF-C, and VEGF-D in the adenoma-carcinoma sequence during colorectal cancer progression. *J. Pathol.* 2003; 200 (2): 183–94.
8. Parfenova E.V., Plekhanova O.S., Tkachuk V.A. Plasminogen activator system in vascular remodeling and angiogenesis. *Bio-khimiya*. 2002; 67 (1): 139–56. (in Russian)
9. Mostefai H.A., Andriantsitohaina R., Martínez M.C. Plasma membrane microparticles in angiogenesis: role in ischemic diseases and in cancer. *Physiol. Res.* 2008; 57 (3): 311–20.
10. Matyakin E.G., Gershteyn E.S., Kushlinskiy N.E. et al. Plasminogen activators urokinase and tissue types and their inhibitor PAI-1 in tumors of patients with cancer of the oral mucosa: relationship with the main clinical and morphological factors. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal*. 2009; 4: 29–32. (in Russian)
11. Vorotnikov I.K., Tuleuova A.A., Mamedov U.R. et al. Contents of urokinase-type plasminogen activator in the cytosol of breast tumors. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2010; 6: 28–31. (in Russian)
12. Frantsiyants E.M., Moiseenko T.I., Kosheleva O.N., Adamyam M.L. The status of certain components of the fibrinolytic system with synchronous endometrial tissue of endometrial cancer and uterine fibroids. *Palliativnaya meditsina i reabilitatsiya*. 2012; 4: 43–6. (in Russian)
13. Folkman J. Angiogenesis. *Annu. Rev. Med.* 2006; 57: 1–18.

Поступила 23.01.15

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 618.11-006.04-092:612.017.1]-07

**Никогосян С.О.<sup>1</sup>, Тупицын Н.Н.<sup>1</sup>, Моженкова А.В.<sup>1</sup>, Кокосадзе Н.В.<sup>1</sup>, Левицкая Н.В.<sup>2</sup>, Зуева Е.В.<sup>1</sup>, Кузнецов В.В.<sup>1</sup>**

## К ХАРАКТЕРИСТИКЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ ИНТРАТУМОРАЛЬНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

<sup>1</sup>ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина», 115478, г. Москва; <sup>2</sup>ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России; 125993, г. Москва

*В работе представлены некоторые механизмы противоопухолевого иммунитета, исследованы субпопуляции лимфоцитов, присутствующих в ткани серозного рака яичника (интратуморальных лимфоцитов). Изучен состав интратуморальных лимфоцитов в строме опухоли в зависимости от степени ее дифференцировки. Выявлена достоверная взаимосвязь между степенью инфильтрации зрелыми Т-клетками и степенью дифференцировки серозного рака яичника.*

**Ключевые слова:** серозный рак яичника; интратуморальные лимфоциты; проточная цитофлуориметрия.

**Для цитирования:** Российский онкологический журнал. 2015; 20(2): 18–25.

### CHARACTERISTICS OF LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS INTRATUMORAL OVARIAN CANCER

*Nikoghosian S.O.<sup>1</sup>, Tupitsyn N.N.<sup>1</sup>, Mozhenkova A.V.<sup>1</sup>, Kokosadze N.V.<sup>1</sup>, Levitskaya N.V.<sup>2</sup>, Zueva E.V.<sup>1</sup>, Kuznetsov V.V.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, 115478, Moscow, Russian Federation; <sup>2</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Education, 125993, Moscow, Russian Federation

*The article presents some mechanisms of antitumor immunity, lymphocyte subpopulations present in tissues of serous ovarian cancer were studied (intratumoral lymphocytes). The composition of intratumoral lymphocytes in tumor*