

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Блинова С. А. //Арх. пат. — 1988. — Вып. 9. — С. 46—50.
2. Вапник В. Н., Глазкова Т. Г., Кошечев В. А. и др. Алгоритмы и программы восстановления зависимостей. — М., 1984.
3. Гистологическая классификация опухолей легкого. ВОЗ. — Женева, 1981.
4. Глазкова Т. Г., Бондарев Н. Г. //Конференция «Методы обучения распознавания образов»: Материалы. — М., 1993. — С. 23—27.
5. Дерижанова Е. С., Резникова Г. Л. //Вопр. онкол. — 1985. — Т. 31, № 4. — С. 21—26.
6. Кац В. А., Ягубов А. С., Думанян Д. Г. //Арх. пат. — 1987. — Вып. 3. — С. 12—20.
7. Кветной И. М., Дейнеко Г. М., Райхлин Н. Т. //Экспер. онкол. — 1983. — № 3. — С. 3—9.
8. Райхлин Н. Т., Давид Г., Лапиш К. (ред.). Ультроструктура опухолей человека. (Руководство для диагностики). — М., 1981.
9. Райхлин Н. Т., Смирнова Е. А. //Арх. пат. — 1984. — Вып. 8. — С. 3—13.
10. Райхлин Н. Т., Смирнова Е. А., Блинова С. А. и др. //Вопр. онкол. — 1989. — Т. 35, № 2. — С. 203—207.
11. Райхлин Н. Т., Кветной И. М., Осадчук М. А. АПУД—система (общепатологические и онкологические аспекты). — Обнинск, 1993. — Т. 1—2.
12. Самсонов В. А. //Арх. пат. — 1995. — Вып. 4. — С. 20—24.
13. Франк Г. А., Трахтенберг А. Х., Богуславский В. М. //Вопр. онкол. — 1989. — Т. 35, № 2. — С. 192—198.
14. Южаков В. В., Райхлин Н. Т., Кветной И. М. и др. //Арх. пат. — 1996. — Вып. 2. — С. 21—28.
15. Юшков П. В. //Там же. — 1997. — Вып. 1. — С. 69—73.
16. Barbareshi M. et al. //Med. biol. Environ. — 1990. — Vol. 18, N 3. — P. 211—216.
17. Bartsch G., Kvetnoy J., Kvetnaia T. et al. //J. Pineal Res. — 1997. — Vol. 23. — P. 90—99.
18. Francioni F., Rendina, Venuta F. et al. //Eur. J. cardiorac. Surg. — 1990. — Vol. 4. — P. 472—476.
19. Kvetnoy I. M., Yuzhakov V. V., Raikhlin N. T. //Microscopy and analysis. — 1997. — Vol. 47. — P. 13—15.
20. Morell M. et al. //Path. Res. Pract. — 1991. — Vol. 187, N 6. — P. 731.
21. Rolak I. M., Bloom S. R. //Immunocytochemistry: Modern Methods and Applications /Ed. I. Rolak. — Bristol, 1986. — P. 328—348.
22. Thunnissen F. B. et al. //Amer. J. Path. — 1988. — Vol. 132, N 1. — P. 119—144.
23. Valli V. Corin B., Fabris G., Sheppard V. //J. Path. — 1993. — Vol. 170. — Suppl. — P. 405.
24. Zachariadis E. et al. //Arch. Un. med. balkan. — 1988 (1989). — Vol. 26, N 5. — P. 502.

Поступила 22.12.99 / Submitted 22.12.99

© Коллектив авторов, 2000
УДК 618.19-006.04-078.73-091.8

*Е. С. Герштейн, О. И. Костылева, В. П. Летыгин,
У. Мамедов, Н. Е. Кушлинский*

**ИММУНОФЕРМЕНТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ АКТИВАЦИИ
ПЛАЗМИНОГЕНА В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ
ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: КОРРЕЛЯЦИЯ
С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ
ХАРАКТЕРИСТИКАМИ**

НИИ клинической онкологии

Одним из основных механизмов инвазии и метастазирования злокачественных опухолей является разрушение окружающей опухоль базальной мембраны и внеклеточного матрикса ассоциированными с опухолью протеазами [12]. Центральную роль в этих процессах может играть сериновая протеаза — активатор плазминогена урокиназного типа (uPA), являющийся ключевым звеном протеолитического каскада, приводящего к образованию плазмина, разрушающего компоненты опухолевой стромы [5]. Система активации плазминогена, в частности uPA, имеет также непосредственное отношение к процессам неоангиогенеза в опухолях [9]. Активность uPA регулируется несколькими способами; в частности, подавляется двумя белковыми ингибиторами, принадлежащими к семейству серпинов, — PAI-1 и PAI-2 [2]. Помимо uPA, в активации плазминогена

*E.S.Gerstein, O.I.Kostyleva, V.P.Letyagin, U.Mamedov,
N.E.Kushlinsky*

**ENZYME IMMUNOASSAY OF PLASMINOGEN
ACTIVATION FACTORS IN BREAST CANCER:
CORRELATION WITH CLINICAL AND
MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS**

Institute of Clinical Oncology

Destruction of tumor-surrounding basement membrane and extracellular matrix by tumor-associated proteases is a principal mechanism of cancer invasion and metastasis [12]. A serine protease, urokinase plasminogen activator (uPA), is a key element of proteolytic cascade resulting in production of plasmin that destroys tumor stroma and may play the central role in these processes [5]. Plasminogen activation factors, in particular uPA, are also related to tumor neoangiogenesis [9]. There are several mechanisms of uPA activity regulation including inhibition by two proteins from the serine class, that is PAI-1 and PAI-2 [2]. Tissue plasminogen activator (tPA) plays an active part in breast tumor plasminogen activation together with the uPA [4]. These two enzymes normally belong to the fibrinolytic system, the tPA being mainly secreted by endothelial cells

Таблица 1

Table 1

Концентрации uPA, PAI-1 и tPA в цитозолях опухолей и гистологически неизмененных тканей больных раком молочной железы (парное сравнение показателей 35 больных, у которых одновременно исследована опухоль и участок гистологически неизменной молочной железы)

Cytosol uPA, PAI-I and tPA concentrations in tumor and intact breast of patients with breast cancer (pair comparison of specimens from tumors and histologically unchanged tissue of 35 patients)

Ткань	uPA	PAI-1*	tPA
	нг/мг белка		
Опухоль Tumor	1,26 ± 0,31 (0,02 — 8,93)	0,89 ± 0,15 (0,04 — 2,78)	0,87 ± 0,26 (0,00 — 8,16)
Неизмененная железа Intact breast	0,32 ± 0,05** (0,00 — 1,31)	0,12 ± 0,02*** (0,01 — 0,34)	1,17 ± 0,17 (0,00 — 3,68)
Tissue	ng/mg protein		
	uPA	PAI-I*	tPA

* Концентрация PAI-1 определена у 20 больных.

** $p < 0,01$ по сравнению с опухолью.

*** $p < 0,0001$ по сравнению с опухолью.

Здесь и в табл. 2—4 в скобках — предел колебаний концентраций.

* PAI-1 concentration was measured in 20 patients.

** $p < 0,01$ as compared to tumor.

*** $p < 0,0001$ as compared to tumor.

Here and in tables 2-4 numbers in parentheses are ranges.

в опухолях молочной железы участвует также активатор тканевого типа (tPA) [4]. В норме оба эти фермента являются компонентами фибринолитической системы, при этом tPA секретируется преимущественно эндотелиальными клетками, а uPA — клетками почечной паренхимы [3]. Оба ингибитора uPA эффективно действуют и на tPA.

Результаты ряда клинических исследований свидетельствуют, что изучение компонентов системы активации плазминогена в злокачественных опухолях молочной железы является весьма перспективным с клинической точки зрения [6, 10], причем наиболее значимыми показателями являются, по-видимому, uPA и PAI-1, повышенный уровень которых свидетельствует о неблагоприятном прогнозе заболевания [8, 14].

Целью исследования, проводимого в лаборатории клинической биохимии РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, является оценка роли uPA и PAI-1, tPA и их соотношения в прогнозировании течения рака молочной железы и выборе адекватных методов адъювантной терапии. На первом этапе работы, результаты которого представлены в данной работе, проведено сопоставление концентраций исследуемых белков в цитозолях опухолей с основными клинико-морфологическими факторами прогноза рака молочной железы.

Материалы и методы. В исследование включены 102 первичные больные раком молочной железы I—IV стадии, лечившиеся в РОНЦ РАМН в период с августа 1997 г. по май 1998 г. Возраст больных от 32 лет до 81 года (в среднем $52,9 \pm 1,2$ года; медиана 53 года). 69 больным на первом этапе лечения была выполнена радикальная операция, у 4 больных исследование проводили в трепанобиопсиях, полученных до начала специфического лечения. Остальные 29 больных получали различные виды предоперационной терапии. У 35 больных параллельно с опухолью были исследованы образцы гистологически неизменной ткани молочной железы.

Концентрацию uPA, PAI-1 и tPA определяли в цитозолях, полученных по стандартной процедуре, используемой при определении рецепторов

Таблица 2

Table 2

Концентрации uPA, PAI-1 и tPA в цитозолях опухолей больных раком молочной железы в зависимости от возраста и состояния менструальной функции

Tumor cytosol uPA, PAI-I and tPA concentrations in breast cancer patients with respect to age and menopausal status

Показатель	uPA	PAI-1	tPA
	нг/мг белка		
Возраст, годы:			
молоче 40 (n=23)	1,10±0,33 (0,08—6,25)	0,85±0,27 (0,0—5,29)	2,53±0,99 (0,0—16,70)
40-55 (n=34)	0,81±0,20 (0,05-6,74)	0,76±0,19 (0,0—6,14)	2,70±0,64 (0,0—15,70)
старше 55 (n=45)	1,77±0,39* (0,02—13,24)	0,89±0,25 (0,0—6,14)	3,55±0,72 (0,0—19,31)
Менопаузный статус:			
пременопауза (n=40)	1,09±0,24 (0,08—6,74)	0,87±0,21 (0,0—5,29)	3,21±0,72 (0,0—16,70)
перименопауза (n=6)	0,46±0,10** (0,05—0,69)	0,50±0,31** (0,0—1,90)	1,23±0,49** (0,0—2,91)
менопауза (n=56)	1,54±0,32 (0,02—13,24)	0,86±0,20 (0,0—6,14)	3,12±0,61 (0,0—19,31)
Characteristics	ng/ml protein		
	uPA	PAI-I	tPA

* $p < 0,05$ по сравнению с данными больных 40—55 лет.

** $p < 0,01$ для всех показателей при сравнении данных больных в перименопаузе с таковыми в пре- и менопаузе.

*, $p < 0,05$ in patients aged 40-55 years versus patients under 40 or above 55 years.

**, $p < 0,01$ in perimenopausal versus pre- or postmenopausal women.

and the tPA produced by renal parenchymal cells [3]. Both the uPA inhibitors also affect the tPA.

Results of several clinical studies demonstrated good clinical prospects for research of the plasminogen activation system in breast cancer [6,10]. The uPA and PAI-I seem to be the most important tests whose elevation is indicative of poor disease prognosis [8,14].

The purpose of the study carried out at the Clinical Biochemistry Laboratory, N.N.Blokhin Memorial CRC, is to assess the role of uPA, PAI-I, tPA and their relationships in prognosis of breast cancer and choice of adequate adjuvant therapy. This report presents results of the first stage of this study that compared tumor cytosol concentrations of the above-mentioned proteins with basic clinical and morphological factors of prognosis in breast cancer.

Materials and Methods. The study was performed in 102 patients with primary stage I-IV breast cancer managed at the BMCRC, RAMS, during August 1997 to May 1998. The patients' age was ranging from 32 to 81 years (mean 52.9 ± 1.2 years; median 53 years). 69 patients underwent radical surgery as first treatment, previous punch biopsy specimens were analyzed for another 4 cases. The remaining 29 patients received preoperative therapy. Histological study of intact breast tissue was performed in 35 cases in parallel with tumors.

Cytosol for uPA, PAI-I and tPA assay was derived by standard technique used in study of steroid hormone receptors [1] in 10-fold dilution with

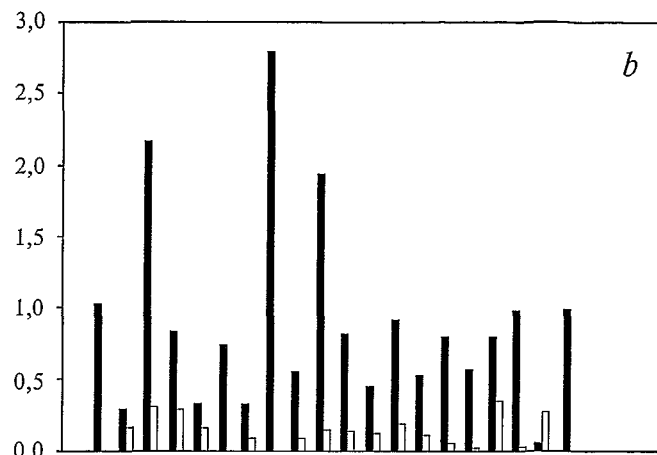
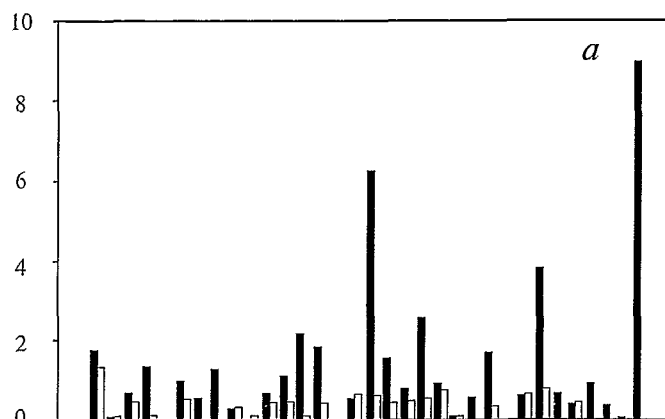


Рисунок. Содержание uPA (a), PAI-1 (b) и tPA (c) в опухолевой и гистологически неизменной ткани больных раком молочной железы (каждая пара столбцов представляет данные для одной больной). Темные столбцы — опухоль, светлые — неизменные ткани.

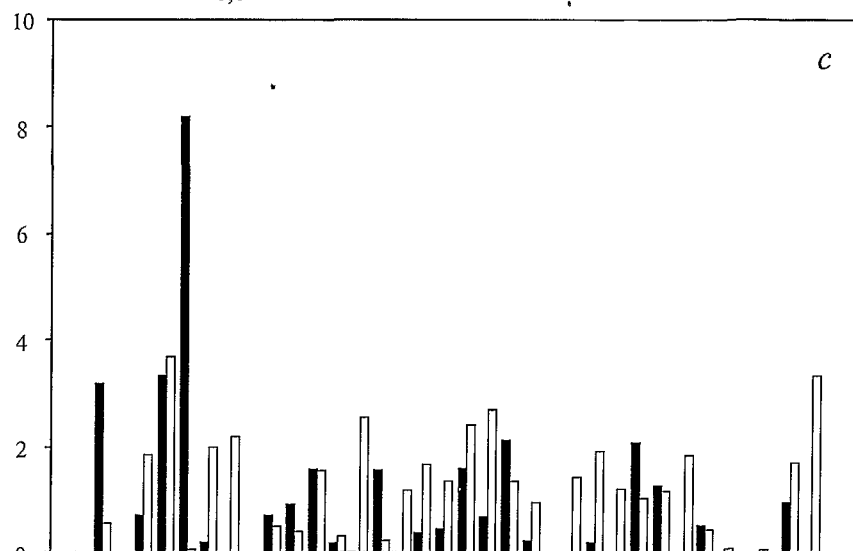
Figure. Cytosol uPA (a), PAI-I (b) and tPA (c) concentrations in tumor and intact tissue of breast cancer patients (each pair of bars presents values for one patient). Dark bars demonstrate tumor, light bars demonstrate normal tissue.

стероидных гормонов [1] и разведенных в 10 раз K,Na-фосфатным буфером (14 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 1,5 mM KH_2PO_4 , 8,1 mM Na_2HPO_4 , pH 7,4), содержащим 0,1% твина-20 и 1% бычьего сывороточного альбумина. Определение проводили с помощью стандартных наборов реактивов для иммуноферментного анализа, разработанных в Католическом университете г. Ниймеген (Нидерланды), как описано авторами [7]. Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микроплашек ELx800 фирмы «Bio-Tek Instruments, Inc». (США) при 492/630 нм. Обработку результатов измерений проводили по формуле $Y = a + bX + cX^2$, где X — концентрация анализируемого белка (в нг/мл), а Y — оптическая плотность при 492 нм. Концентрации анализируемых белков выражали в нг/мг цитозольного белка. Белок определяли по методу Лоури.

Достоверность различия средних значений оценивали по t-критерию Стьюдента и с помощью непараметрического критерия подобранных пар Wilcoxon. Корреляционные зависимости оценивали методом простой линейной корреляции Pearson (r), корреляции рангов Spearman (R) и медианного теста Kruskal — Wallis. Во всех случаях различия считали достоверными при $p < 0,05$. Расчеты проводили с помощью пакета программ «Статистика для Windows» (StatSoft Inc., 1996, Version 5.0).

Результаты и обсуждение. Исследуя цитозолы опухолей 102 больных раком молочной железы, мы обнаружили uPA в количестве от 0,02 до 13,24 нг/мг белка во всех исследованных образцах, PAI-1 в количестве 0,02 — 6,14 нг/мг белка в опухолях 64 (63%) больных и tPA в количестве 0,01 — 19,31 нг/мг белка в опухолях 76 (75%) больных. Достоверных различий в содержании исследованных белков в опухолях леченых и не леченых до операции больных не выявлено, что позволило нам при дальнейшем анализе рассматривать их как объединенную группу.

У 35 больных были сопоставлены средние концентрации uPA, PAI-1 и tPA в опухолях и гистологически неизменных тканях (табл. 1). Средняя концентрация uPA в опухолях оказалась в 3,9 раза выше, чем в неизменной ткани молочной железы ($p < 0,01$), а концентрация PAI-1 в опухоли превышала его концентрацию в неизменной ткани в 5,2 раза ($p < 0,0001$). В то же время концентрации tPA в опухолях и гистологически неизменных тканях



K,Na-phosphate buffer (14 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 1,5 mM KH_2PO_4 , 8,1 mM Na_2HPO_4 , pH 7.4) containing 0.1% Twin-20 and 1% bovine serum albumin. The analysis was carried out using standard reagent sets for enzyme immunoassay developed at the Catholic University, Nijmegen (Netherlands) as described elsewhere [7]. The assay was performed using an automated universal reader for ELx800 microplates supplied by the Bio-Tek Instruments, Inc. (USA) at 492/630 nm. The needed values were calculated by formula $Y = a + bX + cX^2$, where X was the concentration of protein in question in ng per ml, Y was the optical density at 492 nm. Concentrations of the proteins were expressed in ng per mg cytosol protein. Protein was determined by Lowry.

Statistical analysis of differences was carried out by Student's t-test and Wilcoxon's non-parametric matched pair test. Correlations were assessed by Pearson's simple linear correlation (r), Spearman's rank correlation (R) and Kruskal-Wallis's median test. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Calculations were made using the 'Statistics for Windows' program package (StatSoft Inc., 1996, Version 5.0).

Results. The study of 102 breast cancer cytosols discovered uPA at 0.02 to 13.24 ng/ml protein in all the specimens, PAI-I at 0.02 to 6.14 ng/ml protein in 64 (63%) tumors, uPA at 0.01 to 19.31 ng/ml protein in 76 (75%) specimens. There were no statistically significant differences in contents of the proteins in question between cases with and without preoperative therapy, therefore these two patient groups were joined in further analysis.

Mean tumor and intact tissue uPA, PAI-I and tPA concentrations were compared in 35 cases (table 1). Mean tumor uPA was 3.9-fold higher as compared to intact breast tissue

достоверно не различались. На рисунке показано попарное сравнение результатов определения uPA, PAI-1 и tPA в опухолях и неизмененных тканях молочной железы отдельных больных. Только у 4 из 35 больных концентрация uPA в нормальной ткани незначительно превышала соответствующий показатель в опухоли (см. рисунок). Для PAI-1 такое соотношение наблюдалось только у 1 из 20 обследованных больных (см. рисунок). Для tPA выявлены различные соотношения концентраций в опухолевой и неизмененной ткани молочной железы (см. рисунок).

Наиболее высокие концентрации всех трех компонентов системы активации плазминогена наблюдались в старшей возрастной группе (>55 лет), однако статистически достоверным было только двукратное увеличение активности uPA у больных старше 55 лет по сравнению с больными в возрасте 40—55 лет (табл. 2). Достоверное снижение концентраций uPA, PAI-1 и tPA наблюдалось в опухолях больных, находящихся в перименопаузе, по сравнению с опухолями больных в постили пременопаузе. Возможно, опухоли больных в климактерическом периоде имеют определенные биологические особенности по сравнению с опухолями больных с сохраненной менструальной функцией и с установившейся менопаузой.

Самая высокая концентрация uPA обнаружена в опухолях больных IIb стадии, этот показатель достоверно выше, чем у больных III—IV стадии, и превышает показатели больных I и IIa стадий (табл. 3). Можно выделить две тенденции: при относительно ранних стадиях заболевания (I—IIb) концентрация uPA в опухолях молочной железы увеличивается с увеличением распространенности процесса, при дальнейшем распространении рака молочной железы концентрация uPA в опухолевой ткани снижается. Аналогичные тенденции наблюдаются и для PAI-1 (см. табл. 3). Корреляционная зависимость между стадией заболевания и PAI-1 в группе больных I—IIb стадии достоверна ($R=0,31$, $p=0,013$). 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. Отрицательная корреляционная зависимость между стадией рака молочной железы и концентрацией tPA в опухоли высокодостоверна как в группе больных I—IIIa стадии ($R=-0,33$, $p=0,002$), так и во всей обследованной группе больных в целом ($R=-0,22$, $p=0,025$).

По мере увеличения размера опухоли концентрация uPA постепенно снижается, достоверным является различие между опухолями,

Таблица 3

Концентрации uPA, PAI-1 и tPA в цитосолях опухолей больных раком молочной железы в зависимости от стадии заболевания и отдельных показателей системы TNM

Tumor cytosol uPA, PAI-1 and tPA concentrations in breast cancer patients with respect to disease stage and other TNM characteristics

Table 3

Показатель распространенности процесса	uPA	PAI-1	tPA
	нг/мг белка		
Стадия: / Stage:			
I (n=15)	1,19±0,49 (0,05—7,73)	0,32±0,11* (0,0—1,26)	4,82±1,22* (0,0—15,44)
IIa (n=26)	1,58±0,41* (0,02—8,93)	0,75±0,29 (0,0—6,14)	3,67±0,92* (0,0—16,70)
IIb (n=32)	1,74±0,48** (0,04—13,24)	1,47±0,35* (0,0—6,00)	2,03±0,62 (0,0—16,16)
IIIa (n=13)	0,70±0,15** (0,04—1,66)	0,54±0,24 (0,0—2,78)	1,25±0,43* (0,0—5,3)
IIIb (n=9)	0,49±0,10*,** (0,12—0,96)	0,57±0,23 (0,0—1,79)	3,20±2,12 (0,0—19,31)
IV (n=7)	0,69±0,17** (0,23—1,41)	0,91±0,57 (0,0—4,19)	4,62±2,46 (0,0—15,67)
* pIIa—IIIb, pIIIa—I, pIIIa—IIa <0,05 ** pIIIa—IIb, pIIIb—IIb, pIV—IIb <0,05.			
Размер опухоли: Tumor size:			
T1 (n=24)	1,70±0,50 (0,05—8,93)	0,32±0,09* ⁵ (0,0—1,26)	4,57±0,99 (0,0—15,4)
T2 (n=50)	1,47±0,32 (0,02—13,24)	1,10±0,26** (0,0—6,14)	2,46±0,54 (0,0—16,7)
T3 (n=12)	0,72±0,12 (0,04—1,31)	1,43±0,46*** (0,0—4,19)	2,31±1,02 (0,0—12,1)
T4 (n=15)	0,62±0,12* (0,12—1,66)	0,48±0,16* ⁴ (0,0—1,79)	3,26±1,56 (0,0—19,3)
Вовлеченность лимфоузлов: Lymph node involvement:			
N0 (n=40)	1,04±0,22 (0,02—7,73)	0,79±0,22 (0,0—6,14)	3,78±0,71 (0,0—16,7)
N1 (n=45)	1,81±0,40 (0,04—13,24)	1,11±0,24* (0,0—6,00)	2,26±0,58 (0,0—16,16)
N2 (n=17)	0,58±0,11 (0,04—1,66)	0,33±0,14* (0—1,75)	3,35±1,36 (0,0—19,31)
Disease advance	ng/ml protein		
	uPA	PAI-1	tPA

* pT4—T1, pT4—T2, pN1—N2 <0,05.

** pT1—T2 <0,01.

*** pT3—T1 <0,05.

*⁴ pT4—T3 <0,01.

*⁵ pT1—T2, pT1—T3 <0,001.

Таблица 4

Table 4

Концентрации uPA, PAI-1 и tPA в цитозолях рака молочной железы в зависимости от гистологического строения и рецепторного статуса опухоли

Tumor cytosol uPA, PAI-I and tPA concentrations in breast cancer patients with respect to tumor histology and receptor status

Характеристика опухоли	uPA	PAI-1	tPA
	нг/мг белка		
Протоковый инвазивный рак Ductal invasive carcinoma (n=66)	1,90±0,34* (0,05—13,24)	0,91±0,17 (0,0—6,00)	2,75±0,56* (0,0—16,70)
Дольковый инвазивный рак Lobular invasive carcinoma (n=23)	0,70±0,18* (0,13—3,65)	0,79±0,31 (0,0—6,14)	5,42±1,31* (0,0—19,31)
RЭ+, ≥10 фмоль/мг белка ER+, ≥ 10 fmol/mg protein (n=52)	1,54±0,35 (0,02—13,24)	0,64±0,19 (0,0—6,14)	4,07±0,71 (0,0—19,31)
RЭ-, <10 фмоль/мг белка ER-, < 10 fmol/mg protein (n=28)	1,05±0,30 (0,044—6,74)	1,06±0,19* (0,0—3,37)	1,96±0,72* (0,0—16,16)
Tumor characteristics	ng/ml protein		
	uPA	PAI-I	tPA

* p<0,05.

соответствующими T1 и T4 (см. табл. 3). Концентрация PAI-1 достоверно увеличивается от T1 к T3 ($R=0,30$, $p=0,01$), но вновь снижается при T4. Концентрация tPA, напротив, достоверно снижается при увеличении размеров опухоли от T1 до T3 ($R=-0,24$, $p=0,03$), но возрастает при T4. Что касается статуса лимфоузлов, то наибольшие концентрации uPA и PAI-1 и наименьшая концентрация tPA в первичной опухоли отмечены при единичных метастазах в подмышечные лимфоузлы на стороне поражения (N1).

Два наиболее часто встречающихся гистологических типа рака молочной железы (протоковый и дольковый инвазивный рак) достоверно различались между собой по содержанию uPA и tPA (табл. 4). При этом содержание uPA в протоковом раке было в 2,7 раза выше, а содержание tPA — вдвое меньше, чем в дольковом. Содержание PAI-1 в этих двух гистологических типах рака молочной железы достоверно не различалось.

По данным некоторых авторов [11, 13], uPA и tPA являются эстроген-регулируемыми белками. Концентрация uPA в RЭ⁺-опухолях почти в 1,5 раза превышала его концентрацию в RЭ⁻-опухолях, а концентрация tPA в RЭ⁺-опухолях была более чем вдвое выше, чем в RЭ⁻ (см. табл. 4). Различие для tPA статистически достоверно. Кроме того, обнаружена слабая, но

($p<0,01$) and tumor PAI-I concentration was 5.2-fold as great as the intact tissue content ($p<0,0001$). In contrast, tPA was found in similar concentrations in tumors and histologically intact tissues. Figure 1 demonstrates comparison of uPA, PAI-I and tPA concentrations in tumors and intact breast tissues from several patients. Normal tissue uPA was slightly higher than tumor uPA in 4 of the 35 cases only (see fig.1,a). For PAI-I such a relationship was seen in 1 of 20 cases only (see fig.1,b). tPA demonstrated different relationships of tumor and intact tissue concentrations (see fig.1,c).

Patients of advanced age (> 55 years) had the highest concentrations of all the three plasminogen activation factors, though only the two-fold greater uPA content in cases above 55 years as compared to patients aged 40 to 55 years reached statistical significance (table 2). Perimenopausal women had significantly lower tumor uPA, PAI-I and tPA concentrations than post- or premenopausal patients. It seems that tumors from women in climax have certain biological peculiarities as compared to menstruating or menopausal patients.

Stage IIb cases had the highest uPA concentrations, the difference with stage III-IV being statistically significant (table 3). Two trends may be observed: at early disease stages (I-IIb) breast cancer uPA concentration increases with disease advance to fall at a later disease phase. PAI-I demonstrated similar trends (see table 3). Correlation of disease stage and PAI-I concentration reached statistical significance in stage I-IIb cases ($R=0,31$; $p=0,013$). tPA showed an opposite tendency: stage I cases had the highest and stage IIa cases had the lowest concentrations. Patients with advanced disease (IIIb and IV) had the same tPA concentrations as in early stage. The negative correlation between breast cancer stage and tumor tPA content was statistically significant both in stage I-IIIa cases ($R=-0,33$; $p<0,002$) and in the whole patient group ($R=-0,22$; $p=0,025$).

The uPA concentration was gradually decreasing with tumor growth, the difference between T1 and T4 reaching statistical significance (see table 3). The PAI-I concentration was increasing as the tumor was growing with the difference reaching statistical significance for T1 and T3 ($R=0,30$; $p=0,01$) to fall in T4 tumors. In contrast, tPA content was gradually decreasing with tumor growth from T1 to T3 ($R=-0,24$; $p=0,03$) to rise in T4. As to lymph node involvement, the highest uPA, PAI-I and the lowest tPA concentrations in the primary tumor were discovered in cases with solitary axillary lymph node metastases on the affected side (N1).

There was a statistically significant difference in uPA and tPA concentrations between the most common histological types of breast cancer, i.e. ductal and lobular cancers (table 4). The uPA concentration in ductal cancer was 2.7-fold higher while tPA content was 2-fold lower than in the lobular type. The difference in PAI-I content with respect to tumor type was not statistically significant.

Some authors [11,13] believe uPA and tPA to be regulated by estrogen. The uPA concentration in ER-positive tumors is about 1.5-fold greater than in ER-negative tumors, the tPA concentration in ER-positive tumors was more than two-fold as great as in ER-negative ones (see table 4). The difference for the tPA was statistically significant. Besides, there was a small though statistically significant positive correlation between

достоверная положительная корреляция между концентрацией tPA и содержанием РЭ в опухолях ($R=0,29$, $p=0,009$). Таким образом, полученные данные косвенно подтверждают положительную зависимость экспрессии tPA в опухолях молочной железы от эстрогенов. Достоверно также 1,65-кратное снижение концентрации PAI-1 в РЭ⁺-опухолях по сравнению с РЭ⁻.

Выводы. 1. Концентрации uPA и PAI-1 в опухолевой ткани, как правило, существенно выше, чем в окружающей ткани молочной железы. Концентрация активатора тканевого типа, напротив, в неизменной ткани, как правило, выше, чем в опухолевой.

2. С увеличением стадии заболевания концентрации uPA и PAI-1, с одной стороны, и tPA — с другой, изменяются в противоположном направлении.

3. Концентрация tPA в прогностически благоприятных, потенциально гормонозависимых РЭ⁺-опухолях достоверно выше, чем в РЭ⁻-опухолях.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Рецепторы стероидных гормонов в опухолях человека. / Под ред. Л.С. Бассалык. — М., 1987.
2. Andreassen P. A., Georg B., Lund L. R. et al. // *Mol. Cell. Endocrinol.* — 1990. — Vol. 68. — P. 1—19.
3. Bell W. R. // *Semin. Thromb. Hemost.* — 1996. — Vol. 22. — P. 459—478.
4. Damjanovich L., Turzo C., Adany R. // *Thromb. Haemost.* — 1994. — Vol. 71. — P. 684—691.
5. Dano K., Andreassen P.A., Grondahl—Hansen J. et al. // *Adv. Cancer Res.* — 1985. — Vol. 44. — P. 139—266.
6. Foekens J. A., Berns E. M. J. J., Look M. P. et al. // *Molecular and Clinical Endocrinology* / Ed. J.R. Pasqualini. — Vol. 1; *Hormone Dependent Cancer* / Eds J.R. Pasqualini, B.S. Katzenellenbogen. — New York, 1996. — P. 217—253.

© Коллектив авторов, 2000

УДК 616.5-006.81-085.277.3-«араноза»

Л. В. Манзюк, А. Г. Бородкина, Е. В. Артамонова,
Т. М. Надеждина, З. И. Токарева, И. Н. Халыстов

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ КОМБИНАЦИЙ НА ОСНОВЕ АРАНОЗЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДИСSEМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

НИИ клинической онкологии

Заболеваемость меланомой кожи за последние десятилетия отличается устойчивым ростом. В 1935 г. 1 случай меланомы приходился на 1500 человек, в 1985 г. — на 150, а в 1996 г. — на 87 человек. На 2% в год растет и смертность [11]. Выживаемость больных с I стадией с 1950 г. увеличилась на 40% [11], однако 30—40% пациентов при установлении диагноза уже оказываются в стадии, требующей системного воздействия [1].

Лечение диссеминированной меланомы продолжает оставаться одной из нерешенных проблем современной онкологии. Крайне неблагоприятное и плохо прогнозируемое

tumor tPA and ER ($R=0,29$; $p=0,009$). Our findings are therefore an indirect evidence in favor of positive dependence of tPA expression on breast cancer cells upon estrogens. There is also a statistically significant 1.65-fold decrease in PAI-I content in ER-positive tumors as compared to ER-negative ones.

Conclusions. 1. Tumor uPA and PAI-I concentrations are as a rule significantly greater than in intact breast tissue. In contrast, tPA content is greater in intact than in neoplastic tissue.

2. Concentrations of uPA and PAI-I on the one hand, and tPA on the other hand, are changing in opposite directions with disease advance.

3. Concentration of tPA in prognostically better, potentially hormone-dependent ER-positive tumors was significantly higher than in ER-negative ones.

7. Grebenshikov N., Geurts—Moespot A., De Witte H. et al. // *Int. J. Biol. Markers.* — 1997. — Vol. 12. — P. 6—14.
8. Harbeck N., Dettmar P., Thomssen C. et al. // *Anticancer Res.* — 1998. — Vol. 18. — P. 2187—2197.
9. Hildenbrand R., Dilger I., Horlin A. et al. // *Pathol. Res. Pract.* — 1995. — Vol. 191. — P. 403—409.
10. Kim S., Shiba E., Kobayashi T. et al. // *Clin. Cancer Res.* — 1998. — Vol. 4. — P. 177—182.
11. Levenson A. S., Kwaan H. C., Svoboda K. M. et al. // *Br. J. Cancer.* — 1998. — Vol. 78. — P. 88—95.
12. Mignatti P., Rifkin D. B. // *Physiol. Rev.* — 1993. — Vol. 73. — P. 161—195.
13. Rella C., Coviello M., Quaranta M. et al. // *Thromb. Res.* — 1993. — Vol. 69. — P. 209—220.
14. Thomssen C., Oppelt P., Janicke F. et al. // *Anticancer Res.* — 1998. — Vol. 18. — P. 2173—2180.

Поступила 03.09.99 / Submitted 03.09.99

L.V. Manzyuk, A.G. Borodkina, E.V. Artamonova,
T.M. Nadezhkina, Z.I. Tokareva, I.N. Khalyastov

AN EXPERIENCE OF THE USE OF ARANOSE-BASED DRUG COMBINATIONS FOR THE TREATMENT OF DISSEMINATED CUTANEOUS MELANOMA

Institute of Clinical Oncology

Incidence of cutaneous melanoma demonstrated continuous growth over the last decades. In 1935 the incidence was 1 case per 1500, cf. 1 per 150 in 1985 and 1 per 87 in 1996. The melanoma mortality increases by 2% every year [11]. The survival of stage I patients increased by 40% as compared with 1950 [11], while 30% to 40% have disease requiring systemic treatment at diagnosis [1].

Treatment of disseminated melanoma is a significant medical problem to be solved. The extremely severe and poorly predictable disease course with early and rapid dissemination, considerable resistance to radiation and drug therapies make melanoma treatment very difficult.