

УДК 618.19-006.6:618.19-007.61]-089:612.015.1

ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И СИСТЕМА ФИБРИНОЛИЗА В ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Франциянц Е.М., Козлова Л.С., Комарова Е.Ф., Верескунова М.И., Кучкина Л.П.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,
Ростов-на-Дону, e-mail: super.gormon@yandex.ru

Проведено сравнительное исследование VEGF и каскада активации плазминогена при злокачественной и доброкачественной гиперплазиях молочной железы. Установлены однонаправленные изменения VEGF, плазминогена и урокиназы при обоих видах гиперплазий относительно ткани интактных молочных желез. Найденные нарушения в гиперпластической ткани доброкачественного образования запускают механизм разбалансировки VEGF, системы фибринолиза, что отражается на модификации и пролиферации экстрацеллюлярного матрикса, клеточных мембран и эндотелиоцитов. Сделан вывод о том, что узловую форму фиброзно-кистозной мастопатии можно рассматривать как факультативный предрак.

Ключевые слова: рак молочной железы, узловая форма фиброзно-кистозной мастопатии, VEGF, урокиназа, плазминоген

VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AND THE SYSTEM OF FIBRINOLYSIS IN MAMMARY GLAND TISSUE UNDER HYPERPLASTIC PROCESSES OF VARIOUS GENESIS

Frantsiyants E.M., Kozlova L.S., Komarova E.F., Vereskunova M.I., Kuchkina L.P.

FSBI «Rostov scientific and research institute of oncology» of the Ministry of Health of Russia,
Rostov-on-Don, e-mail: super.gormon@yandex.ru

A comparative study of VEGF and plasminogen activation cascade was performed for malignant and benign mammary gland hyperplasiae. Unidirectional changes of VEGF, plasminogen and urokinase in both kinds of hyperplasiae as compared to the intact mammary gland tissue were determined. The disorders found in hyperplastic tissue of the benign formation trigger a mechanism unbalancing VEGF and the system of fibrinolysis, which affects modification and proliferation of extracellular matrix, cell membranes and endotheliocytes. Conclusion has been drawn that the nodal form of fibrocystic mastopathy may be considered as facultative precancer.

Keywords: breast cancer, nodal form of fibrocystic mastopathy, VEGF, urokinase, plasminogen

В пролиферации и миграции клеток большое значение имеет активация протеолитических процессов внеклеточного матрикса, при этом центральная роль отводится ключевому ферменту фибринолитической системы (ФС) – плазмину, непосредственно активирующему проколлагеназы, факторы роста, в частности VEGF [2, 11]. Два активатора плазминогена – урокиназный и тканевой (uPA и tPA) – считаются важнейшими агентами, способными нарушить баланс матриксных ферментов и состояние клеточных мембран [1, 8]. Клинические исследования показали, что концентрации uPA, плазминогена (ПГ), VEGF в ткани при раке молочной железы (РМЖ) обычно повышены и используются в качестве прогностического фактора выживаемости больных [1, 2, 9]. Узловая форма фиброзно-кистозной мастопатии (УФКМ) является распространенным, в большинстве случаев пролиферативным заболеванием, в ряде случаев приводящим к РМЖ [2, 6, 7]. По мнению авторов, РМЖ встречается в 3-5 раз чаще на фоне доброкачественных новообразова-

ний и в 30% случаев при узловых формах мастопатии с пролиферативным течением.

Целью настоящего исследования являлось сравнительное изучение маркера VEGF и основных показателей ФС ткани при РМЖ и УФКМ.

Материалы и методы исследования

Больным РМЖ (36 человек 47-58 лет, T₂N₀M₀, во II-A стадии процесса) опухоль удаляли радикально. Секторальная резекция молочной железы со срочным гистологическим исследованием проведена 31 больной УФКМ (в возрасте 51-60 лет). Все пациентки находились в перименопаузальном и раннем менопаузальном периоде, сопутствующей генитальной патологии не имели.

В 10% цитозольной фракции методом ИФА с использованием стандартных тест-систем проводили определение VEGF, ПГ, плазмينا (П), количества и активности uPA (uPA-АГ и uPA-акт) и tPA (tPA-АГ и tPA-акт) с последующим пересчетом результатов на 1 г. сырой ткани. Для сравнения использовали ткань интактных молочных желез (ИМЖ) 7 женщин без опухолевой патологии, перенесших их коррекцию.

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета Statistica (версия 8). Оценка достоверности произведена с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что уровень VEGF в ткани РМЖ был увеличен в 32 раза, а при УФКМ – в 19,7 раза сравнительно с ИМЖ (табл. 1). VEGF играет центральную роль в стимуляции эндотелиальных клеток и ре-

гуляции ангиогенеза, на его экспрессию прямое влияние оказывает образование П [9]. Содержание ПГ увеличивалось в опухоли при РМЖ – в 1,7, а в ткани УФКМ – в 1,2 раза ($p < 0,05$), тогда как активность П в ткани РМЖ повышалась в 4,5 раза, а при УФКМ уменьшалась в 1,7 раза, относительно ИМЖ.

Таблица 1

Содержание VEGF и компонентов фибринолитической системы в ткани молочной железы при гиперпластических процессах

Показатель	ИМЖ	УФКМ	РМЖ
VEGF _{ПГ} /г тк	3,74±0,1	73,7±6,3 ¹	119,1±1,7 ^{1,2}
П мкМ/г тк.	8,12±0,7	4,83±0,5 ¹	36,8±2,7 ^{1,2}
ПГ мкМ/г тк.	1,73±0,2	2,12±0,3 ¹	2,91±0,3 ^{1,2}
uPA-АГ нг/г тк	1,92±0,2	4,21±0,35 ¹	12,4±1,1 ^{1,2}
uPA-акт ед./г тк	0,22±0,02	0,50±0,03 ¹	1,0±0,1 ^{1,2}
tPA-АГ нг/г тк	16,0±1,3	16,6±1,5	33,1±2,6 ^{1,2}
tPA-акт ед./г тк	7,44±0,5	8,43±0,6	11,4±0,8 ^{1,2}

Примечание. ¹ – различия достоверны по отношению к ткани интактной молочной железы ($p < 0,05$); ² – достоверно по отношению к ткани УФКМ ($p < 0,05$).

Жирным шрифтом выделены изменения изучаемых показателей одинаковой направленности при РМЖ и УФКМ.

При достоверном повышении относительно ИМЖ, содержание ПГ в ткани УФКМ было всё же ниже, чем при РМЖ в 1,4 раза, а активность П – в 7,6 раза ниже, чем в ткани РМЖ (табл. 1). В ткани РМЖ uPA-АГ и uPA-акт были выше в 6,5 и 4,6 раза, tPA-АГ и tPA-акт – в 2,1 и в 1,5 раза, чем в ИМЖ. При УФКМ содержание и активность uPA-АГ и uPA-акт были увеличены в 2,2 и в 2,5 раза, в изменениях tPA достоверность не установлена.

Специализированной структурой экстрацеллюлярного матрикса является базальная мембрана, в деградации которой П принимает и непосредственное, и опосредованное участие. Основная роль uPA во внеклеточном протеолизе – образование П на поверхности клетки. Последний непосредственно

расщепляет основные компоненты базальной мембраны и внеклеточного матрикса, активирует матриксные металлопротеиназы, uPA же осуществляет деградацию компонентов, устойчивых к действию П, способствуя увеличению подвижности клеток [5, 7]. Процесс образования П регулируется реципрокно. Помимо uPA, в нем участвует и tPA, его роль при развитии рака сводится к разрушению опухолевых клеток и защите окружающих тканей [1].

Оценка баланса ПГ с uPA-акт и tPA-акт, показала, что ПГ/uPA-акт в ткани РМЖ был ниже в 2,7 раза, а ПГ/tPA-акт – выше в 1,5 раза, чем в ткани ИМЖ (табл. 2). В ткани УФКМ коэффициент ПГ/uPA-акт был также снижен в 1,8 раза, баланс ПГ/tPA-акт возрастал в 1,5 раза, как и при РМЖ.

Таблица 2

Баланс компонентов фибринолитической системы и VEGF в ткани молочной железы при гиперпластических процессах

Коэффициент	ИМЖ	УФКМ	РМЖ
ПГ/uPA-акт	7,7±0,4	4,2±0,2 ¹	2,9±0,2 ^{1,2}
ПГ/tPA-акт	0,2±0,01	0,3±0,02 ¹	0,3±0,02 ¹
uPA-АГ/uPA-акт	8,7±0,5	8,4±0,5	12,4±0,7 ^{1,2}
tPA-АГ/tPA-акт	2,2±0,1	2,0±0,1	2,9±0,2 ^{1,2}
ПГ/П	0,2±0,01	0,4±0,03 ¹	0,1±0,01 ^{1,2}

Примечание. ¹ – достоверно по отношению к ткани ИМЖ ($p < 0,05$);

² – достоверно по отношению к ткани УФКМ ($p < 0,05$).

Жирным шрифтом выделены однонаправленные изменения коэффициентов баланса изучаемых показателей.

Установленные соотношения ПГ с обоими активаторами при РМЖ и УФКМ свидетельствовали о несомненном приоритете uPA в его влиянии на активацию ПГ ткани при РМЖ. Баланс ПГ/П, который в ткани РМЖ был в 2 раза ниже, чем в ИМЖ, а при УФКМ – в 2 раза выше, свидетельствует о накоплении ПГ при УФКМ, предположительно для осуществления защитных функций ФС, поскольку активации плазмينا в этой ткани не наблюдалось. Соотношения активности обоих активаторов с соответствующей антигенной формой в ткани РМЖ относительно УФКМ изменялись одинаково: в 1,5 раза каждый, а при УФКМ соответствовали ИМЖ, однако следует учитывать, что в ткани УФКМ баланс uPA-AG/uPA-акт не изменился в связи с повышением обоих компонентов (табл. 1, 2).

Результаты изменений VEGF и компонентов ФС в ткани РМЖ, полученные в настоящем исследовании, согласуются с данными других исследователей при таких же и других локализациях рака [1-6,9].

Многие авторы сообщают, что uPA является полифункциональным белком, который помимо регуляции фибринолиза осуществляет активацию факторов роста, модуляцию цитокинов, фенотипическую трансформацию клеток, экспрессию белков и активацию протеолитических каскадов [1, 3, 5]. Другими словами, стимуляция пролиферации и миграции клеток обеспечивается непосредственным и опосредованным воздействием VEGF и протеолитических процессов с прямым участием ФС.

Сравнение результатов, полученных при изучении ткани РМЖ и УФКМ, показало, что имеется большое сходство изменений исследованных компонентов и коэффициентов их баланса (табл. 1,2, выделено жирным шрифтом).

Доказано, что опухолевый рост является ангиогенеззависимым процессом, контролируемым микрососудистым эндотелием [7,9,10]. Авторы сообщают, что формирование сосудов при раке происходит на фоне модифицированной митогенной стимуляции и измененного экстрацеллюлярного матрикса под влиянием VEGF, который является митогенным только по отношению к эндотелиальным клеткам. Это может оказывать влияние на развитие неполноценных сосудов преимущественно капиллярного типа, имеющих нередко прерывистую базальную мембрану и нарушенную эндотелиальную выстилку, причём экспрессия VEGF обычно поддерживается до окончания формирования сосудов [7,9]. Известно, что uPA обеспечивает стимуляцию пролиферации и миграции клеток как непо-

средственно, так и опосредованно [1,5]. Ранее сообщалось о повышении опухолевых маркеров ткани в группах женщин с выраженными формами фиброзно-кистозной болезни [1,2]. В ткани УФКМ количество и активность uPA, а также VEGF были значительно увеличены (табл. 1). Одновременное повышение VEGF и uPA в ткани УФКМ указывают на возможность подобных нарушений в экстрацеллюлярном матриксе при данной патологии.

Резкое изменение ряда показателей в цитозолях УФКМ, а также нарушение их физиологического равновесия является свидетельством серьёзной биохимической перестройки в протеолитическом каскаде активации ПГ, образовании VEGF, которая отражается на изменении состояния экстрацеллюлярного матрикса, клеточных мембран и эпителиоцитов.

Вопрос о возможности озлокачествления доброкачественных гиперплазий МЖ в настоящее время остаётся спорным. Фиброзно-кистозная мастопатия является широко распространённым заболеванием, однако в последней гистологической классификации опухолей МЖ (данные ВОЗ, 2003) не выделена в отдельную рубрику, т.к. её широкие диагностические рамки не отражают злокачественный потенциал процесса, а риск развития рака молочной железы при доброкачественных опухолях повышается на 56 % [7]. Известно, что трансформация доброкачественных мастопатий в рак возможна в зависимости от их морфологической формы, наибольшая вероятность их перехода в РМЖ отмечается при пролиферативных формах. Из литературных источников известно, что РМЖ часто предшествуют доброкачественные гиперплазии в молочной железе и что риск заболевания раком на фоне мастопатии увеличивается в 4-37 раз [2, 6, 7]. Авторы большое внимание уделяют вопросу о том, что узловая форма фиброзно-кистозной болезни или мастопатии может иметь пролиферативное течение с разной степенью выраженности, в большом проценте случаев приводящее к РМЖ.

Тканевой гомеостаз является результатом динамического равновесия между пролиферацией, дифференцировкой и апоптозом [9,10]. Нарушение регуляции пролиферации в сочетании со снижением дифференцировки или апоптоза может стимулировать трансформацию клеток и канцерогенез [8-10]. В норме устойчивость баланса между ангиогенезом и анти-ангиогенезом обеспечивается равновесием между ПГ, П, uPA, tPA, эластазой и металлопротеиназами [5]. В тот момент,

когда действие проангиогенных факторов превысит действие антиангиогенных, эндотелиальные клетки переходят из обычного дремлющего состояния в активное [7-10]. В исследованиях ткани колоректального рака установлено, что уровни обоих активаторов плазминогена были достоверно выше в молодых, неинвазивных опухолях (T), чем в более крупных (T₂-T₃) и уровень tPA при этом не коррелировал с другими показателями [3]. При УФКМ, очевидно, формируется такое пограничное состояние матричных белков, при котором требуется только время для наступления надпороговых изменений, являющихся по сути предраком.

Таким образом, можно полагать, что УФКМ в большом числе случаев может являться фактором риска рака молочной железы. Исследование двух тесно взаимосвязанных процессов – протеолитического каскада активации плазминогена и VEGF-зависимого ангиогенеза – имеет перспективы в качестве факторов прогноза при раннем раке молочной железы [1, 9]. Учитывая пограничное состояние экстрацеллюлярных белков, сложившееся в ткани УФКМ, уровень и соотношение экспрессии урокиназы и VEGF могут дать полезную информацию о состоянии тканевого метаболизма и в доброкачественном новообразовании.

Выводы

Увеличение количества и активности урокиназы, содержания плазминогена в ткани при УФКМ свидетельствуют о запуске механизма разбалансировки фибринолитической системы.

Изменения VEGF, компонентов фибринолитической системы, их баланса в ткани молочной железы при изученных видах гиперплазии были в большинстве однонаправленными между злокачественным и доброкачественным новообразованиями, что позволяет рассматривать УФКМ как фактультативный предрак.

Список литературы

1. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Биологические маркеры рака молочной железы: методологические аспекты и клинические рекомендации // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 65-70.
2. Гилязутдинов И.А., Хасанов Р.Ш. Доброкачественные опухоли молочных желез: руководство для врачей. – Казань: Медлитература, 2007. – 216 с.
3. Делекторская В.В., Кушлинский Н.Е., Головкин Д.А. Молекулярные маркеры инвазии и особенности прогноза рака толстой кишки // Человек и лекарство: тезисы докл. XV Российского национального конгресса (Москва, 14-18 апр. 2008 г.). – М. – 2008. – С. 395.
4. Кит О.И., Франциянц Е.М., Козлова Л.С. и др. // Российский онкологический журнал. 2013. – № 4. – С. 4-9.
5. Парфенова Е.В., Плеханова О.С., Меньшиков М.Ю. и др. // Российский физиологический журнал им И.М. Сеченова. – 2009. – Т. 95. – № 5. – С. 442-464.
6. Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В. 2005. Мастопатия – угроза малигнизации? // Terra Medica. – 2005. – № 2. – С. 52-56.
7. Шабалова И.П., Джангирова Т.В., Волченко Н.Н. и др. [Электронный ресурс]. Источник: И.П. Шабалова, Т.В. Джангирова, Н.Н. Волченко, К.К. Пугачев. Цитологический атлас: Диагностика заболеваний молочной железы. – М.: Тверь: ООО «Изд-во «Триада», 2005. URL: http://bono-esse.ru/blizzard/Lab/Citolog/mg_06.html.
8. Kong D., Banerjee S., Huang W. et al. // Cancer Res. – 2008. – V. 68. – № 6. – P. 1927-1934.
9. Relf M., Le Jeune S., Scott P.A. et al. // Cancer Res. – 2007. – V. 57. – P. 963-969.
10. Folkman J. Angiogenesis and apoptosis // Semin. Cancer Biol. – 2003. Vol. 13. – P. 159-167.