

УДК 616-006-053.2-07:577.21(091)(476)

Л. П. КІСЕЛЁВ, Т. В. САВІЦКАЯ, Н. В. ЛІПАЙ, О. В. АЛЕЙНИКОВА
ЭКСПРЕССІЯ ФАКТОРОВ АНГІОГЕНЕЗА В САРКОМАХ У ДЕТЕЙ

*Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
Минск, Беларусь, e-mail: leonslight@mail.ru*

Процесс образования новой патологической сосудистой сети (неоангиогенез) является критически важным для развития новообразования, но в то же время может представлять мишень для терапевтического воздействия. Целью исследования был поиск отличий в уровне экспрессии информационной рибонуклеиновой кислоты (иРНК) спектра маркеров ангиогенеза в субстрате злокачественных и незлокачественных заболеваний перед началом терапии у пациентов детского возраста с костными и мягкоткаными новообразованиями.

Изучена экспрессия широкого спектра маркеров ангиогенеза: факторы роста эндотелия сосудов VEGFA (включая изоформы 121, 165, 189) и VEGFC, рецепторы VEGFR1 и VEGFR2, фактор индукции гипоксии HIF-1 α , тканевой фактор и его ингибиторы (TF, TFPI-1, TFPI-2), ингибиторы активатора плазминогена (uPA, PAI-1) в образцах патологической ткани у 39 пациентов со злокачественной природой заболевания и у 23 – с незлокачественной.

В злокачественных опухолях констатирован значимо больший уровень экспрессии иРНК изоформ VEGFA121, VEGFA165 и соотношения VEGFA165/VEGFA189, в то время как экспрессия остальных маркеров была выше у пациентов без онкопатологии. Локализованные формы сарком костей и мягких тканей характеризовались значимо более высокими уровнем экспрессии TFPI-2 и значениями соотношения VEGFA165/VEGFA189 в сравнении с таковыми при метастатических формах ($P < 0,05$).

Следует отметить, что это первое исследование такой комбинации маркеров ангиогенеза. Показано, что экспрессия значительной части спектра факторов ангиогенеза не является прерогативой неоплазм и может быть выше у пациентов без онкопатологии. Соотношение изоформ VEGFA165/VEGFA189 вместе с уровнем TFPI-2 отличает пациентов с локализованными (неметастатическими) формами сарком от когорты лиц с IV стадией заболевания. Эти показатели могут расцениваться как убедительные прогностические маркеры онкологического процесса.

Ключевые слова: ангиогенез, ткань опухоли, саркомы костей и мягких тканей у детей, диагностика и лечение.

L. KISIALEU, T. SAVITSKAIA, N. LIPAI, O. ALEINIKOVA

EXPRESSION OF THE ANGIOGENESIS FACTORS OF SARCOMA IN CHILDREN

*Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,
Minsk, Belarus, e-mail: leonslight@mail.ru*

The formation of a new pathological vasculature (angiogenesis) is critical for the cancer development, can reflect the behavior of tumors and can be considered as an angiogenesis inhibitors target. The objective of the study was to find differences in the mRNA (messenger ribonucleic acid) expression levels of varied angiogenesis markers in malignant and non-malignant pathological foci.

Angiogenesis markers VEGFA (including isoforms of 121, 165, 189), VEGFC, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, HIF-1 α , TF, TFPI-1, TFPI-2, uPA, PAI-1 in pediatric specimens were examined using quantitative reverse transcriptase–polymerase chain reaction (qRT-PCR). 62 (39 malignant and 23 nonmalignant samples) from pediatric patients with bone and soft tissues pathology were studied.

A significantly higher level of isoforms VEGFA121, VEGFA165 as well as the VEGFA165/VEGFA189 ratio ascertained for malignancies. Other markers expression levels were higher in patients without cancer pathology. Both, the TFPI-2 level and the VEGFA165/VEGFA189 ratio identified upward for localized cancer vs. metastatic forms ($P < 0,05$). According to our knowledge, this is the first study of such angiogenesis markers combination. The demonstrated expression of several angiogenesis factors is not the extraordinary prerogative of neoplasms and may be greater in patients without malignancy. The VEGFA165/VEGFA189 ratio together with the TFPI-2 level distinguished localized and metastatic cancer patients and can be used as a tumor prognostic marker.

Keywords: angiogenesis, pediatric patients, tissue tumors, sarcomas of bone and soft tissues.

Введение. Саркомы представляют группу гетерогенных заболеваний мезенхимальной природы, рост и развитие которых зависит от процесса формирования собственной сосудистой сети, известного также как ангиогенез или неоангиогенез [1–4]. В литературных источниках представ-

ляется все больше данных о том, что маркеры опухолевого ангиогенеза могут коррелировать с конкретными клиническими признаками у пациентов с саркомами [5–7]. Процесс формирования сосудистой сети обусловлен широким спектром маркеров. В первую очередь это представитель семейства факторов роста – фактор роста эндотелия сосудов VEGF (vascular endothelial growth factor), его изоформы, а также рецепторы взаимодействия. VEGF является фундаментальным медиатором как патологического, так и физиологического ангиогенеза. В семействе VEGF выделяют VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD, VEGFE, VEGFF и плацентарный фактор роста (PLGF). Точками приложения VEGFA являются хемотаксис и дифференцировка предшественников эндотелиоцитов [5]. Выделяют как минимум 5 изоформ VEGFA, обозначаемых по количеству аминокислотных оснований в каждой (VEGFA121, VEGFA145, VEGFA165, VEGFA189 и VEGFA206 соответственно). Наименьшая из них, VEGFA121, обладает максимальной растворимостью и действует как митогенный фактор для сосудистого эндотелия. VEGFA165, уровень которого является наибольшим среди других изоформ, рассматривается как обладающий максимальным потенциалом к стимуляции генеза сосудистой сети. VEGFA189 представлен в сравнительно небольших концентрациях и является лигандом рецептора VEGFR-3, презентированного в основном в лимфатических сосудах [5, 6]. VEGFA участвует в регуляции процесса гипоксии и естественным образом связан с фактором, индуцирующим гипоксию HIF-1 (hypoxia inducible factor-1) [7]. VEGFC наряду со стимуляцией сосудистого эндотелия обеспечивает клеточную миграцию (рецепторами являются VEGFR3, реже VEGFR2), но его ангиогенный потенциал меньше по сравнению с VEGFA [8].

Ингибиторы проводящих путей тканевого фактора TFPIs (tissue factor pathway inhibitors) – обратимые ингибиторы коагулянта тканевого фактора и сигнальной активности клетки. *In vitro* и *in vivo* показана способность TFPI-1 к антиангиогенному и противометастатическому эффекту. TFPI-2 – структурный аналог TFPI-1, его экспрессия обратно пропорциональна повышению степени злокачественности и распространенности новообразования. Таким образом, TFPI-2 может расцениваться как фактор ограничения роста опухоли в организме [9, 10].

Существенное значение на формирование опухолевой сосудистой сети оказывают протеазы и их ингибиторы. В частности, система активации плазминогена и VEGF взаимосвязаны и являются синергистами в процессе инвазии опухоли. Активаторы плазминогена урокиназного типа uPA (urokinase-type plasminogen activator) и его антагонист PAI-1 (plasminogen activators inhibitor-1) продуцируются нормальными и опухолевыми клетками и играют ключевую роль в деградации и ремоделировании межклеточного матрикса, деструкции базальной мембранны и метастазировании. Повышение уровня uPA ассоциируется с плохим прогнозом заболевания [11, 12].

Таким образом, экспрессия опухолью компонентов ангиогенеза (в первую очередь VEGF) классически рассматривается как отрицательный прогностический фактор, ассоциирующийся с метастазированием и химиорезистентностью, однако результаты последних исследований указывают на необходимость детализации спектра маркеров для более индивидуальной оценки клинической значимости его составляющих.

Цель настоящего исследования – анализ уровней экспрессии и РНК расширенного спектра маркеров ангиогенеза, который включал не только классические компоненты VEGF, но также TFPI-1, TFPI-2, uPA и PAI-1 в ткани опухоли пациентов детского возраста с костными и мягкоткаными саркомами.

Материалы и методы исследования. Пациенты. Исследуемая когорта была сформирована с ноября 2008 г. по март 2011 г. и состояла из пациентов детского возраста, которые были обследованы в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии Минздрава Республики Беларусь в связи с подозрением на наличие онкопатологии костных структур или мягких тканей. В результате диагностического оперативного вмешательства (биопсии) получены 62 образца тканей первичных патологических очагов до начала специального лечения. Критерием включения пациента в исследование было наличие достаточного количества материала и гистологическое (при необходимости – иммуногистохимическое и молекулярно-биологическое) подтверждение диагноза. Пациентов, получавших специальное противоопухолевое лечение до получения образца ткани, в исследование не включали. Среди 39 (62,9 %) пациентов с онкозаболеванием у 16 (41,0 %) диагностирована саркома Юинга (СЮ),

у 16 (41,0 %) – остеосаркома (ОС), у 7 (18,0 %) – рабдомиосаркома (РМС). Для 23 (37,1 %) пациентов диагноз онкозаболевания был исключен: у 5 были незлокачественные образования кости (остеоид-остеома, остеокластома, остеобластома, хондрома), у 5 – остеомиелит, у 3 – фиброзная дисплазия, у 3 – аневризмальная костная киста, у 3 – посттравматические изменения, у 1 – гранулематозное воспаление, у 1 – аневризмальная киста, у 1 – фиброматоз мягких тканей, у 1 – оссифицирующий миозит бедра.

Диагноз и стадию (распространение) опухоли устанавливали согласно критериям международных протоколов:

для ОС – ЕВРОАМОС (EuRAMOS1 Protocol, Version 1.0, 30 September 2004);

для СЮ – ЕВРОЮИНГ (EURO-E.W.I.N.G.99 Protocol, Version 1999-09-27);

для РМС – РМС-2005 (RMS 2005, EpSSG Protocol Final Version January 2005).

Характеристики исследуемой когорты пациентов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристики пациентов ($n = 62$)

Характеристики	Злокачественные опухоли				Незлокачественные образование ($n = 23$)	P
	Всего ($n = 39$)	СЮ ($n = 16$)	ОС ($n = 16$)	РМС ($n = 7$)		
Мальчики	24 (61,5 %)	10 (62,5 %)	10 (62,5 %)	4 (57,1 %)	15 (65,2 %)	>0,05
Девочки	15 (38,5 %)	6 (37,5 %)	6 (37,5 %)	3 (42,9 %)	8 (34,8 %)	
Средний возраст, лет	12,5	12,4	13	11,9	12,4	
Медиана возраста, лет	13	12	14	15	14	>0,05
Стадия II	24 (61,5 %)*	11 (68,8)*	11 (68,8 %)*	2 (28,6 %)	–	<0,05*
Стадия III	2 (5,2 %)	–	–	2 (28,6 %)	–	
Стадия IV	13 (33,3 %)*	5 (31,3)*	5 (31,3 %)*	3 (42,8 %)	–	<0,05*

*Разница в показателях характеризуется как статистически значимая.

Выделение РНК и синтез кДНК. Образцы тканей получали непосредственно после операции и замораживали в жидким азоте. Для гомогенизации использовали гомогенизатор Retsch (ХХ, Германия). Для приготовления РНК и обратной транскриптазы-полимеразной цепной реакции в реальном времени (Реал-тайм ПЦР) тотальную РНК выделяли с использованием RNeasy Mini Kit (Qiagen, ХХ, Германия) согласно инструкции производителя. Количественные показатели концентрации РНК оценивали посредством спектрофотометрии. Тотальную РНК (1,5 мкг) из ткани конвертировали в первую цепь ДНК с использованием случайного праймера (0,3 мкг) и обратной транскриптазы 200 У мышиного вируса лейкемии (Moloney murine leukemia virus, M-MLV; Promega, ХХ, США).

Количественная обратно-транскриптазная полимеразная цепная реакция. Исследовано 11 генов в оригинальных образцах: VEGFA (включая изоформы VEGFA121, VEGFA165 и VEGFA189), VEGFC, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, HIF-1 α , TF, TFPI-1, TFPI-2, uPA, PAI-1. В качестве внутреннего контрольного гена использовали глицеральдегид-3-fosfatдегидрогеназу (GAPDH). Для количественного определения генов применяли метод флуоресценции на основе реального времени (Taqman). ПЦР в реальном времени для генов VEGFA, VEGFC, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, HIF-1 α , TF, TFPI, TFPI-2, uPA, PAI проводили с использованием коммерческих систем (TaqMan Gene Expression Assays; Applied Biosystems, Foster City, CA; ID Hs00900054 мл, Hs01099203 мл, Hs01052940 мл, Hs00911690 мл, Hs01047659 мл, Hs00936377 мл, Hs00175225 мл, Hs00409206 мл, Hs00197918 мл, Hs01547050 мл, Hs01126603 мл соответственно). Праймеры и зонды для количественной оценки VEGF изоформ в ПЦР в реальном времени применяли, как описано в работе Gustafsson и соавт. [13]. ПЦР проводили в реальном времени реакции в 20 мкл реакционной смеси с окончательным разведением 1× в (Taqman PCR universal master mix, Applied Biosystems) в соответствии с протоколом производителя, используя оборудование Icyler (Bio-Rad, Hercules). Относительные величины иРНК генов в образцах рассчитывали по показателям стандартных кривых, полученных путем амплификации серийного разведения обратно транскрибированной тотальной РНК. Значения исследованных показателей представлены в виде относительных величин.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием пакета программы STATISTICA 6.0. Количественные данные представлены с определением медианы (Median [25; 75]), минимумов–максимумов, качественные данные выражены в абсолютных величинах и процентах. Проверка гипотез о равенстве двух средних проводилась с помощью *U*-критерия Манна–Уитни или Фишера (для количественных признаков). Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки менее 5 % ($P < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Уровни экспрессии исследованного спектра факторов ангиогенеза в ткани опухоли и ткани незлокачественных патологических очагов представлены в табл. 2. Анализируя данные табл. 2, можно отметить, что уровни экспрессии большинства

Таблица 2. Уровни экспрессии исследованного спектра факторов ангиогенеза в ткани опухоли и ткани незлокачественных патологических очагов

Фактор	Злокачественные опухоли ($n = 38$) Медиана (25%–75%), минимум–максимум	Незлокачественные образования ($n = 23$) Медиана (25%–75%), минимум–максимум	<i>P</i>
TF	1,106 (0,389–2,557) 0,037–38,021	3,114 (0,754–4,986) 0,047–102,000	0,0509
TFPI-1	0,516 (0,338–1,154) 0,007–21,486	2,070 (0,967–2,962) 0,382–16,105	0,0003
TFPI-2	0,117 (0,035–0,302) 0,001–8,704	0,543 (0,355–2,347) 0,052–10,881	0,0004
uPA	0,418 (0,174–0,781) 0,006–15,829	3,016 (1,207–5,572) 0,002–18,782	0,0006
PAI-1	1,877 (0,645–4,513) 0,037–38,021	2,553 (1,002–5,155) 0,0382–26,287	0,2043
HIF-1 α	2,028 (1,387–3,768) 0,088–98,021	12,861 (7,717–19,773) 0,534–111,111	0,0002
VEGFR-1	4,937 (2,312–9,167) 0,003–135,803	21,865 (7,368–50,569) 0,034–118,684	0,0009
VEGFR-2	5,794 (2,838–13,517) 0,009–44,589	24,488 (10,000–55,447) 0,000–193,158	0,0011
VEGFR-3	18,574 (6,274–47,085) 0,163–390,741	81,181 (36,866–159,734) 3,159–905,263	0,0004
VEGFA	4,007 (1,804–6,253) 0,032–113,095	3,311 (1,801–5,732) 0,620–24,959	0,9414
VEGFC	0,782 (0,506–1,717) 0,011–321,143	2,244 (1,596–8,792) 0,419–50,425	0,0006
VEGFA121	3,425 (2,281–6,908) 0,215–20,390	1,500 (0,567–3,244) 0,015–81,642	0,0166
VEGFA165	2,516 (1,166–5,504) 0,126–127,451	1,124 (0,502–3,733) 0,017–7,360	0,0228
VEGFA189	4,195 (1,526–11,854) 0,087–297,059	2,859 (1,351–8,300) 0,026–79,208	0,4271
VEGFA165/ VEGFA189	0,720 (0,62–0,933) 0,172–213,093	0,400 (0,282–0,539) 0,093–1,085	0,0034

исследуемых маркеров имели значительные отличия. Статистически значимо большая медиана экспрессии иРНК в незлокачественной ткани отмечена для TFPI-1 (2,070 против 0,516; $P = 0,0003$), TFPI-2 (0,543 против 0,117; $P = 0,0004$), uPA (3,016 против 0,418; $P = 0,0006$), HIF-1 α (12,861 против 2,028; $P = 0,0002$), VEGFR-1 (21,865 против 4,937; $P = 0,0009$), VEGFR-2 (24,488 против 5,794; $P = 0,0011$), VEGFR-3 (81,181 против 18,574; $P = 0,0004$) и VEGFC (2,244 против 0,782; $P = 0,0006$). В то же время определены факторы ангиогенеза, экспрессия которых была больше в опухолевых очагах: VEGFA121 (1,500 против 3,425; $P = 0,0166$), VEGFA165 (1,124 против 2,516; $P = 0,0228$) и соотношения VEGFA165/VEGFA189 (0,400 против 0,720; $P = 0,0034$).

При индивидуальном сравнении констатирована сильная корреляция значений экспрессии двух изоформ: VEGFA165 и VEGFA189 как в опухолевой ткани ($R = 0,8210$, $P = 0,010$), так и в неопухолевых очагах ($R = 0,9110$, $P = 0,013$).

Относительные уровни экспрессии иРНК генов факторов ангиогенеза в выделенных группах сарком в зависимости от нозологии процесса представлены на рисунке. Характеризуя представленные данные в группах пациентов с ОС, СЮ и РМС можно говорить об общих тенденциях с объединенной группой пациентов с онкопатологией: более высокие показатели экспрессии VEGFA121, VEGFA165, соотношения VEGFA165 и низкие (по сравнению с неопухолевыми очагами) уровни остальных факторов ангиогенеза.

Уровни экспрессии иРНК факторов ангиогенеза в тканях незлокачественных очагов. Группа незлокачественных заболеваний в исследовании достаточно гетерогенна и включает пациентов с заболеваниями, для которых рутинно осуществляется дифференциальная диагностика злокачественного и незлокачественного процесса: доброкачественные и воспалительные изменения костных и мягких тканей. В подгруппах не отмечено значимых различий в уровне экспрессии факторов ангиогенеза (данные не представлены), кроме больших значений VEGFR1 (34,4186 против 12,2564; $P = 0,0267$), VEGFR2 (35,1163 против 18,8205; $P = 0,0433$) и TFPI-1 (2,9261 против 1,6039; $P = 0,0269$) для когорты пациентов с воспалительным процессом.

Уровни экспрессии иРНК факторов ангиогенеза в ткани опухоли пациентов с локализованным и распространенным онкологическим процессом. Уровни только двух компонентов из исследованного спектра факторов ангиогенеза значимо отличались в группах пациентов, сформированных в зависимости от наличия метастазов на момент постановки диагноза. Экспрессия TFPI-2 (0,0939 против 0,1783; $P = 0,0405$) и соотношение изоформ VEGFA165/VEGFA189 (0,6765 против 0,8235; $P = 0,0073$) при распространенном онкологическом процессе были ниже, чем при локализованных формах заболевания.

Костные и мягкотканые саркомы представляют группу гетерогенных заболеваний мезенхимальной природы. Несмотря на существующие алгоритмы морфологической диагностики биопсийных препаратов при постановке онкологического диагноза, до настоящего времени остается актуальным вопрос, могут ли быть обнаружены какие-либо дополнительные маркеры, способствующие дифференцировке злокачественной и незлокачественной природы заболевания. Формирование опухолью патологической сосудистой сети происходит на фоне физиологического ангиогенеза, который особенно активен в детском растущем организме [1–4]. Нет сомнения в том, что маркеры ангиогенеза, продуцируемые опухолевым субстратом, могут быть не только удобной мишенью для таргетной терапии, но и служить критериями для прогнозирования течения и исхода заболевания. В настоящей работе нами исследованы уровни экспрессии иРНК у пациентов детского возраста с патологией костей и мягких тканей. Проведено сравнение между уровнями экспрессии у пациентов с онкопатологией и у лиц без злокачественного процесса. Изучены компоненты VEGF, протеазы и их ингибиторы, а также ингибиторы проводящих путей тканевого фактора. Согласно полученным результатам, уровни экспрессии VEGFC, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, HIF-1 α , TFPI-1, TFPI-2 и uPA выше в неопухолевых очагах ($P < 0,05$) по сравнению с таковыми как в общей когорте онкобольных, так и в группах пациентов с отдельными видами нозологии (СЮ, ОС, мягкотканые опухоли).

В литературе представлены факты, что приблизительно 15–20 % всех злокачественных опухолей могут быть инициированы или усугублены наличием воспалительного процесса. Воспаление, так же как и ангиогенез, стимулирует образование цитокинов, факторов роста, про-



Экспрессия иРНК генов факторов ангиогенеза в зависимости от нозологии онкологического процесса. * – $P < 0,05$, характеризует разницу в экспрессии типа опухоли и неонкологических очагов

теолитической ферментов, протеогликанов, липидных медиаторов и простагландинов [10]. Гипоксические процессы в участках воспаления физиологически сопровождаются метаболическими сдвигами и гиперэкспрессией фактора HIF-1, который в свою очередь стимулирует синтез факторов ангиогенеза [14, 15]. Таким образом, наши данные подтверждают гипотезу о том, что гиперэкспрессия некоторых факторов ангиогенеза не является прерогативой только злокачественных новообразований и не может однозначно рассматриваться как диагностический критерий наличия саркомы в детском организме.

С другой стороны, в настоящем исследовании отмечен статистически значимо более высокий уровень экспрессии некоторых изоформ VEGFA: VEGFA121, VEGFA165 и соотношения VEGFA165/VEGFA189 в тканях злокачественных опухолей. По известным на сегодняшний день данным, биологическая роль различных изоформ VEGFA до конца не определена. VEGFA121 и VEGFA165 секрециируются в эндотелиальных клетках и способствуют их активному митогенезу. Изоформы с большим количеством аминокислот, VEGFA165 и VEGFA189, ассоциируются в основном с присутствием в клетках, хотя тоже обладают сосудистой проницаемостью. Считается, что VEGFA165 более «выгодна» для опухоли, чем VEGFA189, хотя обе изоформы участвуют в локальном ангиогенезе. Отмечено, что при дефиците VEGFA165 компенсаторно повышается уровень VEGFA189, однако это не сопровождается усилением инвазии опухоли в костный мозг. Соотношение внешних внутриклеточных изоформ VEGFA рассматривается рядом авторов как значимый биологический маркер, что подтверждено результатами нашего исследования [16, 17]. Данные литературы свидетельствуют о повышенной экспрессии VEGFA121, VEGFA165, VEGFA189 при остеосаркome, почечно-клеточном раке, немелкоклеточном раке легкого, колоректальном раке, саркome Юинга, что ассоциировалось с ранней прогрессией опухоли и плохим прогнозом заболевания [17, 18]. По нашим данным, уровень экспрессии этих маркеров у пациентов со злокачественными саркомами значимо выше, чем у лиц без онкопатологии, а соотношение VEGFA165/VEGFA189 у пациентов с VI стадией заболевания меньше, чем у лиц с локализованными формами онкологического процесса ($P < 0,05$). Также установлена корреляция между экспрессией этих изоформ как в опухолевой ткани ($R = 0,8210, P = 0,010$), так и в неопухолевых очагах.

Статистически значимые отличия в уровне экспрессии TFPI-2 установлены в группах пациентов в зависимости от наличия метастазов на момент диагноза. Этот ген рассматривается в качестве опухолевого супрессора, в том числе как ингибитора ангиогенеза [18, 19]. В нашем исследовании уровни TFPI-1 и TFPI-2 в незлокачественных патологических очагах были значимо меньше, чем в опухолевой ткани. Представляется важным дальнейшее изучение роли ингибиторов проводящих путей тканевого фактора в качестве онкомаркера со значительным прогностическим потенциалом.

Заключение. Такие маркеры, как VEGFC, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, HIF-1 α и uPA, показали больший уровень экспрессии иРНК при незлокачественной патологии по сравнению с опухолевой тканью и не могут ассоциироваться только с процессами опухолевого ангиогенеза.

Отличительными особенностями сарком костных и мягких тканей у детей являются уровни экспрессии VEGFA121, VEGFA165, а также соотношение VEGFA165/VEGFA189.

Низкий показатель соотношения изоформ VEGFA165/VEGFA189 наряду с низким уровнем иРНК экспрессии гена TFPI-2 статистически значимо отличает пациентов с распространенным онкологическим процессом от лиц с локализованными формами заболевания и может быть использован в качестве прогностического маркера у пациентов детского возраста с саркомами костей и мягких тканей.

Список использованной литературы

1. Достижения детской онкологии и гематологии в Республике Беларусь / О. В. Алейникова [и др.] // Актуальные вопросы детской онкологии и гематологии: материалы VIII междунар. симп. – Минск, 2000. – С. 3–8.
2. Сукачко, О. Г. Организационно-методическая помощь, оказываемая государственным учреждением РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова организациям здравоохранения в Республике Беларусь / О. Г. Сукачко, Н. А. Антоненкова // Онкол. журн. – 2011. – № 20. – С. 42–45.
3. Неоперируемый рак щитовидной железы: эффективность диагностики и выживаемость / Ю. Е. Демидчик [и др.] // Онкол. журн. – 2008. – № 8. – С. 9–21.

4. Роль молекулярных часов в патогенезе и терапии злокачественных новообразований / Э. А. Жаврид [и др.] // Мед. панорама. – 2011. – № 7. – С. 19–23.
5. Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies (REMARK): explanation and elaboration / D. G. Altman [et al.] // BMC Med. – 2012. – N 10. – P. 51.
6. Adams, R. H. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis / R. H. Adams, K. Alitalo // Nature. – 2007. – N 8. – P. 464–468.
7. A phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of dalotuzumab (MK-0646), an anti-insulin-like growth factor-I receptor monoclonal anti- body, inpatients with advanced solid tumors / F. Atzori [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2011. – N 17. – P. 6304–6312.
8. Determination of microvessel density by quantitative real-time PCR in esophageal cancer: correlation with histologic methods, angiogenic growth factor expression and lymph node metastasis / S. Loges [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2007. – N 13. – P. 76–80.
9. Belting, M. Signaling of the tissue factor coagulation pathway in angiogenesis and cancer / M. Belting, J. Ahamed, W. Ruf // Arterioscler. Thromb Vasc. Biol. – 2005. – N 25. – P. 1545–1550.
10. Ono, M. Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy / M. Ono // Cancer Sci. – 2008. – N 99. – P. 1501–1506.
11. McMahon, B. The plasminogen activator system and cancer / B. McMahon, H. C. Kwaan // Pathophysiol. Haemost. Thromb. – 2007. – N 8. – P. 184–194.
12. Wojtukiewicz, M. Z. The role of hemostatic system inhibitors in malignancy / M. Z. Wojtukiewicz, E. Sierko, W. Kisiel // Semin. Thromb Hemost. – 2007. – N 33. – P. 621–642.
13. VEGF-A splice variants and related receptor expression in human skeletal muscle following submaximal exercise / T. Gustafsson [et al.] // J. Appl. Physiol. – 2005. – N 98. – P. 2137–2146.
14. Lu, H. Inflammation, a key event in cancer development / H. Lu, W. Ouyang, C. Huang // Mol. Cancer Res. – 2006. – N 4. – P. 221–233.
15. Pugh, C. W. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system / C. W. Pugh, P. J. Ratcliffe // Nat. Med. – 2003. – N 9. – P. 677–684.
16. Production of VEGF165 by Ewing's sarcoma cells induces vasculogenesis and the incorporation of CD34 þ stem cells into the expanding tumor vasculature / T. H. Lee [et al.] // Int. J. Cancer. – 2006. – N 119. – P. 839–846.
17. DuBois, S. Angiogenesis and Vascular Targeting in Ewing Sarcoma / S. DuBois, N. Marina, J. Glade-Bender // Cancer. – 2010. – N 1. – P. 749–757.
18. Ferrara, N. The biology of VEGF and its receptors / N. Ferrara, H. P. Gerber, J. Le Couter // Nat. Med. – 2003. – N 9. – P. 669–676.
19. VEGF121 promotes lymphangiogenesis in the sentinel lymph nodes of non-small cell lung carcinoma patients / H. Kawai [et al.] // Lung Cancer. – 2008. – N 59. – P. 41–47.

Поступила в редакцию 18.04.2016