

локализациях опухолей) существует дисбаланс между сывороточными уровнями ФНО α и рФНО-Р1 за счет нарастания доли случаев как с низким, так и с высоким соотношением рФНО-Р1/ФНО α .

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Навашин С. М., Вядро М. М. // ВИНТИ. Итоги науки и техники. Сер.: Онкология. — 1989. — С. 1—86.
2. Фрейдлин И. С. // Тихоокеан. мед. журн. "Дальнаука". — 1999. — № 3. — С. 13—19.
3. Чиссов В. И., Сергеева Н. С., Мариштина Н. В. и др. // Рос. онкол. журн. — 2009. — № 6. — С. 28—31.
4. Чиссов В. И., Сергеева Н. С., Мариштина Н. В. и др. // Рос. онкол. журн. — 2009. — № 6. — С. 50—51.
5. Fuksiewicz M., Kaminska J., Kowalska M. et al. // Tumor Biol. — 2007. — Vol. 28 (suppl. 1). — P. 93.
6. Ichim Ch. V. // J. Transl. Med. — 2005. — Vol. 3. — P. 8.
7. Lentz M. R., Hubbard W., Fisher C. // Jpn. J. Apher. — 1997. — Vol. 16. — P. 107—114.
8. Lentz M. R. // Ther. Apher. — 1999. — Vol. 3. — P. 40—49.
9. Lentz M. R., Kumar K. // Ther. Apher. Dial. — 2008. — Vol. 12, N 6. — P. 491—496.
10. Mitsiades C. S., Poulaki P., Mitsiades N. // J. Endocrinol. — 2003. — Vol. 78. — P. 205—216.
11. Petak I., Houghton J. // Pathol. Oncol. Res. — 2001. — Vol. 7, N 2. — P. 106.
12. Selinsky C. L., Howel M. D. // Cell Immunol. — 2000. — Vol. 200. — P. 81—87.
13. Van Horssen R., ten Hagen T. L. M., Eggermont A. M. // Oncologist. — 2006. — Vol. 11. — P. 397—408.

Поступила 17.09.10

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.61-006.6-091.8

Р. А. Зуков¹, О. К. Полякова¹, Т. Г. Рукша¹, Ю. А. Дыхно¹, Т. В. Максимова²

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ TsPO У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ВАРИАНТАМИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

¹ГОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого (ректор — проф. И. П. Артюхов), ²КГБУЗ Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А. И. Крыжановского (главврач — канд. мед. наук А. А. Модестов)

Представлены результаты исследования уровня экспрессии периферического бензодиазепинового рецептора (TsPO) у больных раком почки в зависимости от пола, возраста, стадии заболевания, гистологического варианта, сопутствующей патологии.

Установлена зависимость уровня TsPO у больных раком почки от стадии заболевания, гистологического варианта, а также наличия синхронного рака другой локализации. Полученные данные позволяют предположить возможность использования TsPO в качестве маркера при прогнозировании эффективности лечения и течения заболевания.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, периферический бензодиазепиновый рецептор, TsPO, гистологические варианты рака почки

TSPO EXPRESSION IN PATIENTS WITH DIFFERENT CLINICAL AND MORPHOLOGICAL TYPES OF RENAL CELL CARCINOMA

R. A. Zukov¹, O. K. Polyakova¹, T. G. Ruksha¹, Yu. A. Dykhno¹, T. V. Maksimova²

¹Prof. V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; ²A. I. Kryzhanovsky Krasnoyarsk Territorial Clinical Oncology Dispensary

The paper presents the results of an investigation of the expression of peripheral benzodiazepine receptor (TsPO) in patients with renal cell carcinoma in relation to gender, age, disease stage, histological type, and comorbid diseases. In the patients with renal cell carcinoma, the level of TsPO was found to be related to the disease stage, histological type, and the presence of synchronous cancer at other sites. The findings may suggest that TsPO can be used as a marker in predicting the efficiency of treatment and the course of disease.

Key words: renal cell carcinoma, peripheral benzodiazepine receptor, TsPO, histological types of kidney cancer

Периферический бензодиазепиновый рецептор, или белок-транслокатор (TsPO), — внутриклеточный белок молекулярной массой 18 кД. Впервые TsPO описан в 1977 г., причем связывание с ним его лигандов бензодиазепинов в периферических тканях было первоначально

обнаружено именно в почках. Позже TsPO был выявлен во многих тканях, в частности в сердце, легких, надпочечниках, слюнных железах, лимфоцитах, тромбоцитах, в глиальных клетках нервной системы, в органах репродуктивной системы [4].

В связи с тем что TsPO рассматривают как белок "домашнего хозяйства" (house-keeping protein), показано его участие во многих процессах, касающихся фундаментальных аспектов жизнедеятельности клетки [11].

Для корреспонденции: Зуков Руслан Александрович — канд. мед. наук, доц. каф. онкологии и лучевой терапии; 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1; e-mail: zukov_rus@mail.ru

Таблица 1

Уровень экспрессии TsPO у больных ПКР в зависимости от стадии заболевания

Стадия	Количество TsPO ⁺ -клеток, %
I	47,3 ± 24,5*
III	40,5 ± 23,8*
IV	60,3 ± 10,1*, **
Контроль	15,2 ± 1,2

Примечание. Достоверность различий: * — по сравнению с контролем, ** — с другими стадиями ПКР при $\alpha < 0,01$.

Наиболее изученным является участие TsPO в транспорте низкомолекулярных клеточных метаболитов через внешнюю митохондриальную мембрану, в том числе холестерина, что является ключевым этапом в синтезе стероидных гормонов [9, 11]. Исследовано иммуномодулирующее действие TsPO после ишемического повреждения головного мозга и при некоторых нейродегенеративных заболеваниях [19]. Рядом авторов отмечено участие данного белка в клеточном дыхании и транспорте кальция [8, 13, 19]. Помимо этого, были получены убедительные доказательства роли TsPO в регуляции клеточной пролиферации и апоптоза. В лимфатических тканях TsPO активирует апоптоз тимоцитов посредством снижения митохондриального трансмембранного потенциала [8, 13, 18, 19]. Установлено, что синтетический лиганд TsPO РК11195 способен модулировать уровень клеточной пролиферации. Повышенные уровни экспрессии рецептора были обнаружены в клетках рака молочной железы, толстого кишечника и предстательной железы, причем больше всего это было выражено в

Таблица 2

Уровень экспрессии TsPO в зависимости от гистологического варианта ПКР

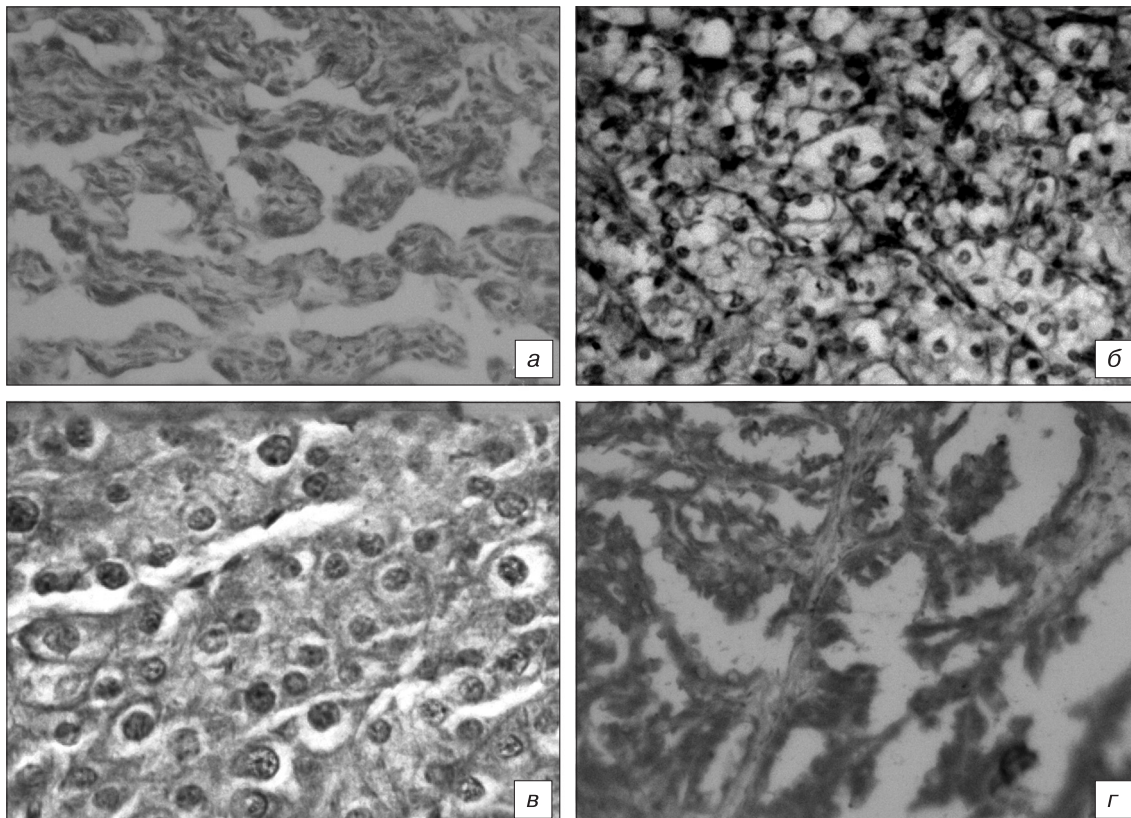
Гистологический вариант ПКР	Количество TsPO ⁺ -клеток, %
Светлоклеточный	34,56 ± 11,9*, **
Хромофобный	39,87 ± 12,5*, **
Папиллярный	53,14 ± 12,9*, ***
Саркомоподобный	72,76 ± 15,3*, ***
Контроль	15,2 ± 1,2

Примечание. Достоверность различий: * — по сравнению с контролем ($\alpha < 0,01$), ** — с саркомоподобным и папиллярным вариантами ПКР ($\alpha = 0,01$), *** — с другими гистологическими вариантами ПКР ($\alpha = 0,01$).

опухолях и линиях раковых клеток, обладающих высоким злокачественным потенциалом [3, 5, 7, 8, 17].

Исходя из биологических особенностей функционирования TsPO, нами был проведен сравнительный анализ уровня экспрессии данного белка в опухолевой ткани больных почечно-клеточным раком (ПКР) для оценки возможности его использования в качестве прогностического маркера.

Материал и методы. Под наблюдением находились 89 больных ПКР в возрасте 42—82 лет. Все пациенты были оперированы в объеме радикальной нефрэктомии ($n = 79$) или резекции почки ($n = 10$). Полученную во время операции ткань почки фиксировали в 10% растворе формалина, заливали в парафин, после чего изготавливали срезы для иммуногистохимического окрашивания. Образцы подвергали морфологическому исследованию для определения стадии заболевания и гистологическо-



Различные гистологические варианты ПКР при окрашивании антителами к TsPO. а — саркомоподобный, б — светлоклеточный, в — хромофобный, г — папиллярный.

го варианта ПКР. Параллельно срезы толщиной до 5 мкм окрашивали с антителами к TsPO ("Trevigen") в разведении 1:400. Окрашивание проводили согласно стандартным протоколам с использованием системы детекции Ready-to-Use ("NovoLink") и диаминобензидина в качестве хромогена ("BD Biosciences"). В дальнейшем срезы докрашивали гематоксилином. Подсчет положительно окрашенных клеток производили при увеличении 400 с помощью микроскопа Olympus BX-41, оценивали количество положительно окрашенных клеток на 100 клеток. В качестве контроля использовали ткань здоровой почки ($n = 8$). Положительно окрашенными считали опухолевые клетки с ядрами, окрашенными в коричневый цвет.

Статистическую обработку осуществляли с помощью критерия Н Крускала—Уоллеса.

Результаты и обсуждение. Нами был проведен анализ для выявления возможной связи между уровнем экспрессии TsPO у больных раком почки и рядом факторов: полом и возрастом пациентов, стадией заболевания, гистологическим вариантом ПКР, а также наличием сопутствующей патологии.

Среди наблюдаемых больных было 42 (47,2%) женщины и 47 (52,8%) мужчин. Достоверных различий в уровне экспрессии TsPO в зависимости от пола (у мужчин этот показатель составил 47,1%, у женщин — 41,5%) и возраста выявлено не было.

После оперативного лечения по результатам гистологического исследования I стадия заболевания определена у 12,4% больных, III стадия — у 70,8% и IV стадия — у 16,8%. Выявлено достоверно значимое повышение уровня экспрессии TsPO у больных ПКР по сравнению с группой контроля ($\alpha < 0,01$). Также установлено, что чем более распространенным является опухолевый процесс, тем выше уровень экспрессии данного белка (табл. 1).

При морфологическом исследовании были выделены следующие гистологические варианты ПКР: светлоклеточный ($n = 30$), хромофобный ($n = 30$), папиллярный ($n = 19$), саркомоподобный ($n = 10$).

TsPO визуализировался в опухолевых очагах и в ткани здоровой почки с преимущественно ядерной локализацией (см. рисунок). В контрольной группе уровень TsPO⁺-клеток составил 15,2%, при светлоклеточном варианте ПКР — 34,6%, при хромофобном варианте — 39,9%, при папиллярном — 53,1% и саркомоподобном варианте — 72,8%. Различия между средними значениями числа TsPO⁺-клеток при всех вариантах ПКР и в контроле, а также между светлоклеточным, хромофобным, папиллярным и саркомоподобным вариантами были достоверны ($\alpha < 0,01$). Не выявлено достоверных различий между светлоклеточным и хромофобным вариантами ПКР (табл. 2).

Интересным является и тот факт, что у 6 (14,6%) наблюдаемых женщин ПКР сочетался с синхронным раком молочной железы. Уровень экспрессии TsPO в этой группе (60,3%) был достоверно выше, чем у женщин, имеющих только ПКР — 41,5% ($\alpha < 0,01$).

В то же время характер течения послеоперационного периода не оказывал существенного влияния на содержание данного белка. У больных ПКР с гладким течением уровень TsPO составил 44,7%, с осложненным — 44,4%.

Таким образом, в нашем исследовании установлена зависимость уровня TsPO у больных ПКР от стадии заболевания, гистологического варианта, а также наличия синхронного рака другой локализации.

Прогностическое значение размера опухоли, инвазии за пределы капсулы почки, вовлечения в опухолевый процесс надпочечника, лимфатических узлов, венозной

инвазии, отдаленных метастазов, объединяемых классификацией TNM, описано у многих исследователей [10, 14]. Нами установлена прямая зависимость уровня экспрессии TsPO от распространенности опухолевого процесса. Так, у больных с диссеминированным ПКР отмечаются более высокие показатели экспрессии TsPO, чем при местно-распространенных и локализованных формах заболевания.

Крупных исследований по изучению прогностической роли гистологических вариантов при раке почки немного. В многоцентровом исследовании J.-J. Patard и соавт. [15], включавшем 4063 больных ПКР из 8 международных центров, установлено, что пациенты с хромофобным вариантом ПКР имеют более благоприятный прогноз по сравнению с больными папиллярным и светлоклеточным раком почки. Однако эти различия нивелируются при проведении многофакторного анализа, учитывающего стадию заболевания по системе TNM и степень дифференцировки по Фурману.

В другом исследовании, проведенном J. Cheville и соавт. [1], с участием 2385 пациентов с различными гистологическими вариантами ПКР, продемонстрирован менее благоприятный прогноз у больных со светлоклеточным вариантом (показатель 5-летней выживаемости 68,9%) по сравнению с папиллярным (87,4%) и хромофобным (86,7%). При этом отмечено, что прогностическая значимость гистотипа сохраняется независимо от стадии заболевания и степени ядерной дифференцировки.

Наличие саркоматоидного характера опухоли во всех доступных исследованиях ассоциировано с крайне неблагоприятным прогнозом [1, 12].

В нашем исследовании самый высокий уровень TsPO⁺-клеток определен при саркомоподобном варианте (72,7%), следующим является папиллярный рак (53,1%), наиболее низкий показатель установлен при хромофобном и светлоклеточном вариантах рака почки (39,9 и 34,6% соответственно).

Промежуточное прогностическое значение по уровню экспрессии TsPO у больных с папиллярным вариантом ПКР в нашем исследовании можно объяснить неоднородностью данной группы больных. Среди больных папиллярным раком почки большинство авторов [2, 16] традиционно выделяют две прогностические группы в зависимости от типа клеток: I тип — опухолевые клетки малого размера с хромофильной цитоплазмой с низким злокачественным потенциалом, II тип — крупные клетки с эозинофильной цитоплазмой и высокой предрасположенностью к метастазированию. Принадлежность клеток папиллярного ПКР к тому или иному типу определяется с помощью генетических и цитогенетических исследований. В нашем исследовании такая дифференциация не проводилась.

Таким образом, повышение уровня TsPO у больных ПКР, а также достоверные его различия при различных стадиях и гистологических вариантах рака почки являются свидетельством нарушенного функционирования TsPO при данной патологии. Выявленная зависимость между характером течения ПКР и уровнем TsPO указывает на возможность использования TsPO в качестве маркера при мониторинге больных ПКР для прогнозирования эффективности лечения и течения заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cheville J. S., Lohse C. M., Zincke H. et al. // *Am. J. Surg. Pathol.* — 2003. — Vol. 27, N 5. — P. 612—624.
2. Delahunt B., Eble J. N., McCredie M. R. et al. // *Hum. Pathol.* — 2001. — Vol. 32, N 6. — P. 590—595.

3. Everett H., Barry M., Sun X. et al. // J. Exp. Med. — 2002. — Vol. 196, N 9. — P. 1127—1140.
4. Galiègue S., Casellas P., Kramar A. et al. // Clin. Cancer Res. — 2004. — Vol. 10. — P. 2058—2064.
5. Gavish M., Laor N., Bidder M. et al. // Neuropsychopharmacology. — 1996. — Vol. 14, N 3. — P. 181—186.
6. Han Z., Slack R. S., Li W. et al. // J. Recept. Signal Transduct. Res. — 2003. — Vol. 23, N 2—3. — P. 225—238.
7. Johnson M. R., Marazziti D., Brawman-Mintzer O. et al. // Biol. Psychiatry. — 1998. — Vol. 43, N 4. — P. 306—309.
8. Kurumaji A., Nomoto H., Yamada K. et al. // Am. J. Med. Genet. — 2001. — Vol. 105, N 2. — P. 172—175.
9. Lin D., Chang Y. J., Strauss J. F. et al. // Genomics. — 1993. — Vol. 18, N 3. — P. 643—650.
10. Linehan W. M., Zbar B. // Cancer Cell. — 2004. — Vol. 6. — P. 223—228.
11. Maaser K., Grabowski P., Sutter A. P. et al. // Clin. Cancer Res. — 2002. — Vol. 8. — P. 3205—3209.
12. Molina A. M., Tickoo S. K., Ishill N. et al. // J. Clin. Oncol. — 2009. — Vol. 27, N 15S. — P. 16017.
13. Papadopoulos V., Baraldi M., Guilarte T. R. et al. // Trends Pharmacol. Sci. — 2006. — Vol. 27, N 8. — P. 402—409.
14. Patard J.-J., Kim H. L., Lam J. S. et al. // J. Clin. Oncol. — 2004. — Vol. 22, N 16. — P. 3316—3322.
15. Patard J.-J., Leray E., Rioux-Leclercq N. et al. // J. Clin. Oncol. — 2005. — Vol. 23, N 12. — P. 2763—2771.
16. Pignot G., Elie C., Conquy S. et al. // J. Urology. — 2007. — Vol. 69, N 2. — P. 230—235.
17. Ruff M. R., Pert C. B., Weber R. J. et al. // Science. — 1985. — Vol. 229. — P. 1281—1283.
18. Taliani S., Simorini F., Sergianni V. et al. // J. Med. Chem. — 2007. — Vol. 50, N 2. — P. 404—407.
19. Veenman L., Gavish M. // Pharmacol. Ther. — 2006. — Vol. 110, N 3. — P. 503—524.

Поступила 28.03.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616-006.04-685.831.015.2:[615.31:547.625]-092.9

Н. Б. Морозова¹, Р. И. Якубовская¹, В. И. Чиссов¹, В. М. Негримовский², О. А. Южакова²

ФОТОИНДУЦИРОВАННАЯ АКТИВНОСТЬ IN VIVO ПОЛОЖИТЕЛЬНО ЗАРЯЖЕННОГО ФТАЛОЦИАНИНА ЦИНКА, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

¹ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена (дир. — акад. РАМН В. И. Чиссов) Минздравсоцразвития России; ²ФГУП ГНЦ НИОПИК (дир. — чл.-кор. РАН Г. Н. Ворожцов), Москва

Исследован in vivo замещенный фталоцианиновый комплекс холосенс в качестве фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии (ФДТ) злокачественных новообразований. Холосенс мгновенно накапливается в тканях опухолей мышей (карцинома легкого Льюис — LLC, аденокарцинома толстой кишки Colo26 — C26, саркома 37 — S37, меланома B16 — B16) с флюоресцентной контрастностью относительно окружающей ткани от 2 до 4 усл. ед. Максимум флюоресценции в опухоли с $\lambda_{max} = 696,5$ нм регистрируется через 5—30 мин после введения. Холосенс обладает высокой фотоиндуцированной активностью относительно опухолей различного генеза. Использование эффективных режимов ФДТ (доза холосенса 0,5—1,0 мг/кг, интервал Δt 5—30 мин, плотность энергии 90—180 Дж/см²) позволяет добиться высоких результатов лечения: торможение роста опухоли составляет 81,8—98,6%, увеличение продолжительности жизни — 49,0—115,3%, критерий излеченности — 25,0—66,7%. Наиболее чувствительны к ФДТ с холосенсом опухоли LLC, C26 и S37. Холосенс является перспективным фотосенсибилизатором для ФДТ злокачественных новообразований, а также для антимикробной ФДТ.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, катионные фталоцианины, холосенс, локальная флюоресцентная спектроскопия, противоопухолевая эффективность

IN VIVO PHOTO-INDUCED ACTIVITY OF POSITIVELY CHARGED ZINC PHTHALOCYANINE USED FOR PHOTODYNAMIC THERAPY FOR MALIGNANCIES

N. B. Morozova¹, R. I. Yakubovskaya¹, V. I. Chissov¹, V. M. Negrimovsky², O. A. Yuzhakova²

¹P. A. Herzen Moscow Oncology Research Institute, Russian Agency for Medical Technologies; ²Research Institute of Organic Intermediates and Dyes, Moscow

The substituted phthalocyanine complex cholosens was in vivo investigated as a photosensitizer used in photodynamic therapy (PDT) for malignancies. Cholosens immediately accumulates in the tissues of murine tumors (Lewis lung carcinoma (LLC), colon adenocarcinoma 26 (C26), sarcoma 37 (S37), and melanoma B16) imaged by fluorescence to show contrast of tumor compared to adjacent tissue from 2 to 4 conventional units. The maximum tumor fluorescence the $\lambda_{max} = 696.5$ nm is recorded 5-30 minutes after injection. Cholosens has a high photo-induced activity against tumors of different genesis. The use of effective PDT regimes (cholosens, 0.5-1.0 mg/kg; interval, Δt 5-30 min; energy density, 90-180 J/cm²) yields high treatment results: tumor growth suppression is 81.8-98.6%; higher survival rates are 49.0-115.3%; recovery index is 25.0-66.7%. LLC, C26, and S37 are most susceptible to PDT with cholosens. The later is a promising photosensitizer used in PDT for malignancies and for antimicrobial PDT.

Key words: photodynamic therapy, photosensitizer, cationic phthalocyanines, cholosens, local fluorescence spectroscopy, antitumor efficacy