

8. Пырикова Н.В., Осипова И.В., Концевая А.В., Зальцман А.Г., Курбатова И.И., Антропова О.Н. Клинико-экономическая эффективность организационной модели первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у работников железнодорожного транспорта // Российский кардиологический журнал. – 2014 – № 6. – С. 12–18.

9. Приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от 3 февраля 2015 г. № 36ан «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения».

10. Feenstra T.L., van Baal PM, Jacobs-van der Bruggen MO, Hoogenveen M.O., Kommer R.T., Baan G-J., Baan C.A. Targeted

versus universal prevention. a resource allocation model to prioritize cardiovascular prevention // Cost Eff Resour Alloc. – 2011. – V. (1). – P. 14.

11. Moran A.E., Odden M.C., Thanataveerat A, et al. Cost-effectiveness of hypertension therapy according to 2014 guidelines // N Engl J Med. – 2015. – V. 372(5). – P. 447–455.

12. World Health Organization. Cardiovascular disease: The atlas of heart disease and stroke. 2015.

13. World Health Organization. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013–2020. World Health Organization. 2013; 102.

Поступила 09.01.2017

В. И. КОНОНЕНКО, О. И. КИТ, Е. Ф. КОМАРОВА, А. Ю. МАКСИМОВ, В. В. ПОЗДНЯКОВА, И. А. НОВИКОВА, А. А. ДЕМИДОВА

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ, НЕОАНГИОГЕНЕЗА И АПОПТОЗА ПРИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМ ТЕЧЕНИЕМ РАКА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, 14-я Линия, 63; тел. 8 (632) 300-30-05; e-mail: rnioi@list.ru

При изучении экспрессии факторов транскрипции, неоангиогенеза и апоптоза в ткани опухоли и ротовой жидкости 141 больного раком слизистой оболочки полости рта T1-3N0-2M0 показано, что прогрессирование рака СОПР, сочетанное с послеоперационными гнойными воспалительными осложнениями, было ассоциировано с высоким уровнем транскрипционных факторов, усиленной транслокацией гипоксия-индуцибельного фактора-1α в ядро, высокой экспрессией васкулоэндотелиального фактора роста и активацией апоптоза в опухолевой ткани. Выявленные изменения при прогрессировании основного заболевания имеют достоверно большую выраженность.

Ключевые слова: рак слизистой оболочки полости рта, транскрипционные факторы, VEGF, апоптоз, ткань опухоли, ротовая жидкость.

V. I. KONONENKO, O. I. KIT, E. F. KOMAROVA, A. YU. MAKSIMOV, V. V. POZDNYAKOVA, I. A. NOVIKOVA, A. A. DEMIDOVA

Evaluation of the Expression of Transcription, Neoangiogenesis and Apoptosis Factors in case of Postoperative Complications in Patients with Different Progression of Oral Mucosa Cancer

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, 14 Line, 63, tel. 8 (632) 300-30-05, e-mail: rnioi@list.ru

While studying the expression of transcription, neoangiogenesis and apoptosis factors in the tumour tissue and oral fluid of 141 patients with oral mucosa cancer T1-3N0-2M0, it was shown that oral mucosa cancer progression combined with postoperative purulent inflammatory complications were associated with a high level of transcription factors, enhanced translocation of hypoxia-inducible factor-1α in the core, high expression of vascular endothelial growth factor and activation of apoptosis in the tumour tissue. The revealed changes in the underlying disease progression have a reasonably greater severity.

Keywords: oral mucosa cancer, transcription factors, VEGF, apoptosis, tumour tissue, oral fluid.

Рак слизистой оболочки полости рта (СОПР) характеризуется ранним возникновением метастазов в региональные лимфатические узлы и высо-

кой смертностью уже на первом году после постановки диагноза [2]. Среди существующих маркеров прогноза течения рака СОПР сведения о кисло-

род-зависимых факторах малочисленны. В современных исследованиях показана, что экспрессия гипоксия-индуцибельного фактора (HIF-1a) при раке СОП. При злокачественных новообразованиях СОПР некоторыми авторами показана связь экспрессии HIF1a в клетках с размером опухоли, поражением лимфатических узлов, гистологической дифференциацией [1, 5, 6, 8, 9]. Содержание в ткани опухоли рака СОПР NF-kB сопряжено с вовлечением в опухолевый процесс регионарных лимфоузлов [3]. В исследовании Margaritescu C. et al. [7] была установлена повышенная экспрессия VEGF в ткани плоскоклеточных карцином полости рта, что авторы связывают с метастатическим потенциалом неоплазмы. Изоформы VEGF связаны с различными характеристиками рака СОПР: общей выживаемостью [13], распространенностью [10, 11] и метастазированием опухоли [12]. Huang et al. [4] при изучении HIF1b-индуцированной продукции VEGF-C у больных раком языка показали корреляцию сверхэкспрессии HIF1b с гиперэкспрессией VEGF-C, плотностью лимфатических сосудов и количеством метастазов в региональные лимфатические узлы.

Таким образом, цель исследования — изучить взаимовлияние содержания транскрипционных, ангиогенных и апоптотических факторов в опухолевой ткани и характера течения злокачественного процесса при развитии гнойных послеоперационных осложнений больных раком СОПР.

Материалы и методы исследования

В исследование был включен 141 больной раком слизистой оболочки полости рта T1-3N0-2M0 стадии процесса. Средний возраст больных составил $50,5 \pm 4,4$ года. У всех пациентов, включенных в работу, диагноз плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта был подтвержден при гистологическом исследовании биопсийного материала. Проведение данной работы было одобрено этическим комитетом ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ. В каждом конкретном случае было получено добровольное информированное согласие больных на использование материалов для проведения научных исследований.

Больные были разделены на 2 группы, у которых в послеоперационном периоде развивались гнойно-воспалительные осложнения (некроз мышечного или кожно-жирового лоскута, используемого для пластики, остеомиелит нижней челюсти, флегмона нижней челюсти) — основная группа (n=96) и послеоперационный период протекал без гнойно-септических осложнений — группа сравнения (n=45). У больных основной группы частота прогрессирования основного заболевания (рецидивы опухоли, регионарные и отдаленные метастазы) наблюдалась у 39 (40,6 %), а в группе сравнения — у 4 (8,9 %) пациентов.

Были изучены ткани опухоли, взятые во время оперативного вмешательства, которые подвергали дальнейшему замораживанию при температуре -80°C . Образцы опухолевой ткани для иммуногистохимического исследования готовили по стандартной методике.

Уровень экспрессии гипоксия-индуцибельного фактора-1a (HIF-1a; USCN Life Science), ядерных факторов транскрипции семейства каппа-B (NF-kBp50 и NF-kBp65 (Caymanchem), уровень VEGF-A («BioVision, Incorp.») исследовали методом ИФА в 10 % цитозольных фракциях, приготовленных на 0,1 М калий-фосфатном буфере pH 7.4, содержащем 0,1 % Твин-20 и 1 % БСА.

Для выявления белка HIF-1a был применен иммунопероксидазный метод (EnVision/HRP, «Dako Cytomation»), а для оценки экспрессии HIF-1a количество позитивных клеток подсчитывали на 1000 клеток. При оценке экспрессии маркера апоптоза bax использовали поликлональные антитела («DAKO Corp.»).

Данные обрабатывались при помощи пакета статистических программ «Statistica 10.0». При этом соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

Результаты исследования и обсуждение

Содержание транскрипционных факторов и VEGF-A в опухолевой ткани больных основной группы и группы сравнения в зависимости от течения заболевания отражено в таблице 1.

При прогрессии заболевания в двух изучаемых группах содержание HIF-1a, NF-kB p50, NF-kB p65 и VEGF-A в супернатанте опухоли было выше по сравнению с больными со стабильным течением заболевания.

Однако амплитуда прироста транскрипционных и ростовых факторов при прогрессировании заболевания была выше в основной группе по сравнению с группой сравнения (рис. 1).

Так, в основной группе у пациентов с прогрессированием заболевания по сравнению с больными при стабильном течении болезни HIF-1a, NF-kB p50, NF-kB p65 и VEGF-A возросли соответственно на 26,3 % ($p < 0,05$), 16,2 % ($p < 0,05$), 39,5 % ($p < 0,05$) и 17,5 % ($p < 0,05$), а в группе сравнения на 18,9 % ($p < 0,05$), 17,6 % ($p < 0,05$), 15,2 % ($p < 0,05$) и 10,8 % ($p < 0,05$). Повышенное содержание транскрипционных и ростовых факторов в опухоли у пациентов с гнойно-воспалительными послеоперационными осложнениями было ассоциировано с более частым прогрессированием рака СОПР.

Экспрессия HIF-1a в опухолевой ткани в основной группе при прогрессировании заболевания была выше по сравнению с пациентами этой же группы, но без прогрессии болезни (табл. 2). Сильная выраженность экспрессии HIF-1a в опухолевой ткани в основной группе при прогрессировании заболевания встречалась в 38,5 %, а при отсутствии

Таблица 1

Содержание транскрипционных и ростовых факторов в опухолевой ткани больных основной группы и группы сравнения с учетом прогрессии заболевания

Показатель	Основная группа, n=96		Группа сравнения, n=45	
	Прогрессия+	Прогрессия-	Прогрессия+	Прогрессия-
HIF-1α	14,9±0,8*°	11,8±0,9 °	10,7±0,3*	9,0±0,6
NF-kB p50, УЕ/мг белка в лунке	12,2±1,0*°	10,5±0,7	10,7±0,2*	9,1±0,9
NF-kB p65, УЕ/мг белка в лунке	17,3±1,2*°	12,4±0,8 °	12,1±0,4*	10,5±0,7
Коэффициент NF-kB p65/p50	1,43±0,2 °	1, 17±0,3	1,14±0,1	1,15±0,5
VEGF-A, пг/мг	99,6±3,2* °	84,8±2,9 °	81,2±1,4*	73,3±2,6
Всего	39	57	4	41

Примечание: * — достоверное отличие между подгруппами с прогрессией и отсутствием прогрессии заболевания при $p < 0,05$; ° — достоверное отличие между подгруппами основной группы и группы сравнения с учетом прогрессии заболевания при $p < 0,05$.

Таблица 2

Характеристика экспрессии HIF-1α

	Уровень экспрессии HIF-1α				Всего
	0	1+	2+	3+++	
Основная группа, n=96					
Прогрессия+	–	3 (7,7 %)	21 (53,8 %)*°	15 (38,5 %)*	39 (100 %)
Прогрессия–	–	9 (15,8 %)	47 (82,5 %)	1 (1,8 %)	57 (100 %)
Группа сравнения, n=45					
Прогрессия+	–	–	1 (25 %)	3 (75 %)*	4 (100 %)
Прогрессия–	2 (4.9 %)	29 (70.7 %)	8 (19.5 %)	2 (4.9 %)	41 (100 %)

Примечание: * — достоверное отличие между подгруппами с прогрессией и отсутствием прогрессии заболевания при $p < 0,05$; ° — достоверное отличие между подгруппами основной группы и группы сравнения с учетом прогрессии заболевания при $p < 0,05$.

Таблица 3

Характеристики типа окрашивания клеток опухоли у больных основной группы и группы сравнения при иммуногистохимическом исследовании экспрессии HIF-1α в ткани опухоли с прогрессии заболевания

	Основная группа, n=96			Группа сравнения, n=45		
	Тип окрашивания					
	цтм	яд-цтм	всего	цтм	яд-цтм	всего
Прогрессия+	2 (5,1 %)	36 (94,9 %)*	39 (100 %)	—	4 (100 %)	4 (100 %)
Прогрессия-	6 (10,5 %)	51 (89,5 %)*°	57 (100 %)	18 (43,9 %)	23 (56,1 %)	41 (100 %)

Примечание: * — достоверное отличие между типом окрашивания при $p < 0,05$; ° — достоверное отличие между подгруппами основной группы и группы сравнения с учетом прогрессии заболевания при $p < 0,05$.

прогрессии — в 1,8 %, средняя выраженность экспрессии при прогрессии болезни — в 53,8 %, а при отсутствии прогрессии — в 82,5 %. Слабая выраженность экспрессии встречалась при прогрессии болезни — в 7,7 %, а при отсутствии прогрессии — в 15,8 % и не различалась по частоте ($p > 0,05$).

В группе сравнения при прогрессии заболевания преобладала по частоте (75 %) сильная выраженность экспрессии HIF-1α (3+++), а при отсут-

ствии прогрессирования чаще всего встречалась слабая выраженность экспрессии (1+) (70,7 %).

У больных основной группы как при прогрессировании (94,9 %), так и при стабильном течении заболевания (84,9 %) транслокация HIF-1 в ядро опухолевых клеток, сопровождающаяся ядерно-цитоплазматическим типом окрашивания при ИГХ исследовании, была высокой по частоте (табл. 3).

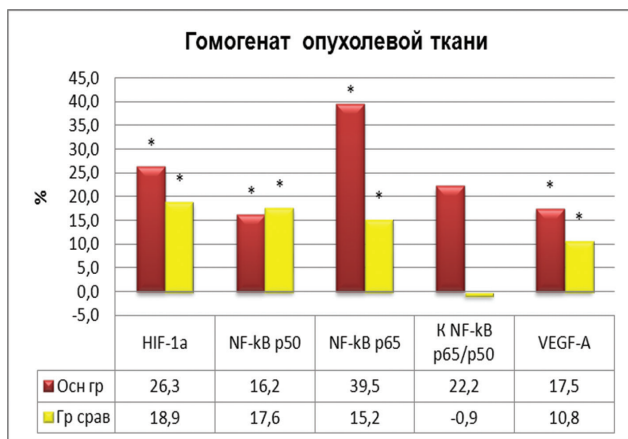


Рис. 1. Процентное изменение транскрипционных и VEGF-A в опухолевой ткани больных основной группы и группы сравнения.

* — достоверное отличие показателя в подгруппе с прогрессированием заболевания при $p < 0,05$.

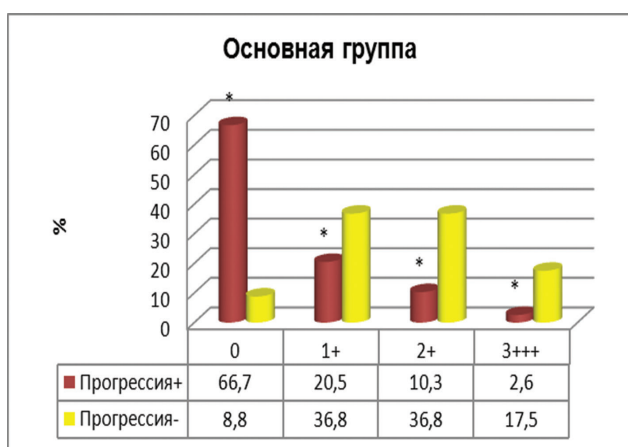


Рис. 2. Частота экспрессии бах в ткани опухоли у больных основной группы с учетом прогрессии заболевания. * — достоверное отличие между подгруппами при $p < 0,05$.



Рис. 3. Частота экспрессии бах в ткани опухоли у больных группы сравнения с учетом прогрессии заболевания. * — достоверное отличие между подгруппами при $p < 0,05$.

Характеристика экспрессии маркера апоптоза бах в опухолевой ткани у больных основной группы и группы сравнения с учетом прогрессии заболевания представлена на рисунках 2 и 3.

Как в основной группе, так и в группе сравнения прослеживалась тенденция снижения экспрессии проапоптотического белка бах у пациентов с прогрессией заболевания. Полученные результаты позволяют предполагать, что активация апоптоза являлась сдерживающим механизмом для прогрессирования рака СОПР.

Таким образом, у больных раком СОПР и гнойными осложнениями комбинированного лечения выявлены закономерности, имеющие достоверно большую выраженность при прогрессировании основного заболевания относительно больных без прогрессирования. Такие факторы, как прогрессирование рака СОПР и гнойные осложнения операции, были детерминированы высоким уровнем транскрипционных факторов, усиленной транслокацией гипоксия-индуцибельного фактора-1а в ядро, высокой экспрессией васкуло-эндотелиального фактора роста и активацией апоптоза в опухолевой ткани.

Следовательно, развитие гнойных осложнений комбинированного химиолучевого и хирургического лечения у больных раком СОПР сопряжено с гипоксия-индуцибельным повышением транскрипционной активности опухолевых клеток, активацией ростовых факторов, способствующих неоангиогенезу, ограничением активности апоптоза в опухолевой ткани, что является патогенетической основой прогрессирования онкологического заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кононенко В. И., Кит О. И., Комарова Е. Ф., Максимов А. Ю. Состояние факторов врожденной иммунной защиты ротовой полости, транскрипционной активности опухолевых клеток у больных раком слизистой оболочки полости рта с гнойно-септическими осложнениями // Стоматология. — 2015. — Т. 94. — № 6. — С. 7.
2. Пачес А. И. Опухоли головы и шеи. Клиническое руководство. // Издательский дом «Практическая медицина». — 2013. — 278 с.
3. Спирина Л.В., Чойнзонов Е.Л., Кондакова И.В., Шишкин Д.А., Чижевская С.Ю. Экспрессия транскрипционных факторов NF-kB и HIF-1 в плоскоклеточных карциномах головы и шеи: связь с прогнозом заболевания // Вопросы онкологии. — 2013. — № 5. — С. 575–579.
4. Huang C., Sun Z., Sun Y., Chen X. et al. Association of increased ligand cyclophilin A and receptor CD147 with hypoxia, angiogenesis, metastasis and prognosis of tongue squamous cell carcinoma. // Histopathology. — 2012. — Vol. 60. — P. 793-803.
5. Kang F.W., Gao Y., Que L., Sun J., Wang Z.L. Hypoxia-inducible factor-1 α overexpression indicates poor clinical outcomes in tongue squamous cell carcinoma. // Exp. ther. med. — 2013. — V. 5. — P. 112–118.
6. Liang X.H., Zheng M., Jiang J.A., Zhu G.Q., Yang J., Tang Y.L. Hypoxia – inducible factor-1 alpha, in association with TWIST2 and SNIP1, is a critical prognostic factor in atients with tongue squamous cell carcinoma // Oral. oncol. — 2011. — V. 47. — P. 92–97.

7. *Margaritescu C., Pirici D., Stonga A. et al.* VEGF expression and angiogenesis in oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical and morphometric study // *Clin. Exp. Med.* – 2010. – Vol. 10. – P. 209.
8. *Mohamed K.M., Le A., Duong H., Wu Y., Zhang Q., Messadi D.V.* Correlation between VEGF and HIF-1 α expression in human oral squamous cell carcinoma // *Exp. mol. pathol.* – 2004. – V.76. – P.143-152
9. *Perez-Sayans M., Subrez-Pecaranda J.M., Pilar G.D., Barros-Angueira F.* Hypoxia-inducible factors in OSCC // *Cancer letters.* – 2011. – Vol. 313, № 1. – P.1–8.
10. *Shang Z.J., Li J.R., Li Z.B.* Up-regulation of serum and tissue vascular endothelial growth factor correlates with angiogenesis and prognosis of oral squamous cell carcinoma // *J. Oral. maxillofac. surg.* – 2007. – Vol.65. – P.17–21.
11. *Siriwardena B.S., Tilakaratne A., Amaratunga E.A., Tilakaratne W.M.* Demographic, aetiological and survival differences of oral squamous cell carcinoma in the young and the old in Sri Lanka // *Oral Oncology.* – 2006. – Vol. 42. – P. 831–6.
12. *Smith BD, Smith GL, Carter D, Sasaki CT, Haffty BG* Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. // *J Clin Oncol.* – 2000. – № 18. – P. 2046–2052.
13. *Uden P., Kenneth N.S., Rocha S.* Regulation of hypoxia-inducible factor-1 α by NF- κ B // *Biochem. J.* – 2008. – Vol. 412(3). – P. 477–484.

Поступила 13.12.2016

И. В. КОРОЛЬ, Л. А. ИВАНОВА

ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НА ТЕЧЕНИЕ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Кафедра эндокринологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, Кубанский государственный медицинский университет, Россия, 350063, Краснодар, ул. Седина, 4, тел. +7(861) 252-17-44; e-mail: endocrinkgmu@mail.ru

В исследование были включены 111 пациентов (40 мужчин и 71 женщина) с дисплазией соединительной ткани в сочетании с инсулинорезистентностью или без нее. Средний возраст составил $30,8 \pm 3,1$ года. В основную группу ($n=69$) вошли больные с дисплазией соединительной ткани в сочетании с инсулинорезистентностью. Контрольную группу ($n=42$) составили пациенты с изолированной дисплазией соединительной ткани. Целью исследования явилось изучение влияния инсулинорезистентности на течение дисплазии соединительной ткани. Всем больным проводили оценку вегетативного статуса путем сбора жалоб согласно опроснику Вейна А.М. и подсчета индекса Кердо. Анализировали частоту нарушений сердечного ритма и проводимости по данным электрокардиографии покоя, изучали частоту и выраженность дисплазии сердца по данным эхокардиографии. Установлено, что инсулинорезистентность существенно утяжеляет синдром вегетативной дисфункции, повышает частоту эпизодов синусовой тахикардии, удлиненного интервала-QT, желудочковой экстрасистолы, увеличивает частоту и выраженность пролапса митрального клапана I степени.

Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, инсулинорезистентность, пролапс митрального клапана.

I. V. KOROL, L. A. IVANOVA

EFFECT OF INSULIN RESISTANCE ON CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

Endocrinology Department Kuban State Medical University, Russia, 4, Sedina str., 350063, Krasnodar, tel. +7(861) 252-17-44; e-mail: endocrinkgmu@mail.ru.

The study included 111 patients (40 men and 71 women) with connective tissue dysplasia in conjunction with insulin resistance or without one. The mean age was $30,8 \pm 3,1$ years. The study group ($n=69$) included patients with connective tissue dysplasia in conjunction with R & D. The control group ($n=42$) included patients with isolated connective tissue dysplasia. The aim of the study was to investigate the effect of insulin resistance on connective tissue dysplasia. All patients were evaluated vegetative status by collecting complaints according to the questionnaire Wayne A.M. and counting Kerdo index. We analyzed the frequency of cardiac arrhythmias and conduction according to the rest electrocardiography, the frequency and severity of dysplasia of heart by echocardiography. It has been established that insulin resistance significantly is a burden to vegetative dysfunction syndrome, increases the frequency of sinus tachycardia episodes, of the interval-QT prolongation, ventricular arrhythmia, increases the frequency and severity of mitral valve prolapse I degree.

Keywords: connective tissue dysplasia, insulin resistance, mitral valve prolapse.