

ЦИТОКИНПРОДУЦИРУЮЩАЯ ФУНКЦИЯ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ И ЕЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕПАРАНАЗЫ-1 ПРИ ЖЕЛУДОЧНОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

**Ванхальский А.В.¹, Архипов С.А.³, Айдагулова С.В.³,
Михайлова Е.С.¹, Вараксин Н.А.², Аутеншлюс А.И.^{1,3}**

¹ ФГБНУ «Институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

² ЗАО «Вектор-Бест», п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

³ ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение взаимосвязи между цитокинпродуцирующим потенциалом иммунокомпетентных клеток крови (ИКК) и экспрессией гепараназы-1 при аденомах и аденокарциномах желудка. Исследовали спонтанный и стимулированный поликлональными активаторами цитокинпродуцирующий потенциал ИКК периферической крови 32 больных с аденомами и 36 больных с аденокарциномами желудка, значения которого выражали с помощью индекса влияния поликлональных активаторов (ИВПА) на продукцию цитокинов. У больных с аденомами желудка показатели ИВПА на продукцию IL-1ra, TNF α , IL-18, IFN γ превышали величины аналогичных показателей больных с аденокарциномами. Пределы варибельности экспрессии гепараназы-1 в эпителии аденом составили интервал величин 0,27-3,00; в строме аденом – 2,27-11,48. Пределы варибельности экспрессии гепараназы-1 в аденокарциномах (по % суммарно окрашенной площади) в значительной степени варьировали от 1,79 до 14,26, что было обусловлено наличием больных с различными вариантами дифференцировки аденокарцином. Установлено, что величина показателя экспрессии гепараназы-1 находилась в прямой корреляционной связи с количеством регионарных лимфоузлов с метастазами. С помощью многомерного анализа была выявлена каноническая корреляция между величинами экспрессии гепараназы-1 в эпителии аденом и ИВПА на продукцию IL-2, IL-6 и IL-8, ИВПА на продукцию IL-18, IL-18BP, IL-8. Также выявлена каноническая корреляция между экспрессией гепараназы-1 в строме аденом и ИВПА на продукцию IL-1ra, TNF α , IL-18. Полученные данные свидетельствуют о существовании молекулярно-клеточных механизмов, опосредованных цитокинами и гепараназой-1, с общим вектором действия, обеспечивающим опухолевую прогрессию.

Ключевые слова: цитокины, поликлональные активаторы, индекс влияния, гепараназа-1, аденома, аденокарцинома

Адрес для переписки:

Архипов Сергей Алексеевич
ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный
медицинский университет»
630091, Россия, г. Новосибирск, Красный пр., 52.
Тел.: 8 (383) 226-35-60.
E-mail: arhipowsergei@yandex.ru

Address for correspondence:

Arkhipov Sergey A.
Novosibirsk State Medical University
630091, Russian Federation, Novosibirsk, Krasny ave, 52.
Phone: 7 (383) 226-35-60.
E-mail: arhipowsergei@yandex.ru

Образец цитирования:

А.В. Ванхальский, С.А. Архипов, С.В. Айдагулова,
Е.С. Михайлова, Н.А. Вараксин, А.И.
Аутеншлюс, «Цитокинпродуцирующая функция
иммунокомпетентных клеток крови и ее взаимосвязь
с экспрессией гепараназы-1 при желудочном
канцерогенезе» // Медицинская иммунология, 2016.
Т. 18, № 3. С. 251-258.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-251-258

© Ванхальский А.В. и соавт., 2016

For citation:

A.V. Vankhalsky, S.A. Arkhipov, S.V. Aidagulova,
E.S. Mikhailova, N.A. Varaksin, A.I. Autenshlyus, "Cytokine-
producing function of immunocompetent blood cells and
its interrelations with heparanase-1 expression in gastric
carcinogenesis", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya*, 2016, Vol. 18, no. 3, pp. 251-258.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-251-258

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-3-251-258>

CYTOKINE-PRODUCING FUNCTION OF IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS AND ITS INTERRELATIONS WITH HEPARANASE-1 EXPRESSION IN GASTRIC CARCINOGENESIS

Vankhalsky A.V.^a, Arkhipov S.A.^c, Aidagulova S.V.^c, Mikhailova E.S.^a, Varaksin N.A.^b, Autenshlyus A.I.^{a,c}

^a Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

^b Closed Joint Stock Company "Vector-Best", Kol'tsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

^c Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. The aim of present study was to investigate relationships between cytokine-producing potential of immunocompetent blood cells (ICC), and expression of heparanase-1 in stomach adenomas and adenocarcinomas. Cytokine-producing potential of ICC, both spontaneous and induced by polyclonal activators, was studied in peripheral blood of thirty-two patients with adenomas and thirty-six patients with gastric adenocarcinoma. Appropriate values were expressed as an influence index of polyclonal activators (IIPA) upon the cytokine production. In subjects with gastric adenomas, the IIPA indexes based on IL-1ra, TNF α , IL-18, and IFN γ production proved to exceed similar parameters for the patients with adenocarcinomas. Expression of heparanase-1 in epithelium of adenomas varied from 0.27 to 3.00. Similar values for adenomatous stroma varied between 2.27 and 11.48. Meanwhile, the variation limits for heparanase-1 expression in adenocarcinomas (as percentage of specifically stained area) were quite considerable (1.79 to 14.26), due to inclusion of adenocarcinomas at variable differentiation stages. Indexes of heparanase-1 expression were shown to be in direct correlation with numbers of regional lymph node metastases. Multivariate analysis revealed a canonical correlation between the levels of heparanase-1 expression in adenomatous epithelium, and IIPA effects upon production of IL-2, IL-6 and IL-8, as well as with effects of IIPA upon production of IL-18, IL-18BP, and IL-8. A canonical correlation was also noted between the heparanase-1 expression in stroma of adenomas, and IIPA upon IL-1ra, TNF α , IL-18 production. The data suggest an involvement of molecular and cellular mechanisms, mediated by cytokines and heparanase-1, thus providing a common vector promoting tumor progression.

Keywords: cytokines, polyclonal activators, index of influence, heparanase-1, adenoma, adenocarcinoma

Введение

Желудочный канцерогенез представляет собой ряд последовательных стадий, включающих хронический атрофический гастрит с неполной кишечной метаплазией, аденому, рак *in situ* и инвазивный рак [11, 23]. Наряду с трансформацией экстрацеллюлярного матрикса, канцерогенез желудка сопровождается хроническим воспалением с ведущей ролью иммунокомпетентных клеток и продуцируемых ими цитокинов [1, 4, 15].

Многие авторы отмечают неоднозначную роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований, условно подразделяя их на «провоспалительные» и «противовоспалительные» [1, 3, 9]. Выявлена прямая корреляционная связь между повышением концентрации некоторых цитокинов и степенью васкуляризации опухоли, а также между уровнем пролиферативной активности опухолевых клеток и, в конечном счете, с глубиной инвазии и метастазированием опухоли [3].

Помимо цитокинов к факторам, способствующим опухолевой прогрессии, в последнее время относят гепараназу-1, которая рассматривается и как маркер, характеризующий злокачествен-

ность опухоли, и как фактор, участвующий в опухолевой прогрессии [2, 19, 21].

При опухолевой трансформации экспрессия гепараназы-1 по сравнению с нормальной тканью повышена [16, 17, 21] и находится в прямой корреляционной связи с показателями инвазивного роста и метастазированием [8, 28].

Основу внеклеточного матрикса составляют организованные в сложную трехмерную сеть волокна белков коллагена и эластина, в состав которого, также наряду с гиалуроновой кислотой, входят гепарансульфат протеогликаны, одной из функций которых является способность депонировать ряд цитокинов и факторов роста [5, 6, 13, 25]. В свою очередь, гепараназа-1 играет важную роль в расщеплении углеводных молекул гепарансульфатов, высвобождая при этом депонированные цитокины и факторы роста, стимулирующие пролиферативную активность клеток опухоли и процессы опухолевого ангиогенеза [5, 10, 27]. Расщепляя гепарансульфаты и разрушая межклеточные контакты, гепараназа-1 инициирует инвазию опухолевых клеток и метастазирование [20, 26, 28]. Вместе с тем не исследовано влияние цитокинов в ассоциации с экспрессией

гепараназы-1 на дисрегенераторные процессы и на опухолевую прогрессию, в частности на желудочный канцерогенез.

Целью настоящей работы явилось изучение взаимосвязи между цитокинпродуцирующим потенциалом иммунокомпетентных клеток крови и экспрессией гепараназы-1 при аденомах и аденокарциномах желудка.

Материалы и методы

Исследовали спонтанный и стимулированный поликлональными активаторами цитокинпродуцирующий потенциал иммунокомпетентных клеток (ИКК) периферической крови 68 пациентов Новосибирского областного онкодиспансера, из них 32 – с аденомами, 36 – с аденокарциномами желудка. Кровь забирали натощак до премедикации и проведения оперативного вмешательства.

Определение цитокинпродуцирующего потенциала ИКК проводили согласно инструкции с использованием поликлонального активатора ИКК стандартизованного набора «ЦИТОКИН-СТИМУЛ-БЕСТ» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), в состав которого входят ФГА в концентрации 4 мкг/мл, конконавалин А в концентрации 4 мкг/мл и липополисахарид в концентрации 2 мкг/мл. Вначале 1 мл крови помещали во флакон, содержащий 4 мл питательной среды, подготовленной в термостате при 37 °С в течение 20 мин, затем из этого флакона забирали 1 мл разбавленной крови и помещали во флакон, содержащий поликлональные активаторы ИКК. Инкубацию флаконов с клетками цельной крови проводили в термостате при 37 °С в течение суток. После окончания инкубации содержимое флаконов переносили в пробирки, клетки осаждали центрифугированием в течение 10 минут при 3000 G. Полученную надосадочную жидкость алиquotировали и использовали для исследования цитокинпродуцирующего потенциала клеток крови.

В супернатантах клеток крови определяли концентрацию IL-1 β , IL-1 α , TNF α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18 и IFN γ с помощью твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест». Определение содержания связывающего IL-18 белка – IL-18BP проводили с помощью набора фирмы R&D Systems (США). Индекс влияния поликлональных активаторов (ИВПА) ИКК на продукцию цитокинов клетками крови высчитывали по формуле: ИВПА = А/Б, где А – уровень стимулированной поликлональными активаторами ИКК продукции цитокина, Б – уровень спонтанной продукции цитокина. ИВПА выражали в условных единицах. Учитывали

только те цитокины в супернатантах клеточек крови, уровни которых превышали нижний предел чувствительности используемых наборов реагентов.

После хирургического вмешательства проводили патогистологическое исследование препаратов аденом и аденокарцином желудка, окрашенных гематоксилином и эозином. Патогистологическую картину аденом желудка характеризовали по следующим признакам, которым была дана балльная оценка: выраженность дисплазии: дисплазия легкой степени – 1 балл, умеренной – 2 балла и тяжелой – 3 балла; наличие митозов в поле зрения: отсутствие митозов – 1 балл, 1-2 митоза – 2 балла, 3-4 митоза – 3 балла, 5 и более митозов – 4 балла; оценка митозов проводилась в десяти полях зрения; наличие патологических митозов в поле зрения: отсутствуют патологические митозы – 1 балл, 1-2 патологических митоза – 2 балла, 3-4 патологических митоза – 3 балла, 5 и более патологических митозов – 4 балла, оценка которых также проводилась в десяти полях зрения.

Патогистологическую картину аденокарцином желудка характеризовали по следующим признакам, которым также была дана балльная оценка: наличие сосудов с опухолевыми эмболами: сосуды с опухолевыми эмболами отсутствуют – 1 балл, единичные сосуды с опухолевыми эмболами – 2 балла, много сосудов с опухолевыми эмболами – 3 балла; клеточные элементы различной степени дифференцировки: высоко- (ВД), умеренно- (УД) и низкодифференцированные (НД) в процентах в опухолевой ткани. Для этого с помощью морфометрической сетки, вставленной в окуляр микроскопа, с 121 рабочими точками-узлами, при увеличении $20 \times 1,5 \times 10 = 300$, методом случайного наложения сетки на опухолевую ткань определяли количество точек, попавших на высоко-, умеренно- и низкодифференцированные опухолевые клетки. В каждом случае изучали 10 полей зрения и для каждой категории клеток подсчитывали среднее арифметическое значение, выраженное в процентах по методу Г.Г. Автандилова.

При оценке принадлежности опухолевых клеток к ВД, УД или НД элементам учитывали степень выраженности клеточного полиморфизма, ядерно-цитоплазматическое соотношение, наличие митозов, в том числе патологических, способность к структурообразованию (формированию желез), сохранение функций клеток (слизееобразование). ВД клетки характеризовались приближенной к нормальным клеткам формой, преобладанием цитоплазмы над ядром, способностью строить железы и продуцировать слизь. НД клетки характеризовались неправильной

формой, выраженным полиморфизмом, преобладанием ядра над цитоплазмой, отсутствием способности к формированию структур, диффузным ростом, наличием большого количества митозов, в том числе и патологических. УД клетки занимали промежуточное положение между ВД и НД клетками по выраженности вышеуказанных признаков – вариант гистологической дифференцировки опухоли: НД аденокарцинома – 3 балла, УД аденокарцинома – 2 балла, ВД аденокарцинома – 1 балл. При определении этого параметра ориентировались на соотношение высоко-, умеренно- и низкодифференцированного компонентов в структурах опухолевой ткани; степень васкуляризации: слабая (сосуды занимают 1/3 поля зрения) – 1 балл, умеренная (сосуды занимают 1/2 поля зрения) – 2 балла, выраженная (сосуды занимают не менее 2/3 поля зрения) – 3 балла, оцениваемая в 10 полях зрения; глубина инвазии опухоли: в пределах слизистой оболочки – 1 балл, подслизистого слоя – 2 балла, начальных мышечных слоев – 3 балла, средних мышечных слоев – 4 балла, глубоких мышечных слоев – 5 баллов, всех слоев, включая серозную оболочку – 6 баллов; количество регионарных лимфоузлов, пораженных метастазами: нет – 1 балл, один – 2 балла, два – 3 балла, три – 4 балла и т.д.

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах опухолевых образцов с помощью непрямого иммунопероксидазного метода с использованием полимерной системы визуализации SuperPicture 3rd Gen IHC Kit (США) с диаминобензидином. Для выявления экспрессии гепараназы-1 использовали первичные антитела – поликлональные IgG-антитела кролика к гепараназе-1 человека («Abcam», США) в разведении 1:200. Площадь интра- и экстрацеллюлярных продуктов иммуногистохимической реакции оценивали с помощью микроскопа Axio Scope.A1 с фотокамерой AxioCam MRc5 и программного обеспечения ZEN blue («C. Zeiss», Германия), для каждого параметра оценивали по 20 изображений при увеличении 500 суммарной площадью 1025 мм².

Статистический анализ полученных данных (кластерный анализ, корреляционный анализ по Спирмену, канонический корреляционный анализ и оценку различий между группами по критерию Манна–Уитни) проводили при использовании пакета статистических программ Statistica v.7. Данные на рисунках и в тексте представлены в виде средних значений и ошибки среднего ($M \pm m$).

Результаты

У больных с аденомами желудка показатели ИВПА на продукцию IL-1ra, TNF α , IL-18, IFN γ

в той или иной степени превышали величины аналогичных показателей больных с аденокарциномами (рис. 1, рис. 2). При этом показатели ИВПА на продукцию IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17 и связывающего IL-18 белка IL-18BP в группах больных с аденомами и аденокарциномами желудка достоверно не отличались. Полученные данные свидетельствовали об избирательной супрессии цитокинпродуцирующей функции иммунокомпетентных клеток периферической крови у больных с аденокарциномами желудка по сравнению с аденомами.

Иммуногистохимическое исследование препаратов аденом желудка (рис. 3, см. 3-ю стр. обложки) проводили по следующим параметрам: экспрессия гепараназы-1 в эпителии (% окрашенной площади), экспрессия гепараназы-1 в строме (% окрашенной площади). Вычисляли в условных единицах индекс экспрессии – соотношение величины экспрессии гепараназы-1 в эпителии к величине экспрессии в строме. Средняя величина экспрессии гепараназы-1 в эпителии была незначительной и составила $1,32 \pm 0,37$, в строме – более выраженной и составила $6,26 \pm 1,05$. Пределы вариабельности экспрессии гепараназы-1 в эпителии составили интервал величин 0,27-3,00; в строме – 2,27-11,48. Корреляционный анализ по Спирмену показал, что величины экспрессии гепараназы-1 в эпителии и в строме находились в прямой корреляционной зависимости ($r = 0,85$; $p < 0,05$).

Наибольшее варьирование было выявлено при оценке индекса экспрессии, который находился в диапазоне 3,49-16,83. Это позволило разбить полученные результаты на подмножества значений с наиболее близкими показателями при помощи многомерного кластерного анализа в режиме Complete Linkage, Euclidean linkage distance $< 1,5$. С учетом разброса всех 3-х исследованных параметров, было выделено 2 подгруппы больных с аденомами желудка, в одной из которых величина индекса экспрессии гепараназы-1 не превышала 4 единиц. При гистологическом и цитоморфологическом анализе препаратов образцов аденом из этой группы было выявлено большее количество митозов по сравнению с другой группой. Полученные данные могут быть использованы при изучении биоптатов аденом для оценки вероятности их малигнизации.

Результаты иммуногистохимического исследования образцов аденокарцином желудка представлены на рисунке 4 и рисунке 5 (см. 3-ю стр. обложки). Критерием оценки явилась экспрессия гепараназы-1 на срезах по % суммарно окрашенной площади. Этот показатель варьировал в диапазоне 1,79-14,26, что обусловлено наличием больных с различными вариантами диф-

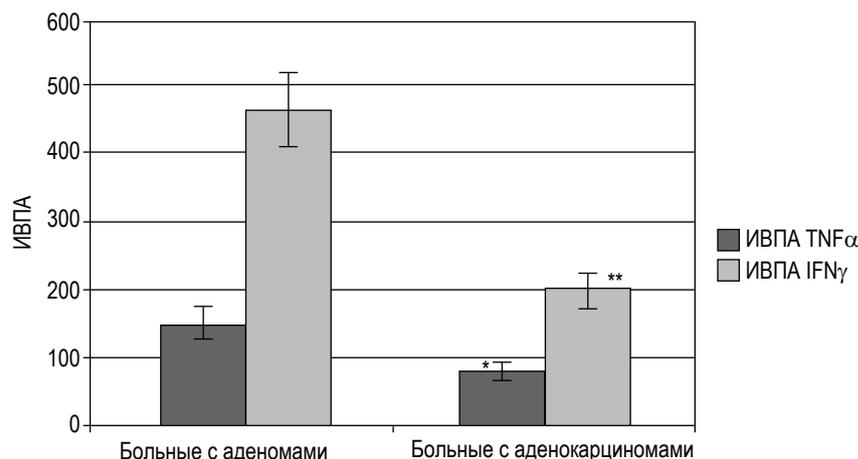


Рисунок 1. Индексы влияния поликлональных активаторов на продукцию TNFα и IFNγ клетками периферической крови больных с аденомами и аденокарциномами

Примечание. Данные на рисунках представлены в виде средних значений и ошибки среднего ($M \pm m$). Величина вероятности различий между группами по показателям ИВПА: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

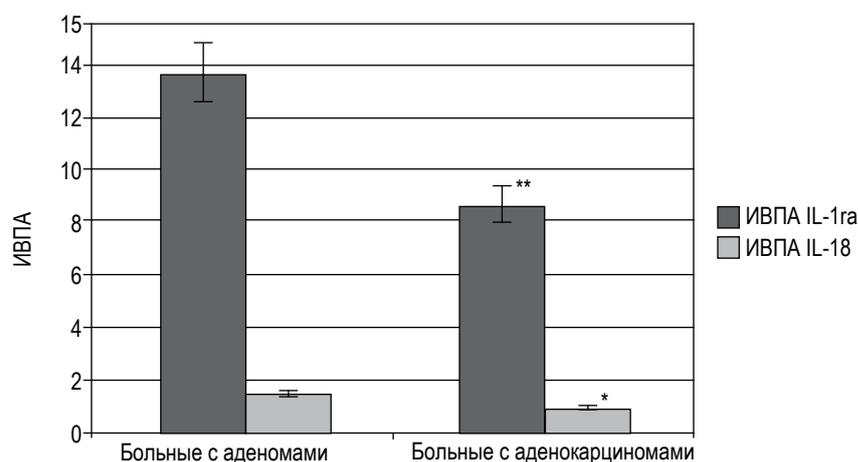


Рисунок 2. Индексы влияния поликлональных активаторов на продукцию IL-1α и IL-18 клетками периферической крови больных с аденомами и аденокарциномами

Примечание. Данные на рисунках представлены в виде средних значений и ошибки среднего ($M \pm m$). Величина вероятности различий между группами по показателям ИВПА: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

ференцировки аденокарцином. Гистологическое исследование препаратов позволило разделить всех больных на 3 группы: с высоко-, умеренно- и низкодифференцированной аденокарциномой желудка. Корреляционный анализ (по Спирмену) распределения показателей экспрессии гепараназы-1 у больных с аденокарциномами желудка при метастазировании показал, что экспрессия гепараназы находилась в прямой корреляционной связи с количеством регионарных лимфоузлов с метастазами ($r = 0,85$; $p < 0,05$).

С помощью многомерного анализа была проведена оценка канонической корреляции между показателями экспрессии гепараназы-1 в аденомах желудка и показателями ИВПА на продукцию цитокинов соответствующих больных. Была выявлена корреляция между величинами

экспрессии гепараназы-1 в эпителии аденом и ИВПА на продукцию ИКК IL-2, IL-6 и IL-8 ($R = 0,98$; $p = 0,028$), ИВПА IL-18, IL-18BP, IL-8 ($R = 0,99$; $p = 0,006$). Что касается стромы аденом, то выявлена корреляция между экспрессией гепараназы-1 в строме аденом и ИВПА IL-1α, TNFα, IL-18 ($R = 0,99$; $p = 0,013$). Однако при оценке корреляционных связей по Спирмену достоверная связь была установлена только между экспрессией гепараназы-1 в эпителии аденом желудка и IL-8 ($r = 0,89$; $p < 0,05$). При оценке корреляционных связей между показателями экспрессии гепараназы-1 в аденокарциномах желудка и ИВПА на продукцию ИКК изученных цитокинов достоверных корреляционных связей выявлено не было.

Обсуждение

При злокачественных новообразованиях изменяется функциональная активность иммунокомпетентных клеток, в том числе их цитокинпродуцирующая способность [1, 9, 15]. Например, при колоректальном раке было отмечено снижение продукции TNF α и IFN γ клетками периферической крови при их стимуляции липополисахаридом [12]. При аденокарциномах толстой кишки выявлена супрессия способности ИКК продуцировать IL-1 β , IL-1 α , IL-2, IL-17, IL-18 и IFN γ под влиянием поликлональных активаторов на фоне статистически не отличающейся от здоровых лиц продукции IL-6, IL-10, MCP-1, а также связывающего IL-18 белка – IL-18BP, что свидетельствовало о селективном характере иммуносупрессии [3].

В нашей работе изучение влияния поликлональных активаторов ИКК на цитокинпродуцирующую функцию клеток периферической крови показало, что больные с аденокарциномами отличались от больных с аденомами статистически значимо более низкой величиной ИВПА на продукцию ИКК TNF α , IL-1 α , IL-18 и IFN γ . Полученные данные также свидетельствуют об избирательной супрессии ряда цитокинов ИКК периферической крови у больных с аденокарциномами желудка по сравнению с аденомами. Экспрессия гепараназы-1 в эпителии и в строме больных с аденомами в значительной степени варьировала по площади окрашенных зон. Полученные данные, очевидно, связаны с индивидуальными особенностями больных с желудочным канцерогенезом, что, скорее всего, обусловлено целым рядом факторов, в том числе уровнем цитокинов, продуцируемых ИКК, которые могут регулировать экспрессию гепараназы-1 в различных опухолевых компартментах.

У больных с аденокарциномами экспрессия гепараназы-1 варьировала даже в больших пределах, чем у больных с аденомами, что, как указывалось выше, обусловлено наличием различных вариантов дифференцировки аденокарцином. При этом показатели экспрессии гепараназы-1 находились в прямой корреляционной связи с количеством регионарных лимфоузлов с метастазами. Полученные нами данные согласуются с результатами других исследователей о роли гепараназы-1 в инициации и пролонгировании инвазивного роста и метастазирования опухолей [8, 26, 27] и позволяют рассматривать показатель уровня экспрессии гепараназы-1 в образцах аденокарцином желудка в качестве достаточно информативного критерия прогнозирования тяжести опухолевой прогрессии при желудочном канцерогенезе.

Имеются единичные работы, посвященные изучению регулирующего влияния различных цитокинов на экспрессию и продукцию гепараназы клетками различного гистогенеза. Показано, что TNF α или IL-1 β могут увеличивать уровни экспрессии гепараназы в эндотелиальных клетках и их секрецию [7]. Отмечено усиление экспрессии гепараназы в синовиальных клетках при повышенной концентрации IL-8 у больных ревматоидным артритом [18]. Вполне вероятно, что аналогичные механизмы регуляции указанными цитокинами экспрессии гепараназы-1 существуют и в отношении опухолевых клеток при раке желудка.

Оценка канонической корреляции между показателями экспрессии гепараназы в аденомах желудка и ИВПА на продукцию цитокинов ИКК больных с аденомами позволила выявить сопряженность между рядом цитокинов и экспрессией гепараназы-1. Наличие корреляции между экспрессией гепараназы-1 в эпителии аденом и ИВПА на продукцию IL-2, IL-6 и IL-8, а также ИВПА на продукцию IL-18, IL-18BP, IL-8 свидетельствует о сложности процесса регуляции экспрессии гепараназы-1 в аденомах и существовании вероятных аддитивных эффектов исследуемых цитокинов в данном процессе. Выявленная каноническая корреляция между экспрессией гепараназы-1 в строме аденом и ИВПА на продукцию ИКК IL-1 α , TNF α , IL-18, указывает как на вероятное различие в механизмах регуляции гепараназы-1 в эпителиальных структурах аденом и ее стромальных элементах, опосредованных цитокинами TNF α , IL-2, IL-6 и IL-8, так и на некоторую общность этих механизмов, опосредованных IL-18. При оценке корреляционных связей по Спирмену достоверная связь была установлена только между экспрессией гепараназы-1 в эпителии аденом желудка и IL-8, что указывает на доминирующую роль IL-8 в регуляции экспрессии гепараназы-1 у больных с аденомами.

Чтобы понять особенности аддитивных эффектов всех вышеуказанных цитокинов в регуляции экспрессии гепараназы-1 и желудочном канцерогенезе в целом, следует учитывать особенности про- или противоопухолевой активности каждого цитокина в отдельности. Например, TNF α способен оказывать проопухолевое действие, вызывая апоптоз иммунокомпетентных клеток, что препятствует элиминации опухоли [14]. IL-8 может усиливать пролиферативную активность опухолевых клеток, предотвращать их апоптоз, стимулировать ангиогенез, способствовать инвазии и миграции опухолевых клеток, а также повышать продукцию макрофагами других ростовых факторов [22].

Ранее было показано, что при относительно низких значениях ИВПА IL-6 отмечаются более выраженные патоморфологические признаки, характеризующие степень злокачественности рака желудка, т.е. при более низких значениях ИВПА IL-6 опухоль была более злокачественной [3]. Как уже отмечалось, у пациентов с аденокарциномой нами выявлен более низкий ИВПА на продукцию ИКК IL-18 по сравнению с аденомами, что может быть объяснено заверше-

ностью формирования злокачественного новообразования. Подобный эффект (более низкий уровень экспрессии IL-18 в аденокарциномах, чем в аденомах) ранее был отмечен при аденоме и раке ободочной кишки [24]. Полученные данные согласуются с высказанным выше предположением о существовании молекулярно-клеточных механизмов, опосредованных гепараназой-1 и цитокинами, с общим вектором действия, обеспечивающим опухолевую прогрессию.

Список литературы / References

1. Бабышкина Н.Н., Стахеева М.Н., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В., Гарбуков Е.Ю. Иммунологические параметры и уровень продукции цитокинов у больных с пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы // Цитокины и воспаление, 2006. Т. 5, № 1. С. 37-43. [Babyshkina N.N., Stakheyeva M.N., Slonimskaya E.M., Tcherdyntseva N.V., Garbukov E.Yu. Immunological parameters and cytokine production level in patients with proliferative diseases and breast cancer. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2006, Vol. 5, no. 1, pp. 37-43. (In Russ.)]
2. Кунин И.С., Бобоев М.М., Куценко О.С. Мостович Л.А., Айдагулова С.В., Григорьева Э.В. Молекулярные маркеры метастазирования аденокарциномы предстательной железы // Онкоурология, 2012. № 4. С. 44-48. [Kunin I.S., Boboev M.M., Kutsenko O.S., Mostovich L.A., Aidagulova S.V., Grigorieva E.V. Molecular markers for metastatic prostate adeno-carcinoma. *Onkourologiya = Oncourology*, 2012, Vol. 8, no. 4, pp. 48-52. (In Russ.)]
3. Соснина А.В., Аутеншлюс А.И., Великая Н.В., Вараксин Н.А., Рукавишников М.Ю., Михайлова Е.С., Морозов Д.В., Фурсов С.А., Агарина Н.В. Цитокинпродуцирующая функция клеток периферической крови у больных колоректальным раком // Медицинская иммунология, 2011. Т. 13, № 2-3. С. 197-204. [Sosnina A.V., Autenshlyus A.I., Velikaya N.V., Varaksin N.A., Rukhavishnikov M.Yu., Mikhailova E.S., Morozov D.V., Fursov S.A., Agarina N.V. Cytokine-producing function of peripheral blood cells in colorectal cancer Patients. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2011, Vol. 13, no. 2-3, pp. 197-204. (In Russ.)] <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2011-2-3-197-204>
4. Соснина А.В., Великая Н.В., Вараксин Н.А., Гришаев Н.П., Аутеншлюс А.И. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск: ЗАО ИПП ОФСЕТ, 2014. 128 с. [Sosnina A.V., Velikaya N.V., Varaksin N. A., Grishaev N.P., Autenshlyus A. I. The role of cytokines in the pathogenesis of malignant neoplasms]. Novosibirsk: ZAO IPP OFFSET, 2014. 128 p.
5. Bernfield M., Gotte M., Park P., Reizes O., Fitzgerald M., Lincecum J., Zako M. Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Annu. Rev. Biochem.*, 1999, Vol. 68, pp. 729-777.
6. Capila I., Linhardt R. Heparin-protein interactions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2002, Vol. 41, pp. 391-412.
7. Chen G., Wang D., Vikramadithyan R., Yagyu H., Saxena U., Pillarisetti S., Goldberg I. Inflammatory cytokines and fatty acids regulate endothelial cell heparanase expression. *Biochemistry*, 2004, Vol. 43, no. 17, pp. 4971-4977.
8. Cheng C., Lu X., Wang G. Zheng L., Shu X., Zhu S., Liu K., Wu K., Tong Q. Expression of SATB1 and heparanase in gastric cancer and its relationship to clinicopathologic features. *APMIS*, 2010, Vol. 118, no. 11, pp. 855-863.
9. Conti-Freitas L., Foss-Freitas M., Mamede R., Foss N. Effect of BCG stimulus on proinflammatory cytokine production in laryngeal cancer. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2009, Vol. 58, no. 1, pp. 25-29.
10. Esko J., Selleck S. Order out of chaos: assembly of ligand binding sites in heparan sulfate. *Annu. Rev. Biochem.*, 2002, Vol. 71, pp. 435-471.
11. Gomceli I., Demiriz B., Tez M. Gastric carcinogenesis. *World J. Gastroenterol.*, 2012, Vol. 18, no. 37, pp. 5164-5170.
12. Heriot A., Marriott J., Cookson S., Kumar D., Dalgleish A. Reduction in cytokine production in colorectal cancer patients: association with stage and reversal by resection. *Br. J. Cancer*, 2000, Vol. 82, no. 5, pp. 1009-1012.
13. Lindahl U., Li J. Interactions between heparan sulfate and proteins-design and functional implications. *Intl. Rev. Cell Mol. Bio.*, 2009, Vol. 276, pp. 105-159.
14. Lu B., Finn O. T-cell death and cancer immune tolerance. *Cell Death Differ.*, 2008, Vol. 15, no. 1, pp. 70-79.
15. Neuner A., Schindel M., Wildenberg U., Muley T., Lahm H., Fische J. Cytokine secretion: clinical relevance of immunosuppression in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2001, Vol. 34, Suppl. 2, pp. 79-82.
16. Nobuhisa T., Naomoto Y., Ohkawa T., Takaoka M., Ono R., Murata T., Gunduz M., Shirakawa Y., Yamatsuji T., Haisa M., Matsuoka J., Tsujigiwa H., Nagatsuka H., Nakajima M., Tanaka N. Heparanase expression correlates with malignant potential in human colon cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2005, Vol. 131, pp. 229-237.
17. Ohkawa T., Naomoto Y., Takaoka M., Nobuhisa T., Noma K., Motoki T., Murata T., Uetsuka H., Kobayashi M., Shirakawa Y., Yamatsuji T., Matsubara N., Matsuoka J., Haisa M., Gunduz M., Tsujigiwa H., Nagatsuka H., Hosokawa M., Nakajima M., Tanaka N. Localization of heparanase in esophageal cancer cells: respective roles in prognosis and differentiation. *Lab. Invest.*, 2004, Vol. 84, pp. 1289-1304.

18. Rachel L., Freeman C., Yu D., Hindmarsh E., Tymms K., Parish C. Smith P. Dramatic regulation of heparanase activity and angiogenesis gene expression in synovium from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 2008, Vol. 58, no. 6, pp. 1590-1600.
19. Suhovskih A., Tsidulko A., Kutsenko O., Kovner A., Aidagulova S., Ernberg I., Grigorieva E. Transcriptional activity of heparan sulfate biosynthetic machinery is specifically impaired in benign prostate hyperplasia and prostate cancer. *Front. Oncol.*, 2014, Vol. 4, no. 79, pp. 1-10.
20. Takaoka M., Naomoto Y., Ohkawa T., Uetsuka H., Shirakawa Y., Uno F., Fujiwara T., Gunduz M., Nagatsuka H., Nakajima M., Tanaka N., Haisa M. Heparanase expression correlates with invasion and poor prognosis in gastric cancers. *Lab. Invest.*, 2003, Vol. 83, pp. 613-622.
21. Tang W., Nakamura Y., Tsujimoto M., Sato M., Wang X., Kurozumi K., Nakahara M., Nakao K., Nakamura M., Mori I., Kakudo K. Heparanase: a key enzyme in invasion and metastasis of gastric carcinoma. *Modern Pathol.*, 2002, Vol. 15, no. 6, pp. 593-598.
22. Waugh D.J., Wilson C. The interleukin-8 pathway in cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2008, Vol. 14, no. 21, pp. 6735-6741.
23. Weinberg R.A. Mechanisms of malignant progression. *Carcinogenesis*, 2008, Vol. 29, pp. 1092-1095.
24. Wen Z., Ouyang Q., Chen D., Su X. Interleukin 18 expression in colon cancer and adenoma. *Journal of Sichuan Univ.*, 2003, Vol. 34, pp. 262-264.
25. Whitelock J., Iozzo R.V. Heparan sulfate: a complex polymer charged with biological activity. *Chem. Rev.*, 2005, Vol. 105, pp. 2745-2764.
26. Xie Z., Liu Y., Jia L., He Y. Heparanase expression, degradation of basement membrane and low degree of infiltration by immunocytes correlate with invasion and progression of human gastric cancer. *World J. Gastroenterol.*, 2008, Vol. 14, no. 24, pp. 3812-3818.
27. Yingying X., Yong Z., Zhenning W., Xue Z., Li J., Yang L., Huimian X. Role of heparanase-1 in gastric carcinoma invasion. *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 2009, Vol. 10, no. 1, pp. 151-154.
28. Zheng L., Pu J., Jiang G., Weng M., He J., Mei H., Hou X., Tong Q. Abnormal expression of early growth response 1 in gastric cancer: association with tumor invasion, metastasis and heparanase transcription. *Pathol. Int.*, 2010, Vol. 60, pp. 268-277.

Авторы:

Ванхальский А.В. — к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики ФГБНУ «Институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

Архипов С.А. — д.б.н., заведующий лабораторией иммуногистохимии, биохимии и фармакологии центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

Айдагулова С.В. — д.б.н., заведующий лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

Михайлова Е.С. — старший научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики ФГБНУ «Институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

Вараксин Н.А. — заведующий лабораторией цитокинов ЗАО «Вектор-Бест», п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Аутеншлюс А.И. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики ФГБНУ «Институт молекулярной биологии и биофизики»; руководитель центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Vankhalsky A.V., PhD (Medicine), Junior Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Arkhipov S.A., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Immunohistochemistry Biochemistry and Pharmacology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Aidagulova S.V., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Cell Biology and Fundamentals of Reproduction, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Mikhailova E.S., Senior Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Varaksin N.A., Head, Cytokine Laboratory, Joint Stock Company "Vector-Best", Kol'tsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Autenshlyus A.I., PhD, MD (Biology), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation; Head, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 28.12.2015

Отправлена на доработку 18.01.2016

Принята к печати 20.01.2016

Received 28.12.2015

Revision received 18.01.2016

Accepted 20.01.2016