

ВЗАИМОСВЯЗЬ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ РОСТА И ГОРМОНОВ В КРОВИ КРЫС В ДИНАМИКЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Франциянц Е.М.¹, Каплиева И.В.¹, Трепитаки Л.К.¹, Черярина Н.Д.¹

¹ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия (344037, Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, 63), e-mail: super.gormon@yandex.ru

Изучение механизмов опухолевой трансформации клеток - одна из важнейших задач онкологии. Понимание процессов, лежащих в основе превращения нормальной клетки в опухолевую, является основой поиска новых методов противораковой терапии. В данной работе на разработанной нами модели метастатического поражения печени у крыс, исключая токсическое влияние канцерогенов, острого оперативного влияния и наркоза, была проанализирована корреляционная взаимосвязь некоторых гормонов с факторами роста. Установлено, что у IGF-I, IGF-II, TGF- β_1 общее количество сильных корреляций с гормонами в сыворотке крови при метастазировании в печень становится в 2 раза меньше, чем при росте первичной опухоли. На первый план выходит IGF-I, который имеет 7 сильных связей, из них положительные - с АКТГ, ДГЭА, эстрадиолом, пролактином, ТТГ и свободным тироксином; отрицательные - с эстроном. Два других фактора имеют по 2 сильные связи: IGF-II - положительные с кортизолом и с ФСГ, TGF- β_1 - отрицательные с кортизолом и тестостероном. Причем, у TGF- β_1 корреляции в основном - отрицательные средней силы, у IGF-II - слабые. Таким образом, метастазирование в печень сопровождается развитием более сложной разбалансированной системы гормональных влияний на рост опухоли, что свидетельствует о модификации гормональной регуляции процессов метастазирования, сочетающейся с экспрессией IGF-I и TGF- β_1 в печени.

Ключевые слова: факторы роста, гормоны, сыворотка, метастазы в печень, крысы.

CORRELATION BETWEEN SOME GROWTH FACTORS AND HORMONES IN BLOOD OF RATS DURING LIVER METASTASIS

Frantsiyants E.M.¹, Kaplieva I.V.¹, Trepitaki L.K.¹, Cheryarina N.D.¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia (344037, Rostov-on-Don, 14 Line, 63), e-mail: super.gormon@yandex.ru

Studying the mechanisms of neoplastic transformation of cells is one of the most important oncology problems. Understanding the processes underlying transformation of a normal cell into a tumor one is the basis for search for new methods of cancer therapy. The article analyzes correlation between some hormones and growth factors on the developed model of liver metastasis in rats eliminating toxic effects of carcinogens, acute operational impact and anesthesia. IGF-I, IGF-II and TGF- β_1 were found to have twice less strong correlations with hormones in blood serum in liver metastasis than during primary tumor growth. IGF-I came to the fore with its 7 strong correlations, including positive ones - with ACTH, DHEA, estradiol, prolactin, TSH and free thyroxine and negative ones - with estrone. Two other factors had 2 strong correlations each: IGF-II - positive ones with cortisol and FSH, TGF- β_1 - negative ones with cortisol and testosterone. Moreover, TGF- β_1 correlations were mainly moderate negative ones and IGF-II correlations were weak. Thus, liver metastasis is accompanied by the development of a more complex system of unbalanced hormonal influences on tumor growth which indicates modification of hormonal regulation of metastasis processes combined with IGF-I and TGF- β_1 expression in the liver.

Keywords: growth factors, hormones, serum, liver metastases, rats.

Поскольку понимание механизмов озлокачествления нормальной клетки является основой поиска новых методов терапии онкопатологии, процессы злокачественного роста и метастазирования изучали много и разносторонне. Большое число работ было посвящено исследованию гормонального фона и факторов роста, как в самой опухоли, тканях её окружающих, так и в сыворотке крови онкобольных [3, 5, 6]. Гормоны – важные регуляторы

различных физиологических и патологических процессов, некоторые из них участвуют в возникновении и прогрессировании рака, другие тормозят его развитие. Факторы роста, в частности, инсулиноподобные факторы 1 и 2 типа (IGF-I и IGF-II) и трансформирующий фактор β (TGF- β), также принимают участие в процессах канцерогенеза и метастазирования рака разной локализации: колоректального рака, рака яичников, молочной железы и других органов [1, 5, 7]. В настоящее время очевидно, что митогенный эффект инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-I), обеспечивается не только за счет вовлечения тирозинкиназного пути, но и за счет активации митогенактивируемой протеинкиназы, а также системы рецепторов, сопряженных с G-белками. В цепи перечисленных реакций участвует набор малых (типа р 21-белкового продукта гена Ras) и больших (с MM-80–90КД) G-белков. Последние включаются преимущественно в передачу сигнала, индуцированного рядом пептидных гормонов. В связи с этим, в механизмах индукции аденом гипофиза и некоторых тиреоидных карцином рассматриваются мутации генов, кодирующих субъединицы G-белков, а также нарушения гормональных регуляций на всех уровнях передачи сигнала от пептидных гормонов и ростовых факторов [2]. Таким образом, при изучении патогенеза злокачественного роста важно знать не только динамику тех или иных гормонов и ростовых факторов, но и взаимосвязь составляющих разных систем организма и опухоли между собой. Для изучения взаимовлияний гормонов с факторами роста можно применить ряд математических методов, одним из которых является корреляционный анализ.

Целью настоящего исследования явилось изучение корреляционных связей гормонов с некоторыми факторами роста в сыворотке крови крыс при воспроизведении метастатического процесса в печени.

Материалы и методы исследования

Эксперименты поставлены на 14 белых беспородных крысах-самцах весом 220–300 грамм. Модель экспериментального метастазирования в печень воспроизводили по следующей схеме. Предварительно за 3-4 недели до перевивки саркомы 45 (С-45), под кожу живота выводили селезенку. Затем, путём интралиенальной инъекции, помещали опухолевые клетки в орган (0,1 мл взвеси С-45 в физиологическом растворе в разведении $1 \cdot 10^6$), где впоследствии развивался первичный опухолевый узел, метастазирующий в печень [4].

1 группу (МТС 1) составили крысы через 1 неделю после введения взвеси саркомы 45 (С-45) в селезенку (7 шт). **2 группу (МТС 5)** составили крысы через 5 недель после введения взвеси С-45 в селезенку (7 шт).

Крыс умерщвляли путем декапитации на гильотине. В сыворотке крови определяли адренокортикотропный гормон (АКТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ),

лютеинизирующий гормон (ЛГ), тиреотропный гормон (ТТГ), пролактин, прогестерон, свободные формы трийодтиронина (Т₃св) и тироксина (Т₄св), антитела к ТРО, общий и свободный тестостерон, эстрон, эстрадиол, кортизол, дегидроэпиандростерон (ДГЭА) у крыс основных групп. Прогестерон, тестостероны, фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), пролактин определяли с помощью наборов для иммуноферментного анализа фирмы «Нема», уровень адренкортикотропного гормона (АКТГ) с помощью иммуноферментного анализа фирмы «BIOMERICA». IGF-I («IDS Ltd»), IGF-II («MEDIAGNOST»), TGF-β₁ с помощью иммуноферментного анализа фирмы «BenderMedSystems».

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи параметрического критерия Стьюдента и коэффициента парной линейной корреляции на персональном компьютере посредством программы STATISTICA 10.0, а также непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Достоверными считали различия между двумя выборками при $p < 0.05$.

Результаты исследования и их обсуждение

С помощью метода корреляционного анализа мы попытались выявить взаимосвязи между некоторыми ростовыми факторами (IGF-I, IGF-II, TGF-β₁) и показателями гормонального гомеостаза в начале (через 1 неделю) канцерогенеза и в конце периода наблюдения (через 5 недель канцерогенеза) и оценить их количество, силу и направленность.

Через 1 неделю от момента введения опухолевых клеток саркомы 45 в селезенку в сыворотке крови крыс ростовые факторы IGF-I и TGF-β₁ имели по 6 сильных связей с гормонами, IGF-II – только 4 (Табл. 1). Кроме того, все факторы были сильно связаны и с антителами к ТРО. Через 5 недель опухолевого роста количество сильных связей увеличивалось (на одну) только у IGF-I, а у IGF-II и TGF-β₁ - резко уменьшалось до 2. Причем, если на начальном этапе опухолевого развития у всех трех ростовых факторов сила и направленность корреляционных связей была примерно одинаковой, то через 5 недель канцерогенеза она значительно менялась, в некоторых случаях – кардинально (Табл. 1).

Так, через 1 неделю сильные положительные корреляции отмечались у всех трех исследуемых факторов роста с АКТГ, Т₄св, антителами к ТРО, ЛГ и пролактином (последние 2 гормона с IGF-II имели значения корреляции очень близкие к сильным); и сильные отрицательные связи с прогестероном и ТТГ. В этот период у всех ростовых факторов отмечалось достаточно много корреляционных связей средней силы и умеренных, в основном положительных: с кортизолом, свободными тестостероном и Т₃св; и отрицательная - с ДГЭА. Слабые и очень слабые связи были с эстрадиолом, эстроном и общим тестостероном. (Табл. 1).

Таблица 1

Корреляции гормонов и некоторых факторов роста в сыворотке крови у крыс через 1 и 5 недель воссоздания метастатического процесса в печени

факторы роста гормоны	1 неделя канцерогенеза			5 неделя канцерогенеза		
	IGF-I	IGF-II	TGF- β_1	IGF-I	IGF-II	TGF- β_1
АКТГ	1.00	0.99	1.00	0.91	-0.63	0.21
кортизол	0.63	0.45	0.61	-0.38	0.88	-0.79
ДГЭА	-0.41	-0.59	-0.43	0.80	0.08	-0.50
ЛГ	0.82	0.68	0.81	-0.51	0.69	-0.53
ФСГ	-0.37	-0.17	-0.35	-0.70	0.90	-0.56
эстрадиол	0.01	0.22	0.03	0.96	-0.33	-0.20
эстрон	-0.02	0.19	0	-0.90	-0.04	0.54
пролактин	0.78	0.62	0.76	0.95	-0.46	0
прогестерон	-0.95	-0.99	-0.95	-0.62	0.09	0.32
тестостерон общий	0	0.21	0.02	0.43	0.65	-0.92
тестостерон свободный	0.49	0.66	0.51	-0.38	-0.19	0.34
ТТГ	-0.88	-0.76	-0.87	0.91	-0.27	-0.17
Т ₃ св	0.59	0.40	0.57	0.59	-0.20	-0.19
Т ₄ св	0.84	0.71	0.83	0.76	-0.15	-0.30
антитела к ТРО	0.94	0.85	0.93	-0.75	-0.01	0.47

Через 5 недель от начала воспроизведения метастазирования в печень корреляции всех трех ростовых факторов отличались друг от друга. В этот период направленность и силу некоторых связей (относительно 1 недели метастазирования) сохраняли только IGF-I и IGF-II. Корреляции в обоих случаях были положительными, но у первого фактора – сильные с АКТГ, пролактином и Т₄св, у второго – средние с ЛГ (Табл. 1). Через 5 недель опухолевой прогрессии у IGF-I возникали сильные положительные связи с ДГЭА, эстрадиолом и ТТГ, усиливалась корреляция с пролактином и несколько ослабевала с Т₄св. Отрицательные сильные связи, в отличие от предыдущего срока наблюдения, были с ФСГ, эстроном и антителами к ТРО. Корреляционные связи у IGF-I средней силы положительной направленности регистрировались с Т₃св, отрицательные – с ЛГ и прогестероном (Табл. 1). Положительные корреляции умеренной силы были с кортизолом и общим тестостероном; отрицательные той же силы – со свободным тестостероном. Слабых и очень слабых корреляционных связей у IGF-I с гормонами через 5 недель канцерогенеза не было. В этот период у IGF-II возникали сильные положительные связи с кортизолом и ФСГ, а у TGF- β_1 – сильные отрицательные связи с кортизолом и общим тестостероном (Табл. 1). Причем, у IGF-II было всего 2 связи средней силы: отрицательная – с АКТГ и положительная – с общим тестостероном. А также регистрировалась 1 отрицательная умеренная связь с пролактином. Остальные связи были слабые и очень слабые. У TGF- β_1 корреляций средней силы и умеренных было 8, из них

отрицательные – с ДГЭА, ЛГ, ФСГ и Т₄св, положительные – с эстроном, прогестероном, свободным тестостероном и антителами к ТРО (Табл. 2).

При анализе корреляционных связей обращал на себя внимание тот факт, что в начале канцерогенеза количество сильных корреляций у каждого из факторов роста с гормонами было примерно одинаковым и почти в 2 раза большим, чем через 5 недель. Эти связи были сильными и однонаправленными. Следовательно, в начальный период метастазирования в печень все 3 ростовых фактора были подчинены одним и тем же гормональным влияниям и изменение уровня одного из гормонов приводило к равнозначным сдвигам IGF-I, IGF-II и TGF- β ₁. Несмотря на то, что через 1 неделю канцерогенеза содержание некоторых гормонов не изменялось (АКТГ и прогестерон), сильные корреляционные связи ростовых факторов с ними указывали на их важную роль в опухолевой прогрессии. Менее сильная положительная корреляция отмечалась с антителами к ТРО, содержание которых также достоверно не изменялось в этот период наблюдения. Сильные положительные корреляции регистрировались с ЛГ, пролактином и Т₄св, уровень которых в сыворотке крови был увеличен, и сильные отрицательные связи – с ТТГ, уровень которого в крови был снижен. Таким образом, через 1 неделю рост опухоли находился в прямой зависимости от (в порядке убывания): АКТГ, антител к ТРО, Т₄св, ЛГ, пролактина, и в обратной зависимости от прогестерона и ТТГ. Максимальная сила и количество корреляционных взаимодействий, выявленных в этой группе, отражали высокую степень функционального напряжения гормональной системы на фоне опухолевой прогрессии.

Через 5 недель канцерогенеза на фоне значительного роста первичного опухолевого узла в селезенке и начального роста метастазов в печени шла разбалансировка факторов роста по направленности и силе корреляционных связей с гормонами. На первый план выходил IGF-I, который имел максимальное количество сильных связей. Положительные сильные корреляции отмечались у него с АКТГ, ДГЭА, эстрадиолом, пролактином, ТТГ и Т₄св, отрицательные – с эстроном и антителами к ТРО. Два других фактора оставались далеко позади, имея по 2 сильные связи против 8. Причем, у TGF- β ₁ корреляции в основном были средней силы и умеренными, большая часть из которых, в том числе и сильных (с кортизолом и общим тестостероном), обладала отрицательной направленностью. У IGF-II корреляции были большей частью - слабые и очень слабые с приблизительно одинаковым соотношением по знаку +/-, причем 2 сильные связи (с кортизолом и ФСГ), в противоположность TGF- β ₁, были положительными. Следовательно, через 5 недель от момента перевивки С-45 большое количество разнообразных взаимосвязей между факторами роста и гормонами делало систему гормонального влияния на рост опухоли более сложной, чем в начале опухолевого развития. Причем, организм мог контролировать рост опухоли

преимущественно путем влияния на IGF-I. Два других фактора роста практически не имели (или имели разнонаправленную) гормональную зависимость.

Заключение

Таким образом, патогенетическими моментами метастазирования злокачественной опухоли в печень являлись: высокая степень функционального напряжения гормональной системы на фоне опухолевой прогрессии – через 1 неделю канцерогенеза и развитие более сложной разбалансированной системы гормональных влияний на рост опухоли через 5 недель от момента перевивки С-45, что свидетельствовало о модификации гормональной регуляции процессов метастазирования.

Список литературы

1. Бабышкина Н.Н., Малиновская Е.А., Стахеева М.Н. и соавт. Роль трансформирующего ростового фактора TGF- β 1 в патогенезе рака молочной железы // Сиб. онкол. журн. – 2010. - № 6. – С. 63-70.
2. Глыбочко П.В., Чеснокова Н.П., Плохов В.Н. и соавт. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии. – М.: Академия Естествознания, 2012.
3. Кит О.И., Козлова М.Б., Франциянц Е.М., Никипелова Е.А. и соавт. Колоректальный рак и половые гормоны: содержание в крови больных с одиночным, рецидивным и первично-множественным процессом // Фундам. исслед. – 2014. - № 7 (часть 3). – С. 517-521.
4. Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К. и соавт. Способ получения метастазов печени в эксперименте // Бюл. эксп. биол. и мед. - 2014. - № 6. - С. 745-747.
5. Колесник А.П., Паламарчук И.Д., Сидоренко А.М. Молекулярные маркеры прогрессирования колоректального рака // Онкол. – 2006. – Т. 8. - № 1. – С. 13-17.
6. Прохорова В.И., Машевский А.А., Лаппо С.В., Цырусъ Т.П., Абрамович М.С. Гормонально-метаболические сдвиги у онкологических больных при общей гипертермии и пути их коррекции // Инженерно-физический журнал. – 1996. - № 3. – С. 34-39.
7. Фролова А.Е., Виллерт А.Б. Система инсулиноподобных факторов роста при метастазировании рака яичников // Сиб. онкол. журн. – 2014. – Прилож. 1. – С. 124-125.

Рецензенты:

Геворкян Ю.А. д.м.н., профессор, зав. отделением абдоминальной онкологии № 2 ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, заслуженный врач РФ, г. Ростов-на-Дону;

Шихлярова А.И, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории изыскания новых противо-опухолевых средств ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов -на-Дону.