

ДЕРМАТООНКОЛОГИЯ

© АКСЕНЕНКО М.Б., РУКША Т.Г., 2017

УДК 616.5-006.81.04-092:612.13]-07

Аксененко М.Б., Рукша Т.Г.

**ОСОБЕННОСТИ АНГИОГЕНЕЗА
У БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ,
ИМЕЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЙ BRAF-СТАТУС**ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, 660022, г. Красноярск, Россия

Неоангиогенез имеет большое значение в развитии и прогрессии опухолевого процесса. Образование новых сосудов опухоли необходимо для ее дальнейшего роста и последующего метастазирования. Выраженность ангиогенеза зависит от баланса проангиогенных и антиангиогенных факторов. Одним из таких ангиогенных факторов является матриксная металлопротеиназа-9 (ММП-9), фермент семейства эндопептидаз, принимающий участие в деградации межклеточного матрикса и remodelировании сосудов. При этом известно, что мутация BRAF V600E может оказывать влияние на экспрессию проангиогенных факторов в опухолевой ткани. Цель исследования – изучение плотности микроциркуляторного русла в опухоли и перитуморальной зоне у пациентов с меланомой кожи, имеющих различный BRAF-статус, при помощи подсчета CD31-позитивно окрашенных клеток эндотелия сосудов, а также определение экспрессии ММП-9 в опухоли и клетках микроокружения, с последующим анализом наличия взаимосвязи между данными показателями. Материалом для исследования послужили 57 образцов опухолевого материала, полученных от пациентов с меланомой кожи. В результате исследования было выявлено, что при BRAF-позитивной лентиго-меланоме наблюдалась тенденция к увеличению васкуляризации в 2 раза, чем у BRAF-негативных больных лентиго-меланомой. Было выявлено изменение уровня васкуляризации в зависимости от локализации первичной опухоли: уровень васкуляризации был статистически выше у BRAF-позитивных пациентов с локализацией опухоли на коже туловища ($p < 0,05$), при этом не было выявлено значимых различий по другим важным морфологическим показателям, таким как изъязвление опухоли, выраженность лимфоцитарной инфильтрации и толщина опухоли по Бреслоу ($p > 0,05$). В данной работе не выявлено статистически значимых различий в экспрессии ММП-9 в зависимости от BRAF-статуса, как в опухолевых клетках, так и в клетках окружающей стромы ($p > 0,05$). Тем не менее, была выявлена тенденция к увеличению экспрессии ММП-9 в клетках окружающей стромы: в фибробластах, лимфоцитах, эндотелиальных клетках, полиморфно-ядерных лейкоцитах, независимо от BRAF-статуса. Несмотря на некоторые особенности опухолевого ангиогенеза при меланоме кожи у пациентов, имеющих различный BRAF-статус, ангиогенез в опухоли находится под влиянием различных ангиогенных и проангиогенных стимулов, которые имеют общие закономерности независимо от BRAF-статуса.

Ключевые слова: меланома кожи; ангиогенез; CD31; матриксная металлопротеиназа-9; BRAF.

Для цитирования: Аксененко М.Б., Рукша Т.Г. Особенности ангиогенеза у пациентов с меланомой кожи имеющих различный BRAF-статус. Российский журнал кожных и венерических болезней. 2017; 20(1): 4-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2017-20-1-4-9>

Aksenenko M.B., Ruksha T.G.**ANGIOGENESIS FEATURES IN PATIENTS WITH MELANOMA WITH DIFFERENT BRAF STATUS**

Krasnoyarsk State Medical University n.a. prof. V.F. Voyno-Yasnetsky, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation
Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology, Krasnoyarsk State Medical University n.a. prof. V.F. Voyno-Yasnetsky, 660022, Krasnoyarsk, Russia

Neovascularization is an important factor in the development and progression of cancer. Neovascularization in tumors is necessary for its further growth and subsequent metastasis. Intensity of angiogenesis depends on a balance of proangiogenic and antiangiogenic factors. One of these angiogenic factors is matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) enzyme family endopeptidases participating in the extracellular matrix degradation and remodeling of vessels. It is known that the BRAF V600E mutation can affect the expression of proangiogenic factors in tumor tissue. The purpose of this study was to investigate the microvasculature density in the tumor and peritumoral area in patients with melanoma with different BRAF-status using counting CD-31 positive stained vascular endothelial cells, as well as detection of the expression of matrix metalloproteinase-9 in tumor cells and cells of microenvironment, followed by analysis of the relationships among these indicators. The material for the study is based on samples of tumor ($n = 57$) obtained from patients with melanoma. The study revealed that there was a trend to increased angiogenesis in 2-fold ($p < 0.05$) with the BRAF-positive lentigo melanoma, compared with BRAF-negative patients lentigo melanoma. Vascularization level change was detected, depending on the primary tumor site: the level of vascularization was statistically higher in BRAF-positive patients with localized tumors on the skin of the trunk ($p < 0.05$), with no significant differences for other important morphologic parameters such as ulceration of the tumor, the severity of

lymphocytic infiltration and tumor thickness by Breslow ($p > 0.05$). No statistically significant differences in the expression of MMP-9 depending on the BRAF-status in the tumor cells and stromal cells in micro-environment ($p > 0.05$) were detected. Nevertheless, a tendency to an increase in the expression of MMP-9 in the surrounding stroma cells (fibroblasts, lymphocytes, endothelial cells, polymorph nuclear leukocytes, regardless of BRAF-status) was shown. Despite some features of tumor angiogenesis in the skin melanoma patients with different BRAF status angiogenesis in the tumor is influenced by a variety of proangiogenic and antiangiogenic stimulation that are common patterns regardless of BRAF-status.

Key words: skin melanoma; angiogenesis; CD31; matrix metalloproteinase-9; BRAF.

For citation: Aksenenko M.B., Ruksha T.G. Angiogenesis features in patients with melanoma with different BRAF status. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases (Rossiyskii Zhurnal Kozhnykh i Venericheskikh Boleznei)*. 2017; 20(1): 4-9. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2017-20-1-4-9>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The reported study was funded by RFBR according to the research project №16-34-00461 mol_a.

Received 06 Oct 2016

Accepted 24 Jan 2017

Неонгиогенез имеет большое значение в развитии и прогрессии опухолевого процесса [1]. Данный факт доказывается экспериментальными исследованиями, в которых регресс опухоли достигается не только индукцией апоптоза, но и угнетением опухолевого ангиогенеза посредством подавления проангиогенных молекул, таких как гипоксия-индуцибельный фактор альфа 1 (HIF α 1), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), интерлейкин-8 (IL-8) и трансформирующий ростовой фактор бета 1 (TGF β 1) [2].

Мутация гена *BRAF* определяется в 40–60% меланом, преобладая среди опухолей, расположенных на закрытых участках тела. Наличие данной мутации лежит в основе классификации меланомы по молекулярным подтипам. При этом известно, что в ткани больных раком щитовидной железы увеличен как интратуморальный, так и перитуморальный ангиогенез [3].

Опухолевый ангиогенез представляет собой важный этап в формировании и дальнейшем распространении опухоли любого гистогенеза. Показано, что *BRAF*-ингибитор вемурафениб, помимо направленного действия на компоненты сигнального пути митоген-активируемых протеинкиназ, вызывает снижение синтеза таких ангиогенных факторов как фактор роста эндотелия сосудов А (VEGF-A), VEGF-C, а также IL-6 (интерлейкин-6) в опухолевых клетках при раке щитовидной железы [4].

Для оценки васкуляризации в опухоли широко используют определение экспрессии белка CD31. Анти-тела к данному белку избирательно связываются с CD31-гликопротеином с молекулярной массой 130 кД в эндотелии сосудов, позволяя оценить степень васкуляризации и плотность сосудистого русла ткани [5].

Для корреспонденции:

Аксененко Мария Борисовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии им. проф. В.В. Иванова, 660022, г. Красноярск, Россия. E-mail: aksenenko_mariya@mail.ru

For correspondence:

Aksenenko Maria B., MD, PhD, docent, Department of Pathophysiology with a Course of a Clinical Pathophysiology, Krasnoyarsk State Medical University of prof. V.F. Voynov-Yasenetsky, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation. E-mail: aksenenko_mariya@mail.ru.

Information about authors:

Aksenenko M.B., <http://orcid.org/0000-0001-7660-700X>;
Ruksha T.G., <http://orcid.org/0000-0001-8142-4283>.

Одним из ангиогенных факторов является матриксная металлопротеиназа-9, фермент семейства эндопептидаз, принимающий участие в деградации межклеточного матрикса и ремоделировании сосудов [6]. Протеолитическое действие матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) главным образом регулирует биодоступность сосудистого эндотелиального фактора роста – VEGF и фактора роста фибробластов-2 (FGF-2), которые находятся во внеклеточном матриксе, как правило, в неактивной форме. Описана роль ММП-9 в миграции клеток [7], что также способствует неонгиогенезу.

Цель данного исследования – изучение плотности микроциркуляторного русла в опухоли и перитуморальной зоне у больных меланомой кожи, имеющих различный *BRAF*-статус, путем подсчета CD31-положительно окрашенных клеток, а также определение экспрессии ММП-9 в опухоли и клетках микроокружения с последующим анализом наличия взаимосвязи между данными показателями.

Материал и методы

Объектом данного исследования послужили образцы опухолевого материала, полученные из парафиновых блоков от больных меланомой кожи, проходивших лечение в КГБУЗ «Красноярский краевой онкологический диспансер». Биоптаты больных меланомой кожи ($n = 57$) получены в КГБУЗ «Красноярское краевое патологоанатомическое бюро». Препараты окрашивали гематоксилином и эозином и проводили дальнейшую морфологическую оценку. Перед выделением ДНК стекла с окрашенными гематоксилином и эозином препаратами, оценивали на наличие опухолевых клеток в срезах. В дальнейшем проводили выделение геномной ДНК с помощью набора FFPE DNA-Extraction Kit (ООО «Биолинк», РФ). Анализ мутации *BRAF* V600E осуществляли методом аллельспецифичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Для *BRAF*-теста выбирали разведение клинического образца ДНК, имеющее значение St наиболее близкое к отрицательному ДНК-стандарту: оптимальным считается чтобы, St неизвестных образцов в контрольной реакции отличалось от St ДНК контроля не более, чем на 2 цикла. Образец ДНК расценивали как положительный (т.е. содержащий мутацию), если dCt образца не более dCt положительного контроля, содержащего 5% мутантной ДНК. Образец ДНК считали отрицательным (нет мутации или мутировано менее 1% ДНК-копий гена *BRAF*), если dCt -образец более $dCtm$, где Ctm – St положительного стандарта (контроля), содержащего 5% ДНК с мутацией *BRAF* V600E. Далее пациенты были разделены на две группы в соответствии с молекулярно-генетическими подтипами опухоли:

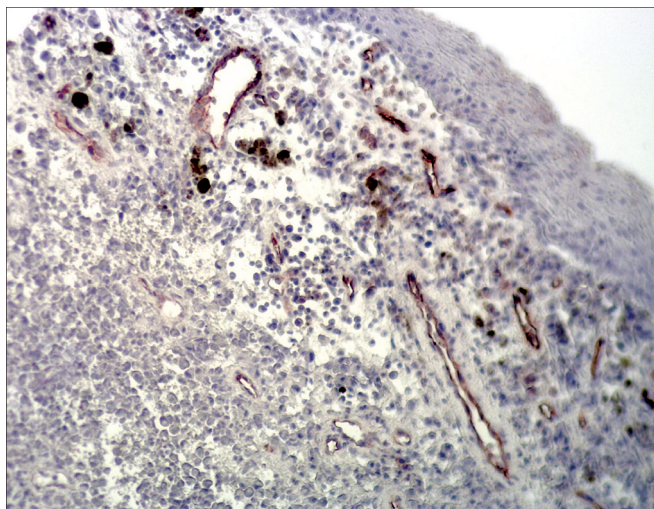


Рис. 1. CD31⁺-клетки эндотелия сосудов, субэпидермальной и интраопухолевой локализации. Ув. 100.

1-я группа – пациенты, имеющие мутацию *BRAF* V600E ($n = 27$), 2-я группа – пациенты, не имеющие мутации *BRAF* V600E ($n = 30$). Материал подвергали иммуногистохимическому окрашиванию по стандартной методике с применением моноклональных антител к CD31 (JC70) (“Cell Marcue”, США), разведение 1:100. Для доокраски ядер использовали гематоксилин Майера.

Подсчет сосудов в опухоли и в перитуморальной зоне проводили путем подсчета CD31-положительно окрашенных сосудов в абсолютных числах, при увеличении 200 (оценивали не менее трех репрезентативных полей зрения, сверху вниз, слева направо, а затем рассчитывали средний показатель). Визуализацию проводили с помощью микроскопа Olympus BX-41 с видеонасадкой Olympus u-CMAD3 и программного обеспечения Infinity Capture.

Для определения экспрессии ММП-9 образцы опухолевой ткани фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине. Срезы толщиной до 5 мкм подвергали иммуногистохимическому окрашиванию по стандартной методике с применением поликлональных антител к ММП-9 (“Abcam”, Великобритания), разведение 1:100. Для визуализации

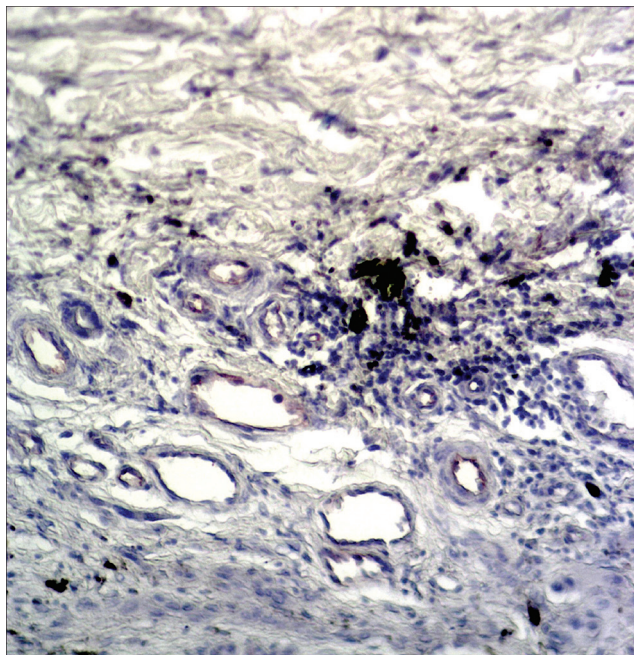


Рис. 2. CD31⁺-клетки эндотелия сосудов, субэпидермальной и интраопухолевой локализации. Ув. 200.

Таблица 1

Выраженность васкуляризации у больных различными клинико-морфологическими формами меланомы кожи в зависимости от *BRAF*-статуса

Вид меланомы	<i>BRAF</i> ⁺	<i>BRAF</i> [−]	<i>p</i>
Поверхностно распространяющаяся меланнома	8,9	9,0	0,99
Узловая меланнома	8,6	6,7	0,36
Лентиго меланнома	12,3	6,6	0,12

использовали систему детекции Reveal Biotin Free. В дальнейшем срезы докрасивали гематоксилином. Подсчет положительно окрашенных клеток производили при ув. 400 с помощью микроскопа Olympus BX-41.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 7,0. Проверку нормальности распределения выборки проводили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Учитывая ненормальный характер распределения в данной выборке, был использован непараметрический критерий Манна–Уитни. Для оценки факта наличия корреляционных связей их силы и направленности был использован коэффициент корреляции Спирмена. При $p < 0,05$ различия считали статистически значимыми.

Результаты

При проведении сравнительного исследования экспрессии CD31 у больных с различным *BRAF*-статусом выявлено, что среднее число положительно окрашенных сосудов в опухоли у больных с *BRAF*-положительным статусом $9,74 \pm 5,07$, а отрицательным – $7,74 \pm 5,35$. В препаратах обнаруживали в основном сосуды малого и среднего диаметра, которые локализовались вокруг опухоли преимущественно в субэпидермальной зоне (рис. 1), наблюдалась также интраопухолевая локализация сосудов (рис. 2). Экспрессия CD31 в опухоли *BRAF*-положительных больных была несколько ниже по сравнению с перитуморальной зоной и составила $8,44 \pm 5,35$, а среднее количество сосудов – $11,55 \pm 6,02$, данные различия статистически незначимые ($p > 0,05$). Мы не обнаружили взаимосвязи между возрастом больных и экспрессией CD31 в сосудах опухолевой ткани, а также в ткани микроокружения как при *BRAF*-положительной ($r = -0,23$; $p > 0,05$), так и при *BRAF*-отрицательной меланоме ($r = -0,14$; $p > 0,05$).

При этом выявлена зависимость между степенью васкуляризации ткани у пациентов с различным *BRAF*-статусом и полом больного. Так, у больных мужского пола с меланомой кожи, не имеющих *BRAF* V600E мутации, имеется положительная корреляционная связь между количеством сосудов в опухоли и перитуморальной зоне ($r = 0,87$; $p > 0,05$), в то время как у *BRAF*-положительных больных корреляционная связь между количеством сосудов в опухоли и перитуморальной зоне и полом была слабой и составила ($r = 0,119$; $p < 0,05$).

При сравнении количества сосудов, экспрессирующих CD31 в разных клинико-гистологических подтипах меланомы, а именно в поверхностно-распространяющейся, узловой и лентиго меланоме, не выявлено статистических различий, как в *BRAF*-положительных, так и в *BRAF*-отрицательных опухолях (табл. 1). При *BRAF*-положительной лентиге

Таблица 2

Выраженность васкуляризации у больных меланомой кожи различной локализации в зависимости от *BRAF*-статуса

Локализация	<i>BRAF</i> ⁺	<i>BRAF</i> ⁻	<i>p</i>
Голова, шея	7,1	13,2	0,53
Туловище	10,4	6,0	0,04
Верхние конечности	13,3	10,1	0,49
Нижние конечности	7,7	8,9	0,57

го-меланоме наблюдалась тенденция к увеличению васкуляризации в 2 раза по сравнению с *BRAF*-отрицательной. Выявлено изменение уровня васкуляризации в зависимости от локализации первичной опухоли, который был статистически выше у *BRAF*-положительных больных с локализацией опухоли на коже туловища ($p < 0,05$; табл. 2). Но при этом не выявлено значимых различий по другим важным морфологическим показателям, таким как изъязвление опухоли, выраженность лимфоцитарной инфильтрации и толщина опухоли ($p > 0,05$).

По данным литературы [8], васкуляризация опухоли в центре и на периферии новообразования не одинакова. Показано, что васкуляризация в перитуморальной области выше, чем в самой опухоли, при этом интраопухолевая васкуляризация выше в *BRAF*-положительных опухолях [9]. Кроме того в эксперименте было показано, что при меланоме кожи все интраопухолевые сосуды пытаются внедриться в глубину опухоли и после прекращения интравасации, при этом пролиферация эндотелиальных клеток сосудов прекращается и сосуды продолжают расти только в ширину [10].

В проведенном исследовании не выявлено статистически значимых различий в экспрессии ММП-9 в зависимости от *BRAF*-статуса, как в опухоле-

Таблица 3

Экспрессия ММП-9 в опухоли и клетках перитуморальной зоны

Экспрессия ММП-9 при меланоме с различным <i>BRAF</i> -статусом	ММП-9, ИГХ-коэффициент	
	опухоль	клетки стромы
Меланома (мутация <i>BRAF</i> V600E)	28,67 ± 45,10	35,22 ± 30,0
Меланома (<i>BRAF</i> , дикий тип)	34,61 ± 38,27	44,22 ± 16,03

вых клетках, так и в клетках окружающей стромы ($p > 0,05$). Выявлена тенденция к увеличению экспрессии ММП-9 в клетках окружающей стромы: в фибробластах, лимфоцитах, эндотелиальных клетках, полиморфно-ядерных лейкоцитах, независимо от *BRAF*-статуса (табл. 3). В опухолевых комплексах ММП-9 определялась диффузно, как в эпидермисе, так и в клетках дермы. При анализе экспрессии ММП-9 иммуногистохимический коэффициент варьировал от 1 до 205. Не выявлено значимых различий между исследуемыми маркерами и *BRAF*-статусом пациентов. Помимо опухолевых клеток, было выявлено наличие экспрессии и лимфоцитами опухоли, при этом не выявлено корреляционной взаимосвязи между данным показателем и *BRAF*-статусом опухоли ($r = 0,34$).

Обсуждение

Формирование сосудов в опухоли является сложным и последовательным процессом, который зависит от баланса между стимулирующими и ингибирующими ангиогенез факторами, включающими в себя ремоделирование межклеточного матрикса, миграцию клеток и процессы регулируемой межклеточной адгезии между клетками сосудистого эндотелия и компонентами межклеточного матрикса.

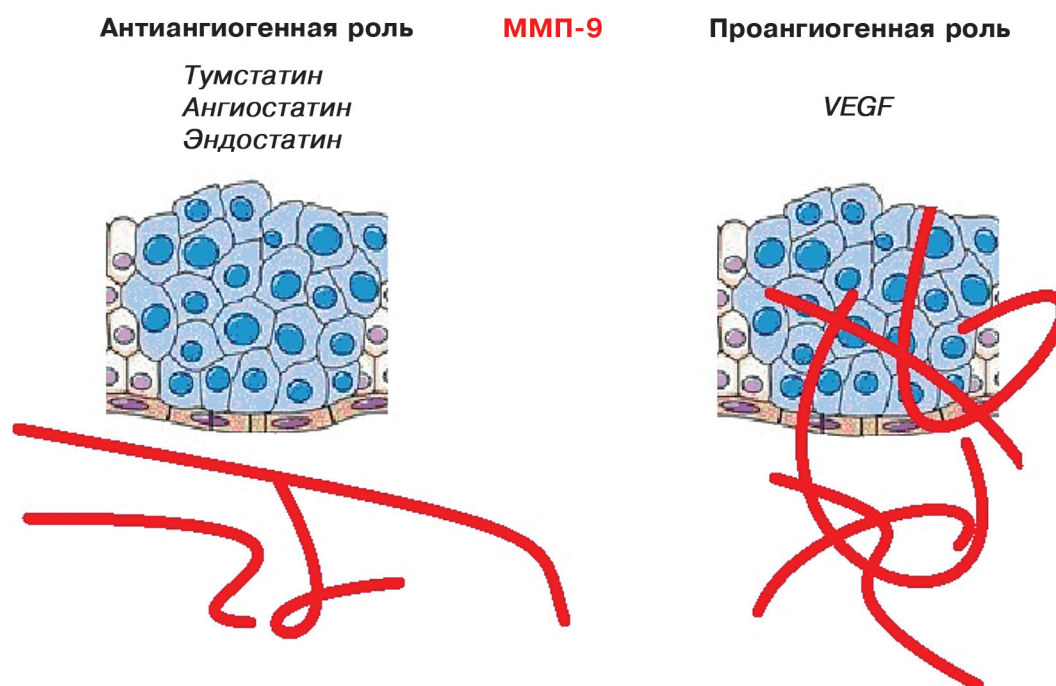


Рис. 3. Влияние ММП-9 на ангиогенез при меланоме кожи. ММП-9 оказывает разнонаправленный эффект на ангиогенез в опухоли. ММП-9 может ингибировать ангиогенез за счет экспрессии ангиостатических факторов, таких как тумстатин, ангиостатин, эндостатин. В свою очередь ММП-9 может усилить неоангиогенез в опухоли за счет активации VEGF в межклеточном матриксе опухоли.

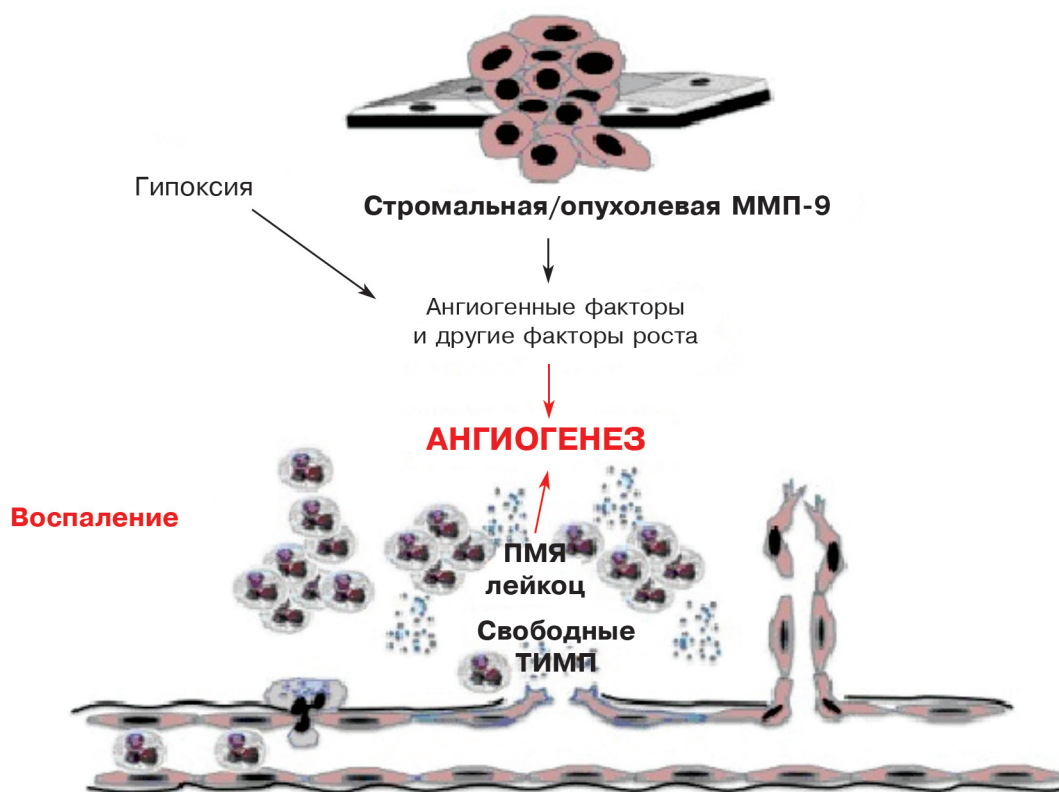


Рис. 4. Активация ангиогенеза в опухоли под влиянием ММП-9, вызванная опухоль-ассоциированной гипоксией ткани. ПМЯ лейкоц. – полиморфноядерные лейкоциты; ТИМП – тканевые ингибиторы матричных металлопротеиназ.

Процесс ангиогенеза при меланоме можно разделить на несколько стадий аналогичные тем, которые сопровождают опухолевую инвазию:

- процесс пролиферации эндотелиальных клеток;
- деструкция компонентов межклеточного матрикса;
- миграция эндотелиальных клеток [11].

ММП традиционно считаются проангиогенными агентами, при этом ММП способны проявлять и антиангиогенные свойства. Так, ММП-9 наряду с ММП-3, ММП-7, ММП-12 гидролизуют плазминоген до ангиостатина, тем самым оказывая выраженное ингибирующее влияние на ангиогенез [12]. В целом, ММП-9 может оказывать как ангиогенное, так и проангиогенное действие на опухолевый рост.

Схематично ангиогенная и проангиогенная роль ММП-9 представлена на **рис. 3**. В отличие от нормальных кровеносных сосудов, внутриопухолевые сосуды являются незрелыми структурами, развитие которых сопряжено с процессом воспаления [13], при этом в очаге воспаления наблюдается скопление большого количества полиморфноядерных лейкоцитов, которые в свою очередь являются источником ММП-9 в опухолевом узле. Последняя, экспрессируясь данными клетками, регулирует пролиферацию перитцитов и стимулирует ангиогенные импульсы для выделения факторов роста из красного костного мозга [14].

Воспаление в перитуморальной зоне способствует индукции процесса неоангиогенеза, за счет гиперпродукции провоспалительных цитокинов: $\text{TNF}\alpha$, IL-17 и IL-18 , которые способствуют экспрессии ММП-9, гиперэкспрессия которой, стимулирует миграцию пе-

рицитов и гладкомышечных клеток сосудов во время ангиогенеза [15].

Гиперэкспрессия ММП-9 как опухолевыми, так и клетками стромального микроокружения опухоли способствует высвобождению ангиогенных ростковых факторов, таких как VEGF и FGF из матрицы. Подобные взаимодействия приводят не только к поддержанию опухолевого неоангиогенеза, но и способствуют гиперактивации гемопоэза [16], что также способствует прогрессии опухоли через увеличение миелоидных супрессорных клеток, которые подавляют пролиферацию Т-лимфоцитов и тем самым активируют у опухоли способность уклоняться от иммунного надзора.

Помимо этого ММП-9 способствует увеличению в опухолевой ткани проангиогенных моноцитов и CD34^+ -клеток-предшественников эндотелиальных клеток, которые экспрессируют VE-кадгерин и VEGFR2 в опухоли оказывающие влияние на ангиогенез [17] и индуцируют выделение из красного костного мозга циркулирующих эндотелиальных стволовых клеток-предшественников путем разрушения с-Kit лиганда, данный факт способствует дальнейшей активации опухолевого ангиогенеза [18].

В качестве одного из стимуляторов ангиогенных факторов рассматривается опухоль-ассоциированная гипоксия ткани (**рис. 4**), под влиянием которой увеличивается экспрессия ММП-9 как в опухолевой ткани, так и в клетках стромального окружения. Так, неоангиогенез, вызванный гипоксией, обусловлен активацией NOX-2.

Кроме того описана роль ММП-9 как одного из главных участников такого феномена как «вакуло-

генная мимикрия», представляющего собой образование микроваскулярной сети опухолевыми клетками, характерного для меланомы кожи [19].

Отмечая роль *BRAF*-статуса в ангиогенезе следует заметить, что в проводимых ранее исследованиях по изучению взаимосвязи *BRAF*-статуса и ангиогенеза при опухолях другого гистогенеза, было выявлено, что уровень проангиогенных факторов, таких как VEGF, VEGFR, PDGFRb был ниже у пациентов с наличием мутации *BRAF* V600E при раке щитовидной железы, чем у пациентов, не имеющих данной мутации, при этом количество как кровеносных так и лимфатических сосудов не зависело от *BRAF*-статуса [3].

Несмотря на некоторые особенности опухолевого ангиогенеза при меланоме кожи у пациентов, имеющих различный *BRAF*-статус, кровотоков в опухоли находится под влиянием ангиогенных и проангиогенных стимулов, которые имеют общие закономерности независимо от *BRAF*-статуса.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 16-34-00461, мол. а.

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Авдальян А.М., Бобров И.П., Климаче В.В., Круглова Н.М., Лазарев А.Ф. Прогностическое значение исследования плотности сосудов микроциркуляторного русла в опухоли и перитуморальной зоне по данным выявления белка CD31 и количества аргирофильных белков области ядрышкового организатора (AGNOR) в эндотелии при лейкомииосаркоме тела матки. *Фундаментальные исследования*. 2010; 5: 12–20.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Miller A.J., Mihm M.C. Jr. Melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2006; 355(1): 51–65.
- Grazia G., Vegetti C., Benigni F., Penna I., Perotti V., Tassi E., et al. Synergistic antitumor activity and inhibition of angiogenesis by cotargeting of oncogenic and death receptor pathways in human melanoma. *Cell Death Dis.* 2014; 5: e1434.
- Durante C., Tallini G., Puxeddu E., Sponziello M., Moretti S., Ligorio C., et al. BRAF (V600E) mutation and expression of proangiogenic molecular markers in papillary thyroid carcinomas. *Eur. J. Endocrinol.* 2011; 165(3): 455–63.
- Husain A., Hu N., Sadow P.M., Nucera C. Expression of a angiogenic switch, cachexia and inflammation factors at the crossroad in undifferentiated thyroid carcinoma with BRAF (V600E). *Cancer Lett.* 2016; 380(2): 577–85.
- Avdalyan A.M., Bobrov I.P., Klimache V.V., Kруглова N.M., Lazarev A.F. Prognostic significance of the study microvascular density in tumor and peritumoral area according to the detection of protein and CD31 protein argyrophil number of

- nucleolar organizer region (AGNOR) in the endothelium of the uterine body with leykomiosarkome. *Fundamental research. Russian Journal (Fundamentalnye issledovaniya)*. 2010; 5: 12–20. (in Russian)
- Pittayapruerk P., Meeaphansan J., Prapapan O., Komine M., Ohtsuki M. Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17(6): e868.
- Gu H., Feng J., Wang H., Qian Y., Yang L., Chen J., et al. Celastrol extract inhibits the migration and invasion of human glioblastoma cells in vitro. *BMC Complement Altern. Med.* 2016; 16(1): 387.
- Döme B., Paku S., Somlai B., Timár J. Vascularization of cutaneous melanoma involves vessel co-option and has clinical significance. *J. Pathol.* 2002; 197(3): 355–62.
- Durante C., Tallini G., Puxeddu E., Sponziello M., Moretti S., Ligorio C., et al. BRAF (V600E) mutation and expression of proangiogenic molecular markers in papillary thyroid carcinomas. *Eur. J. Endocrinol.* 2011; 165(3): 455–63.
- Kiss J., Timár J., Somlai B., Gilde K., Fejôs Z., Gaudi I., et al. Association of microvessel density with infiltrating cells in human cutaneous malignant melanoma. *Pathol. Oncol. Res.* 2007; 13(1): 21–31.
- Stratigos M., Matikas A., Voutsina A., Mavroudis D., Georgoulas V. Targeting angiogenesis in small cell lung cancer. *Transl. Lung Cancer Res.* 2016; 5(4): 389–400.
- Iizuka S., Ishimaru N., Kudo Y. Matrix metalloproteinases: the gene expression signatures of head and neck cancer progression. *Cancers (Basel)*. 2014; 6(1): 396–415.
- Donnem T., Hu J., Ferguson M., Adighib O., Snell C., Harris A.L., et al. Vessel co-option in primary human tumors and metastases: an obstacle to effective anti-angiogenic treatment? *Cancer Med.* 2013; 2(4): 427–36.
- Kachgal S., Carrion B., Janson I.A., Putnam A.J. Bone marrow stromal cells stimulate an angiogenic program that requires endothelial MT1-MMP. *J. Cell Physiol.* 2012; 227(11): 3546–55.
- Landskron G., De la Fuente M., Thuwajit P., Thuwajit C., Hermoso M.A. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J. Immunol. Res.* 2014; 2014: 149185. doi: 10.1155/2014/149185.
- Bergers G., Brekken R., McMahon G., Vu T.H., Itoh T., Tamaki K., et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat. Cell Biol.* 2000; 2(10): 737–44.
- Wels J., Kaplan R.N., Rafii S., Lyden D. Migratory neighbors and distant invaders: tumor-associated niche cells. *Genes Dev.* 2008; 22(5): 559–74.
- Singla D., Wang J. Fibroblast growth factor-9 activates c-Kit progenitor cells and enhances angiogenesis in the infarcted diabetic heart. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016; 2016: 5810908. doi: 10.1155/2016/5810908.
- Lin H., Pan J.C., Zhang F.M., Huang B., Chen X., Zhuang J.T., et al. Matrix metalloproteinase-9 is required for vasculogenic mimicry by clear cell renal carcinoma cells. *Urol. Oncol.* 2015; 33(4): 168.e9-16. doi: 10.1016/j.urolonc.2014.12.007.

Поступила 20.10.16

Принята к печати 24.01.17