

Рецептор VEGF-R1/Flt-1 как характеристика ангиогенного фенотипа увеальной меланомы

В.Г. Лихванцева^{1,2}О.А. Анурова³С.Е. Астахова²М.В. Верещагина⁴В.Э. Ованесян⁵Е.В. Степанова⁶

¹ ФГБУ «ГНЦ РФ — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна»
Федерального медико-биологического агентства
ул. Гамалеи, 15, Москва, 123098, Российская Федерация

² Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства
Волоколамское шоссе, 91, Москва, 125310, Российская Федерация

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
ул. Академика Опарина, 4, Москва, 117997, Российская Федерация

⁴ ГБУ «Детская городская поликлиника № 15» Департамента здравоохранения г. Москвы, Амбулаторно-поликлинический центр
Коптевский бульвар, 18, корп. 1, Москва, 125239, Российская Федерация

⁵ ГБУЗ МО «Егорьевская центральная районная больница»
Жунова гора, 19, Егорьевск, Московская область, 140304, Российская Федерация

⁶ Научно-исследовательский институт экспериментальной диагностики и терапии опухолей
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
Наширское шоссе, 23, Москва, 23115478, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2021;18(4):866–875

Благодаря появившимся новым фундаментальным данным наши представления о роли ангиогенеза и его молекулярных участниках изменились. Расшифрованы молекулярно-генетические механизмы активации сигнальных путей пролиферации, малигнизации, подавления апоптоза опухолевых клеток, осуществляемые посредством взаимодействия молекулы VEGF с ее рецепторами. Сменилась доктрина ангиогенеза. Ангиогенез стали рассматривать в аспекте механизма повышения анаплазии, ускорения пролиферации, формирования клона стволовых опухолевых клеток, высокорезистентных к химиотерапии и лучевой терапии, с высоким потенциалом к метастазированию. Настало время для пересмотра роли отдельных биологических маркеров ангиогенеза в контексте их пригодности в прогнозировании исхода заболевания и оценки в качестве потенциальной мишени для таргетной терапии. В этом аспекте увеальная меланوما (УМ) как модель чрезвычайно агрессивной злокачественной опухоли, использующей свой ангиогенный фенотип для ускорения гематогенного метастазирования, привлекает особый интерес. В качестве одной из характеристик ангиогенного фенотипа служит рецептор VEGF-R1/Flt-1. **Цель работы:** изучить экспрессию рецептора VEGF-R1/Flt-1 как характеристику ангиогенного фенотипа УМ в корреляции с ее клинико-морфологическими показателями и исходом заболевания. **Материал и методы.** Авторы провели ретроспективное исследование на 98 архивных парафиновых блоках глаз пациентов с УМ. Выявлены следующие общие закономерности экспрессии Flt в клетках УМ: Базовая экспрессия имеет место при самых маленьких опухолевых пролифератах УМ (T1). Причем гиперэкспрессия (ИГХ-градация III) Flt в ядре (39,7 %) и цитоплазме (36,3 %) имела место у каждого третьего пациента с УМ в стадии T₁. Пик рецепции по максимальному среднему, процент позитивных клеток (Mmax ср. ± м) и усредненной клеточной ИГХ-градации экспрессии зафиксирован на стадии T₂, после этого происходил медленный спад до стадии T₄. Число гиперэкспрессирующих Flt в ядре и цитоплазме клеток УМ возрастало в 2 раза (75,3 %) к стадии T₂. Пик ядерной экспрессии Flt по количеству иммунопозитивных клеток зафиксирован также на стадии T₂. Авторы пришли к выводу, что экспрессия VEGF-R1/Flt-1 является очень важной характеристикой ангиогенного фенотипа УМ. В подавляющем большинстве УМ имеет место экспрессия рецептора VEGF-R1/Flt-1 в ядре и цитоплазме опухолевых клеток. Выявленные корреляционные связи показателей экспрессии VEGF-R1/Flt-1 с объемом и гистологическим типом опухоли, стадией заболевания и метастазированием позволяют им считать Flt-1 важным показателем, ассоциированным с патогенезом и прогнозом увеальной меланомы и потенциальной мишенью для таргетной терапии. Прогностически неблагоприятным фактором в аспекте прогноза риска развития метастазов следует считать индекс соотношения Flt C/Flt N ≥ 3.

Ключевые слова: увеальная меланомы, ангиогенез, рецептор VEGF-R1/Flt-1, иммуногистохимический анализ, прогноз



В.Г. Лихванцева, О.А. Анурова, С.Е. Астахова, М.В. Верещагина, В.Э. Ованесян, Е.В. Степанова

Для цитирования: Лихванцева В.Г., Анурова О.А., Астахова С.Е., Верещagina М.В., Ованесян В.Э. Рецептор VEGF-R1/Flt-1 как характеристика ангиогенного фенотипа увеальной меланомы. *Офтальмология*. 2021;18(4):866–875. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2021-4-866-875>

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах

Конфликт интересов отсутствует

VEGF-R1/Flt-1 Receptor as a Characteristic of the Angiogenic Phenotype of Uveal Melanoma

V.G. Likhvantseva¹, O.A. Anurova³, S.E. Astakhova², M.V. Vereshchagina⁴, V.E. Ovanesyan⁵, E.V. Stepanova⁶

¹ A.I. Burnazyan Federal Biophysical Center of FMBA of Russia
Gamalei str., 15, Moscow, 123098, Russian Federation

² Academy of Postgraduate Education of the Federal Scientific and Clinical Center
for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of FMBA of Russia
Volokolamsk highway, 91, Moscow, 125371, Russian Federation

³ National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I. Kulakov
Academician Oparina str., 4, Moscow, 117997, Russian Federation

⁴ Children's City Polyclinic No. 15, Ambulatory and Polyclinic Center
Koptev ave., 18/1, Moscow, 125239, Russian Federation

⁵ Yegoryev Central District Hospital
Zhukova Mountain, 19, Yegoryevsk, Moscow Region, 140304, Russian Federation

⁶ Research Institute of Experimental Diagnostics and Therapy of Tumors
of National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin
Kashirskoye highway, 23, Moscow, 115478, Russian Federation

ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2021;18(4):866–875

Thanks to new fundamental data, our understanding of the angiogenesis' role and its molecular participants has changed. Molecular genetic mechanisms of activation of signaling pathways of proliferation, malignancy, suppression of the tumor cells' apoptosis, carried out through the interaction of the VEGF molecule with its receptors, have been deciphered. Molecular genetic mechanisms of activation of signaling pathways of proliferation, malignancy, suppression of apoptosis of tumor cells, carried out through the interaction of the VEGF molecule with its receptors, have been deciphered. The doctrine of angiogenesis has changed. Angiogenesis began to be considered in the aspect of the increasing anaplasia mechanism, accelerating proliferation, the formation of a clone of stem tumor cells, highly resistant to chemotherapy and radiation therapy with a high potential for metastasis. It is time to reconsider the role of individual biological markers of angiogenesis in their suitability in predicting disease outcome and evaluating them as a potential target for targeted therapy. In this aspect, uveal melanoma (UM) as a model of an extremely aggressive malignant tumor using its angiogenic phenotype to accelerate hematogenous metastasis is of particular interest. One of the characteristics of the angiogenic phenotype is VEGF-R1/Flt-1. The purpose: to study the expression of the VEGF-R1/Flt-1 receptor as a characteristic of the angiogenic phenotype of UM in correlation with its clinical and morphological indicators and the outcome of the disease. The authors conducted a retrospective study on 98 archival paraffin blocks of the eyes of patients with UM. The following general patterns of Flt expression in UM cells are revealed: Basic expression takes place in the smallest tumor proliferates UM (T1). Moreover, overexpression (IGH-gradation III) of Flt in the nucleus (39.7 %) and cytoplasm (36.3 %) occurred in every third patient with UM in stage T1. The peak of reception for the maximum average percentage of positive cells and the average cellular IGH gradation of expression was recorded at the T2 stage, after which there was a slow decline to the T4 stage. The number of overexpressive Flt in the nucleus and cytoplasm of UM cells increased x 2 times (75.3 %) to the T2 stage. The peak of Flt nuclear expression in terms of the number of immunopositive cells was also recorded at the T2 stage. The authors concluded that VEGF-R1/Flt-1 expression is a very important characteristic of the UM angiogenic phenotype. In the vast majority of UM, there is an expression of the VEGF-R1/Flt-1 receptor in the nucleus and cytoplasm of tumor cells. The revealed correlations of VEGF-R1/Flt-1 expression with the volume and histological type of tumor, disease stage and metastasis allow them to consider Flt-1 an important indicator associated with the pathogenesis and prognosis of uveal melanoma and a potential target for targeted therapy. A prognostic adverse factor in the aspect of the prognosis of the risk of metastases should be considered the index of the ratio Flt C/Flt N ≥ 3 .

Keywords: uveal melanoma, angiogenesis, receptor VEGF-R1/Flt-1, immunohistochemical analysis, prognosis

For citation: Likhvantseva V.G., Anurova O.A., Astakhova S.E., Vereshchagina M.V., Ovanesyan V.E. VEGF-R1/Flt-1 Receptor as a Characteristic of the Angiogenic Phenotype of Uveal Melanoma. *Ophthalmology in Russia*. 2021;18(4):866–875. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2021-4-866-875>

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned

There is no conflict of interests

За последние 50 лет благодаря появившимся новым фундаментальным данным наши представления о роли ангиогенеза и его молекулярных участниках изменились. Современные исследования расшифровали

молекулярно-генетические механизмы активации сигнальных путей пролиферации, малигнизации, подавления апоптоза опухолевых клеток, осуществляемые посредством простого взаимодействия молекулы VEGF

V.G. Likhvantseva, O.A. Anurova, S.E. Astakhova, M.V. Vereshchagina, V.E. Ovanesyan, E.V. Stepanova

Contact information: Likhvantseva Vera G. likhvantseva-4@yandex.ru

VEGF-R1/Flt-1 Receptor as a Characteristic of the Angiogenic Phenotype of Uveal Melanoma

867

со специфическими рецепторами [1–3]. Сменилась доктрина ангиогенеза. С примитивных механистических позиций, когда сосуды в опухоли рассматривали как средство удовлетворения метаболического и гипоксического дефицита растущей опухоли, концепция ангиогенеза перешла на новый уровень. Ангиогенез стали рассматривать в аспекте механизма повышения анаплазии, ускорения пролиферации, формирования клона стволовых опухолевых клеток, высокорезистентных к химиотерапии и лучевой терапии, с высоким потенциалом к метастазированию [4–8]. Настало время для пересмотра роли отдельных биологических маркеров ангиогенеза в контексте их пригодности для прогнозирования исхода заболевания и оценки в качестве потенциальной мишени для таргетной терапии.

Известно, что в построении сосудистой сети в норме и при патологии участвуют клетки и молекулы с разнонаправленной про- и антиангиогенной активностью. Биологические эффекты этих молекул реализуются по рецептор-лигандному типу. Эффект появляется только после связывания молекулы с соответствующим рецептором. Основными молекулярными участниками ангиогенеза являются члены семейства фактора роста эндотелия сосудов (*Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF) — белковые молекулы VEGF A, B, C и D и 3 рецептора — VEGFR1/Flt-1, VEGFR2/Flk-1/KDR-1 и VEGFR-3. Функции некоторых из молекул, например VEGF D, до конца не определены и находятся на стадии изучения. Каждая из молекул отвечает за свой участок сборки сосудов, при этом их комбинация и уровни экспрессии определяют этапность и ангиоархитектонику новообразованного сосуда [9–12]. VEGF A — плеiotропный цитокин, в спектр функций которого входит стимуляция и пролиферация эндотелиальных клеток (ЭК), повышение их миграционной активности, активация генов, участвующих в протеолизе межклеточного матрикса. Передача сигнала внутрь клетки осуществляется через рецепторы — VEGFR1/Flt-1 и VEGFR-2/Flk-1/KDR-1 [10–12].

Экспрессионный профиль рецепторов, молекул-лигандов с про- и антиангиогенной активностью формирует ангиогенный фенотип опухоли. В этом аспекте увеальная меланома как модель чрезвычайно агрессивной злокачественной опухоли, использующей свой ангиогенный фенотип для ускорения гематогенного метастазирования, привлекает интерес специалистов различных дисциплин медицины, включая офтальмоонкологов, фармакологов, онкологов, биологов и др.

Цель работы: изучить экспрессию рецептора VEGF-R1/Flt-1 как характеристику ангиогенного фенотипа УМ в корреляции с ее клинико-морфологическими показателями и исходом заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 98 пациентов с УМ (46 мужчин, 52 женщины, средний возраст $54,6 \pm 18,6$ года). Исследование носило ретроспективный характер.

Больных наблюдали не менее 5 лет со дня первичной диагностики или до появления метастазов и смерти от метастатической болезни.

Стадию заболевания выставляли в соответствии с рекомендациями 8-й редакции Американского объединенного комитета по раку (AJCC) по классификации опухолей (TNM) (2017 г.) [13, 14].

Морфологическую диагностику УМ проводили согласно международным стандартам диагностики опухолей человека (2018 г.). В сложных случаях (при беспигментных опухолях) подтверждали иммуногистохимически (ИГХ), используя для этого маркеры меланогитарного ряда [15, 16].

Материалом для настоящих иммуногистохимических (ИГХ) исследований служил архивный материал из 98 парафиновых блоков энуклеированных глаз с УМ ($n = 64$) и операционный материал, полученный при экзентерации ($n = 1$) и блокэкзисии опухоли ($n = 33$).

В качестве первичного антитела использовали антитело к рецептору VEGF: Flt-1 (козы поликлональные антитела (АТ), разведение 1:100, Santa Cruz Biotech).

После 40-минутного пребывания в термостате при 37° парафиновые срезы депарафинировали в ксилоле, регидратировали в 96° спирте, промывали в дистиллированной воде и в 3 % перекиси водорода. Проводили «демаскировку» АТ, прогревая срезы в течение 45 минут на водяной бане в нагретом до $95\text{--}99^\circ\text{C}$ цитратном буфере. Затем охлаждали стекла при комнатной температуре, промывали в дистиллированной воде и в фосфатном буфере TRIS-HCL. Раскапывали первые АТ, после этого проводили инкубацию во влажной среде и промывание в TRIS-HCL буфере.

Проводили инкубацию со вторыми АТ (LSAB⁺+kit, DAKO) при комнатной температуре, после этого промывали срезы в TRIS-HCL буфере. Инкубацию с АТ, мечеными стрептавидином (LSAB⁺+kit, DAKO), выполняли при комнатной температуре и вновь промывали. ИГХ-реакцию визуализировали с помощью DAB-системы (DAKO). Срезы докрашивали гематоксилином Майера, промывали под проточной водой 3 минуты, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, затем помещали в ксилон. Промывали трижды по 5 минут и заключали в канадский бальзам под покровные стекла.

Негативным контролем служила ИГХ реакция без добавления первичных АТ.

ИГХ-реакцию оценивали с применением светового микроскопа Leica (Германия) (увеличение $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$) по протоколу. Анализировали следующие критерии: интенсивность ИГХ-окраски, иммунолокализацию или место ИГХ-окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма, мембрана), количество положительных клеток в зоне просмотра и клеточную структуру, фиксирующую антитело [17].

Гистоморфологические и иммуногистохимические исследования ткани УМ проводили на базе отдела патологической анатомии и гистологии ЦКБ РАН; отдела патологической анатомии № 3 (онкопатология) ФГБУ

«НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (к.м.н. О.А. Анурова); лаборатории биомаркеров и механизмов опухолевого ангиогенеза НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей (НИИ ЭДТО, д.м.н. Е.А. Степанова).

Результаты оценивали, интерпретировали; проводили корреляционный анализ показателей на кафедре офтальмологии Академии постдипломного образования ФГБУ «ФНКЦ ФМБА России».

Анализ результатов исследования осуществляли на персональном компьютере с помощью программы SAS (Statistical Analysis System, version 6.09, США). Рассчитывали среднее групповое значение, среднее квадратичное отклонение, стандартную ошибку среднего; частоту выявления показателей в процентах. Связь между показателями определяли по величине коэффициентов линейной корреляции. Статистическую достоверность различий вычисляли с помощью *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок, а ранговых показателей — по χ^2 -критерию Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Было установлено, что опухолевые клетки увеальной меланомы экспрессировали рецептор VEGFR-1/Flt-1 на очень высоком уровне, что говорило о высокоангиогенном фенотипе опухоли и зависимости развития собственных сосудов от экспрессии молекулы VEGF. При анализе экспрессии Flt-1 было обращено внимание на то, что в одних УМ наблюдается селективная рецепция Flt в ядре (Flt N), в других — в цитоплазме (Flt C), в третьих — рецептор экспрессировался в обоих указанных компартментах клетки (рис. 1).

Для уточнения роли этого феномена мы рассматривали рецепцию Flt в цитоплазме и ядре как два самостоятельных независимых показателя, кроме того, дополнительно мы ввели индексы их соотношения: Flt цитоплазмы / Flt ядра (Flt C/Flt N) и Flt ядра / Flt цитоплазмы (Flt N/Flt C) с их градациями ≤ 1 , >1 но < 3 и ≥ 3 .

Анализировали взаимосвязь между показателями ангиогенеза, с одной стороны, и клиническими или морфологическими симптомами — с другой. В одних случаях более достоверным оказался индекс Flt N/Flt C, в других — Flt C/Flt N.

Подавляющее большинство (80 %) тестируемых УМ экспрессировали Flt в цитоплазме, причем в 54,3 % случаев практически все (100 %) опухолевые клетки в поле зрения окрашивались Flt. Более половины опухолей (56 %) экспрессировали Flt в ядре, из них в 18,7 %

образцов УМ ИГХ-окрашивание имело место во всех (100 %) опухолевых клетках, попавших в поле зрения.

Поиск закономерностей экспрессии рецептора Flt вели по трем основным показателям: усредненному максимальному проценту иммунопозитивных клеток в срезах УМ (1), среднегрупповому показателю интенсивности экспрессии, рассчитанному на стадии (2) и усредненному индексу соотношений, ассоциированному со стадией заболевания, гистологическим строением УМ, возрастом и др. (3).

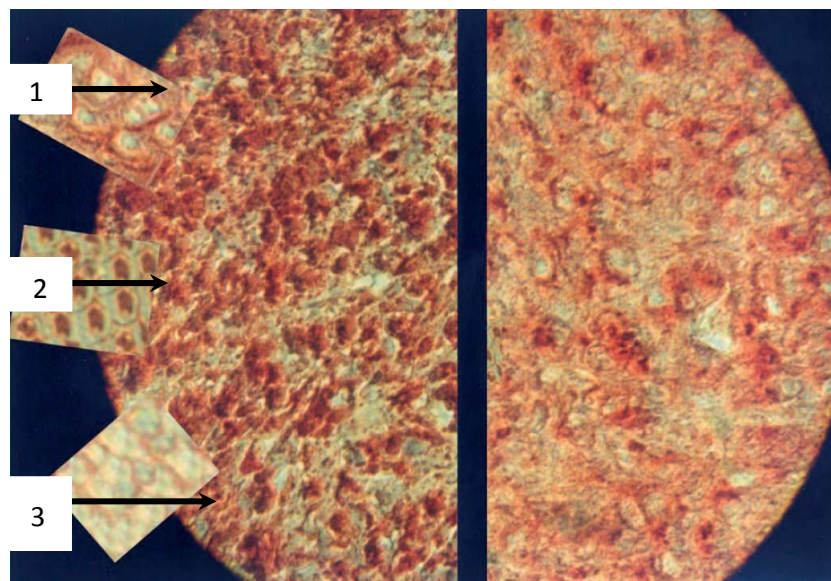
Выявлены следующие общие закономерности экспрессии Flt в клетках УМ.

- Базовая экспрессия имела место при самых маленьких опухолевых пролифератах УМ. Так, гиперэкспрессия (градация III) Flt в ядре (39,7 %) и цитоплазме (36,3 %) имела место практически у каждого третьего пациента с УМ в стадии T₁.

- Пик рецепции по максимальному среднему проценту позитивных клеток (M_{\max} ср. $\pm m$) и усредненной клеточной ИГХ-градации экспрессии зафиксирован на стадии T₂ после этого происходил медленный спад до стадии T₄ (табл. 1). Число гиперэкспрессирующих Flt в ядре и цитоплазме клеток УМ возрастало в 2 раза (75,3 %) к стадии T₂.

Пик ядерной экспрессии Flt по количеству иммунопозитивных клеток зафиксирован на стадии T₂.

На стадии T₄ ядерной гиперэкспрессии Flt не наблюдали (0,0 %), а цитоплазматическая имела место в 15,8 % УМ (табл. 2).



Гист. № 37796

Гист. № 44054

Рис. 1. Варианты экспрессии Flt-1 ($\times 200$). Иммуногистохимическая реакция со специфическими антителами к Flt-1. 1 — Flt в цитоплазме (ув. 400). 2 — Flt в ядре (ув. 400). 3 — Flt отсутствует (ув. 400).

Fig. 1. Flt-1 Expression Options (Gist. No. 37796, 44054, $\times 200$). Immunohistochemical reaction with specific antibodies to Flt-1. 1 — Flt in cytoplasm ($\times 400$). 2. — Flt in the nucleus ($\times 400$). 3 — Flt is absent ($\times 400$)

Средний индекс соотношения Flt C/Flt N повышался от стадии начальной УМ к стадии T_2 с 1,8 до 2,1, далее снижался до 1,7 на стадии T_3 .

На поздних стадиях опухолевого роста (T_4) отмечали разделение пациентов на две подгруппы по выявляемым значениям индекса: у одних индекс Flt C/Flt N снижался ниже 1, у других, напротив, повышался до 3. Поскольку первые доминировали, усредненный индекс соотношения Flt C/Flt N оказался близок к 1.

Усредненный показатель интенсивности ($M_{cp} \pm m$) ядерной и цитоплазматической рецепции, представленный в таблице 2, также демонстрировал наличие базовой экспрессии (на стадии T_1), пик экспрессии на стадии T_2 и последующее снижение (на стадиях T_3 – T_4) (табл. 2).

Кинетика показателя интенсивности ИГХ-экспрессии в цитоплазме (Flt C) и ядре (Flt N), ассоциированного со стадией заболевания, практически повторяла кинетику другой характеристики экспрессии — процента иммунопозитивных клеток, экспрессирующих рецептор в Flt C/Flt N (рис. 2).

В целом по УМ данные, представленные в таблицах 1 и 2 и на рисунках 2 и 3, наглядно демонстрируют доминирование цитоплазматической экспрессии над ядерной по всем трем ИГХ-показателям: по количеству Flt⁺клеток, среднегрупповому показателю экспрессии и индексу соотношения Flt C/Flt N.

УМ различного гистологического строения демонстрировала разный профиль рецепции. Количество Flt-иммунопозитивных клеток в поле зрения, экспрессирующих ядерный рецептор, в эпителиоидных УМ превышало показатели веретенчатой меланомы ($p \leq 0,05$). При этом 41 % УМ, избирательно экспрессирующих Flt в ядре, достоверно чаще выявляли среди эпителиоидных опухолей (20/49; $p < 0,01$). Селективная рецепция Flt C чаще (в 60 %) встречалась среди смешанно клеточных УМ ($p < 0,01$).

Обнаружена корреляционная связь между экспрессией Flt C/Flt N, с одной стороны, и клиническими показателями — с другой. Так, связь между рецепцией Flt

Таблица 1. Продукция рецептора Flt-1 на различных стадиях УМ

Table 1. Flt-1 receptor product at various stages of UM

Стадия УМ / Stage UM	Число случаев / Number of cases	Средний процент Flt C-позитивных клеток ($M \pm m$) / Average Percentage Flt C-Positive Cells ($M \pm m$)	Средний процент Flt N-позитивных клеток ($M \pm m$) / Average Percentage Flt N Positive Cells ($M \pm m$)
$T_1N_0M_0$	9	65 \pm 23,66	33,33 \pm 23,00
$T_2N_0M_0$	25	75,71 \pm 14,2	40,00 \pm 24,5
$T_3N_0M_0$	36	68,73 \pm 6,26	26,61 \pm 5,31
$T_4N_0M_0$	28	58,94 \pm 9,5	26,61 \pm 5,3

Таблица 2. Показатели интенсивности экспрессии Flt на разных стадиях увеальной меланомы

Table 2. Indicators of the intensity of Flt expression at different stages of uveal melanoma

Показатель / Index	Ядерная экспрессия Flt в клетках УМ / Nuclear Flt expression in UM cells		Цитоплазматическая экспрессия Flt в цитоплазме клеток УМ / Flt expression in the cytoplasm of UM cells	
Всего / Total, n = 98	% Flt позитивных клеток / % Flt positive cells	Средняя градация интенсивности экспрессии / Average gradation of expression intensity	% Flt позитивных клеток / % Flt positive cells	Средняя градация интенсивности экспрессии / Average gradation of expression intensity
Стадия заболевания T ₁ / Stage T ₁				
Слабая экспрессия, градация I / Weak expression, Grade I	41,5 %	1,5	35,4 %	1,8
Умеренная экспрессия, градация II / Moderate Expression, Grade II	21,0 %		28,3 %	
Гиперэкспрессия, градация III / Hyperexpression, Grade III	37,5 %		36,3 %	
Стадия заболевания T ₂ / Stage T ₂				
Слабая экспрессия, градация I / Weak expression, Grade I	11,0 %	2,5	6,7 %	2,9
Умеренная экспрессия, градация II / Moderate Expression, Grade II	14,7 %		18,0 %	
Гиперэкспрессия, градация III / Hyperexpression, Grade III	75,3 %		75,3 %	
Стадия заболевания T ₃ / Stage T ₃				
Слабая экспрессия, градация I / Weak expression, Grade I	18,5 %	1,7	0,0 %	2,2
Умеренная экспрессия, градация II / Moderate Expression, Grade II	64,8 %		74,4 %	
Гиперэкспрессия, градация III / Hyperexpression, Grade III	16,7 %		25,6 %	
Стадия заболевания T ₄ / Stage T ₄				
Слабая экспрессия, градация I / Weak expression, Grade I	86,7 %	1,1	70,2 %	1,2
Умеренная экспрессия, градация II / Moderate Expression, Grade II	13,3 %		14,0	
Гиперэкспрессия, градация III / Hyperexpression, Grade III	0,0 %		15,8 %	

и размерами опухоли была обратной (табл. 4). По мере увеличения объема УМ снижалась экспрессия Flt C и Flt N ($p = 0,0023$ и $p = 0,00018$).

Высокодостоверная ($p = 0,0116$) обратная связь слабой силы выявлена между интенсивностью рецепции Flt C и возрастом пациента. С возрастом снижалась цитоплазматическая экспрессия Flt, ядерная экспрессия практически не менялась (н/д).

Выявлена коррелятивная связь рецептора Flt с локализацией опухоли. Так, меланома радужки отличалась присутствием клеток, избирательно экспрессирующих высокие уровни Flt C (градация III, 50,0 % клеток) на фоне отсутствия Flt N ($k = -0,39650$, $p = 0,01$).

Так, слабая связь обнаружена между интенсивностью ядерной экспрессии и процентом Flt N-позитивных клеток, с одной стороны, и пигментацией УМ — с другой ($k = 0,3511$, $p = 0,03$).

Индекс Flt N/Flt C прямо коррелировал с индексом пролиферации (коэфф. корр. $K = 0,6435$, $p < 0,001$), со степенью пигментации и баллонной дистрофией (коэфф. корр. $k = 0,4432$, $p < 0,5$ и $k = 0,3983$, $p < 0,05$), обратно коррелировал с некрозами и геморрагиями (коэфф. корр. $k = -0,5065$, $p < 0,01$, и $k = -0,4982$, $p < 0,05$ соответственно).

Заметим, при начальной УМ индекс Flt C/Flt N варьировал между 0 и 1, редко превышая 2 (3,45 % случаев, рецепция в ядре равноценна цитоплазматической). От стадии T_1 к T_3 увеличивалась общая интенсивность экспрессии Flt, что сопровождалось увеличением частоты выявления УМ с индексом Flt C/Flt N ≥ 3 .

Неблагоприятное клиническое течение УМ в виде метастазирования чаще развивалось при индексе Flt C/Flt N ≥ 3 (табл. 5).

Расчет 95 % доверительного интервала относительного риска позволяет отнести индекс Flt C/Flt N к факторам высочайшего риска развития метастазов УМ (табл. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Мы использовали УМ в качестве модели высокоагрессивной злокачественной опухоли человека, метастазирующей исключительно гематогенным путем, для изучения роли рецептора VEGF-R1/Flt-1 в патогенезе

Кинетика интенсивности экспрессии рецептора Flt-1 в ядре и цитоплазме и индекса их соотношения на разных стадиях УМ



Рис. 2. Диаграмма с демонстрацией кинетики усредненного показателя интенсивности ядерной (темно-синий цвет столбцов) и цитоплазматической (голубой цвет столбцов) экспрессии в клетках УМ. Голубая линия над столбцами демонстрирует кинетику индекса соотношения (Flt N/Flt C) на разных стадиях УМ. На оси абсцисс — стадии УМ: T_1 – T_2 – T_3 – T_4 [1–2–3–4]. На оси ординат — средняя градация интенсивности экспрессии в баллах

Fig. 2. Diagram showing the kinetics of the average intensity of nuclear (dark blue color of columns) and cytoplasmic (blue color of columns) expression in UM cells. The blue line above the columns shows the kinetics of the ratio index (Flt N/Flt C) at different stages of the UM. On the abscissa axis — UM stages: T_1 – T_2 – T_3 – T_4 [1–2–3–4]. On the axis of ordinal — the average gradation of the intensity of expression in points

Экспрессия рецептора VEGFR-1 в УМ

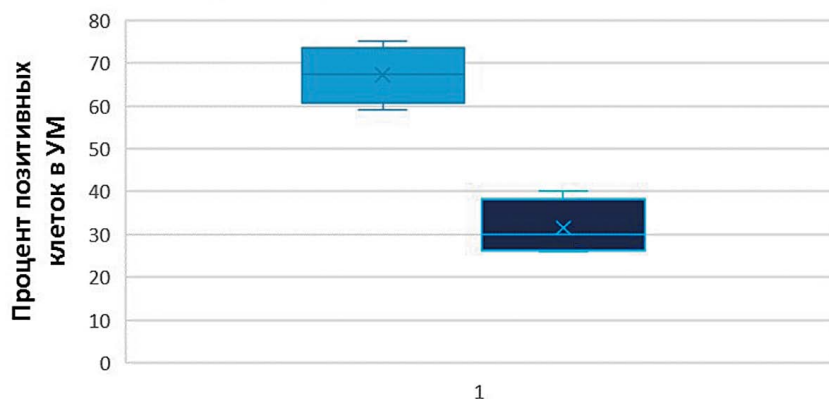


Рис. 3. Диаграмма демонстрирует размах показателей иммунопозитивных клеток УМ, экспрессирующих Flt C (голубой цвет) и Flt N (синий цвет) на разных стадиях УМ и доминирование клеток УМ, экспрессирующих Flt C в цитоплазме (достоверность различий $p < 0,01$)

Fig. 3. The diagram shows the scope of indicators of immunopositive UM cells expressing Flt C (blue) and Flt N (dark blue) at different stages of UM and the dominance of UM cells expressing Flt in the cytoplasm [reliability of the differences $p < 0.01$]

УМ. Согласно доминирующей концепции ангиогенеза в опухолях ключевую роль в развитии сосудистой сети играет молекула VEGF. Между тем, поскольку биологические эффекты VEGF реализуются через рецепторы VEGF-R1/Flt-1 и VEGF-R2/Flk-1, есть сведения о том, что эти рецепторы принимают важное участие не только в ангиогенных, но и в неангиогенных процессах. Исследований такого плана при УМ в литературе

Таблица 3. Экспрессия Flt в зависимости от гистологического строения увеальной меланомы**Table 3.** Expression of Flt depending on the histological structure of uveal melanoma

Гистологический тип УМ / Histological type UM	Средний процент Flt C-положительных клеток ($M \pm m$) / Average percentage Flt C-positive Cells ($M \pm m$)	Средний процент Flt N-положительных клеток ($M \pm m$) / Average percentage Flt N-positive Cells ($M \pm m$)
Веретенчатые УМ / Spindle cell UM ($n = 33$)	$72,3 \pm 6,7 \%$	$28,6 \pm 7,5 \%$
Смешанные УМ / Mixed cell UM ($n = 35$)	$64,1 \pm 6,4 \%$	$27,9 \pm 6,4 \%$
Эпителиоидные УМ / Epithelioid cell UM ($n = 30$)	$51,1 \pm 9,9 \%$	$49,7 \pm 12,4 \%^*$

Примечание: достоверность различий показателей Flt N между веретенчатными и эпителиоидными УМ, $p = 0,05$.

Note: reliability of differences in Flt N indicators between spindle cell and epithelial UM, $p = 0.5$.

Таблица 4. Корреляционная связь экспрессии Flt с клиническими и гистологическими показателями**Table 4.** Correlation between Flt expression and clinical, histological indicators

Показатель / Index	Коэф. корреляции, степень достоверности p / Coeff. correlation, the degree of confidence in the p	
	Процент Flt + клеток в цитоплазме УМ / Percentage of Flt + cells in the cytoplasm of UM	Процент Flt + клеток в ядре / Percentage of Flt's cells in the nucleus
Стадия УМ / Stage UM	$k = 0,6272, p < 0,05$	$k = 0,6881, p < 0,001$
Объем УМ / The volume of UM	$k = -0,5245, p < 0,01$	$k = -0,6823, p < 0,001$
Пигментация УМ / UM Pigmentation	0,1928, н.д.	$k = 0,3511, p < 0,05$
Локализация УМ / Localization of UM	$k = -0,3965, p < 0,01$	$k = -0,5451, p < 0,001$
Клеточное строение / Cellular structure	$k = 0,4371, p < 0,01$	$k = 0,5822, p < 0,001$
Возраст пациента / Patient's age	$k = -0,3871, p < 0,05$	$k = -0,2222, \text{н.д.}$

Таблица 5. Показатели смертности в зависимости от градации индекса Flt C/Flt N в увеальной меланоме**Table 5.** Mortality rates, depending on the gradation of Flt C/Flt N in uveal melanoma

Градация индекса Flt C/Flt N / Index gradations Flt C/Flt N	Метастазирование / Metastasis (%)	Всего / Total
≤ 1	12,5*	9
$> 1, \text{но} < 3$	29,3	41
≥ 3	35,4	48

Примечание: * $p \leq 0,05$, достоверность различий в сравнении с градацией ≥ 3 .

Note: * $p \leq 0.05$ the validity of the differences in comparison with the gradation of ≥ 3 .

Таблица 6. Показатели 95 % доверительного интервала при оценке индекса Flt C / Flt N в качестве фактора риска развития метастазов**Table 6.** Indicators of 95 % confidence interval when assessing the Flt C / Flt N index as a risk factor for metastases

Показатели относительного риска / Relative risk indicators		Границы 95 % доверительного интервала / 95 % confidence interval boundaries	
		Левая / Left	Правая / Right
Odds-ratio	26,3	3,3	207,9
Risk-ratio	17,4	2,4	125,3

Примечание: достоверность различий $p = 0,00000$ ($p < 0,001$).

Note: reliability of differences $p = 0,00000$ ($p < 0,001$).

практически не представлено. Между тем они имеют не только научное, но и большое практическое значение, поскольку могут стать обоснованием для соответствующей таргетной терапии УМ. Кроме того, мы полагали, что такие сведения также могут объяснить причины и раскрыть возможные пути формирования резистентности к лучевой и химиотерапии УМ.

Несмотря на то что VEGF-R1/Flt-1 был открыт первым среди рецепторов, информация о нем крайне противоречива. До сих пор нет единого мнения о месте экспрессии или «точной клеточной локализации»,

мало изучены механизмы действия, не изучена его роль в патогенезе опухолей. Между тем место экспрессии рецептора определяет его значение в физиологии клетки. Долгие годы считали, что, будучи тирозинкиназным рецептором, Flt-1 экспрессируется исключительно на цитоплазматической мембране. Основанием для такой гипотезы служило ошибочное представление, что лиганд VEGF не способен проникать через клеточную оболочку, а связываться с рецептором он может только на ее поверхности. В качестве доказательства мембранной локализации VEGF-R1

принимали факт подавления активности рецептора моноклональными антителами *in vitro* на клеточных линиях рака толстой кишки [17, 18].

Исходя из этой гипотезы признавали аутокринный и/или паракринный путь активации Flt-1 молекулой VEGF, продуцируемой опухолевыми клетками микроокружения. Позднее VEGF-R1 был идентифицирован внутри клетки [19]. В частности, методом конфокальной микроскопии Flt-1 обнаружен в ядре клеток карциномы молочной железы. Сама по себе внутриклеточная локализация рецептора не позволяла сделать вывод о спектре его функциональной активности. Теоретически он мог депонироваться в цитоплазме, не участвуя в трансдукции сигнала. Но наличие Flt-1 в ядре с большой вероятностью свидетельствует о его стратегической роли в физиологии опухолевой клетки. Высказано предположение о возможности интракринной стимуляции рецептора лигандом. Это в корне меняло существовавшие ранее представления [20].

Был предложен другой механизм действия VEGF-R1, связанный не с мембранной, а с внутриклеточной локализацией рецептора. В дальнейшем эта гипотеза получила подтверждение. Эмпирически на примере карциномы слизистой ротовой полости было установлено, что ингибиторы тирозинкиназ, не проникающие через цитоплазматическую мембрану, не оказывают терапевтического эффекта, что указывало на внутриклеточную локализацию

рецептора [21]. В 2016 году с помощью иммунокопреципитации на 4-клеточных линиях колоректального рака доказано, что рецептор-лигандное взаимодействие VEGF с VEGF-R1 происходит внутри клетки [22]. Показано, что ингибирование лиганда или рецептора путем РНК-интерференции приводит к подавлению апоптотических Akt- и ERK-киназных каскадов. Эксперты пришли к выводу о важности активности Flt-1 для реализации механизма передачи сигнала от VEGF [22]. Доказано, что VEGF индуцирует экспрессию антиапоптотических молекул, включая ингибиторы каспаз Bcl-2 и A1 и белки семейства IAP (ингибиторы апоптоза) (рис. 4) [23].

Таким образом, к настоящему дню признаны ангиогенные и «неангиогенные» биологические эффекты Flt-1. В контексте ангиогенеза физиологическое назначение Flt-1 состоит в ограничении избыточного формирования кровеносных сосудов во время эмбрионального развития: либо за счет растворимых изоформ, либо путем конкурентного связывания с лигандом. Однако более важны «неангиогенные» эффекты рецептора. В частности, особого внимания заслуживают доказательства антиапоптотического действия Flt-1, что позволяет наделить рецептор защитными функциями: повышать выживаемость, усиливать злокачественный фенотип в опухолевых клетках. Кроме того, в экспериментах *in vitro* продемонстрировано усиление миграционных, инвазивных и пролиферативных свойств опухоли в ответ

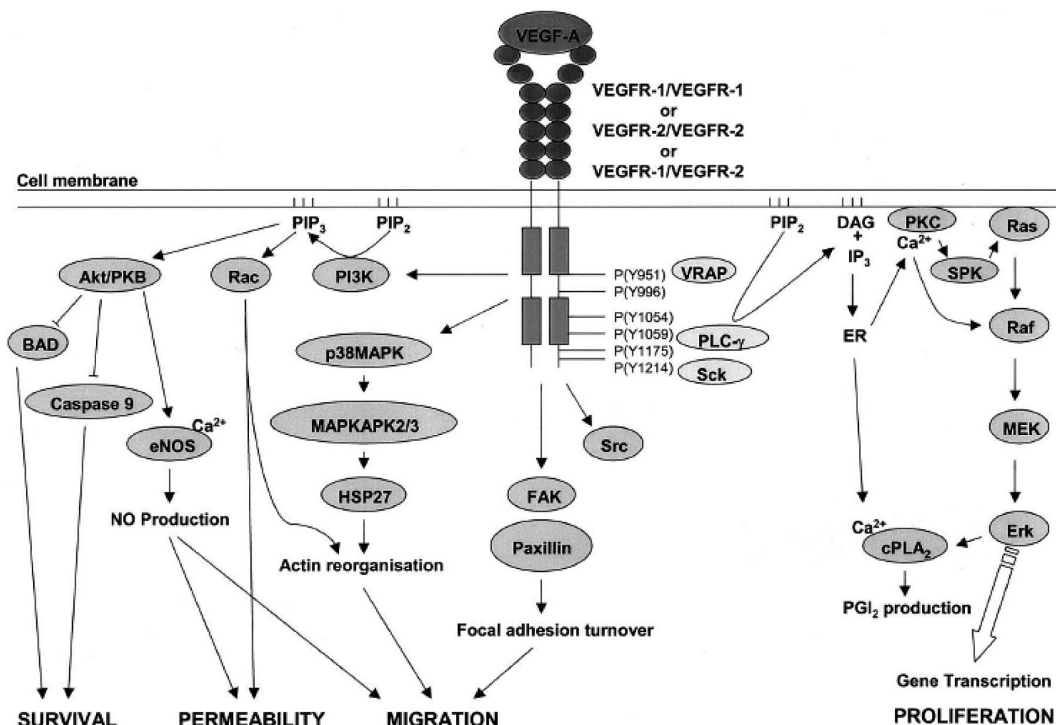


Рис. 4. Активация сигнальных путей в результате взаимодействия молекулы VEGF со специфическими рецепторами. Ras-сигналинг (справа) индуцирует пролиферацию эндотелиоцитов (ангиогенный эффект), а PI3K/Akt-путь (слева) — их выживаемость и проницаемость сосудов — неангиогенный эффект [A. Hoeben, 2004]

Fig. 4. Activation of signaling pathways as a result of the interaction of the VEGF molecule with specific receptors. Ras-signaling (right) induces the proliferation of endothelial cells (angiogenic effect), and PI3K/Akt-pathway (left) — their survival and vascular permeability non-angiogenic effect [A. Hoeben, 2004]

на стимуляцию рецептора Flt-1 лигандами VEGF-A и B. Блокада Flt-1 специфическими антителами подавляла эти реакции [17, 24].

Вклад Flt-1 в прогрессию опухолей был подтвержден на 11 клеточных линиях карциномы поджелудочной железы и 2 линиях рака толстой кишки. Методом вестерн-блоттинга авторы доказали факт экспрессии VEGF-R1/Flt-1 (но не VEGF-R2) вышеперечисленными клеточными линиями.

Наряду с этим продемонстрирован вклад Flt-1 в формирование у опухолевых клеток не только высокой выживаемости, но и резистентности к лучевому воздействию или химиотерапии. Так, в исследованиях *in vitro* на нескольких первичных клеточных линиях карциномы слизистой ротовой полости была доказана повышенная устойчивость к γ -облучению клеток, экспрессирующих VEGF-R1/Flt-1 [25]. Y. Huang и соавт. экспериментально на тех же клеточных линиях [26] продемонстрировали, что опухолевые клетки с высокой экспрессией Flt1⁺ малочувствительны к 5-фторурацилу по сравнению с Flt1⁻ клетками. Таким образом, по мнению экспертов, рецептор VEGF-R1 типа может вносить ощутимый вклад в выживаемость неопластических клеток, усиливать их инвазивный и метастатический потенциал, а также резистентность к лучевой терапии и химиотерапии [25, 26].

Из-за высокого потенциала к безудержной пролиферации, повышенной выживаемости и резистентности к лучевой и химиотерапии Flt⁺ опухолевых клеток некоторые эксперты предложили рассматривать VEGF-R1 в качестве маркера «стволовых» клеток опухоли.

Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что клетки УМ активно экспрессируют рецептор Flt в цитоплазме и ядре, что свидетельствует о высокоангиогенном фенотипе этой опухоли. Кинетика ядерной и цитоплазматической экспрессии рецептора, корреляционная связь экспрессии со стадией заболевания, гистологическим типом опухоли и ее морфологическими характеристиками косвенно подтверждают возможность его участия в активации сигнальных путей подавления апоптоза, усиления пролиферации и малигнизации.

Выявленные корреляционные связи показателей экспрессии Flt с исходами неопластического процесса (метастазированием) подтверждают важную роль этого маркера в патогенезе и его потенциал в прогнозе УМ.

Высокая экспрессия этого рецептора в УМ, возможно, объясняет высокую резистентность к химиотерапии.

С другой стороны, мы не исключаем в будущем возможность эффективного терапевтического воздействия через ингибирование или блокирование рецептора VEGF-R1. В настоящее время тирозинкиназы, к которым относятся рецепторы VEGF-R1 и VEGF-R2, признаны одним из важнейших звеньев в передаче сигналов в клетке. Фармацевтические инновации для борьбы с этим процессом предложили ингибиторы тирозинкиназ в качестве точечной таргетной терапии злокачественных опухолей. Возможность молекулярно-направленного воздействия на рецептор уже нашла подтверждение в экспериментальных и клинических исследованиях, проведенных на разных типах опухолей [26]. Так, при введении в аденокарциному молочной железы, перевитую бестимусным мышам, синтетического олигонуклеотида, блокирующего образование mVEGF-R1 и увеличивающего выход растворимых изоформ рецептора, наблюдали уменьшение объема опухоли до 88,9 % и снижение плотности микрососудов до 50 %.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать следующие выводы.

Экспрессия VEGF-R1/Flt-1 является очень важной характеристикой ангиогенного фенотипа УМ. В подавляющем большинстве УМ имеет место экспрессия рецептора VEGF-R1/Flt-1 в ядре и цитоплазме опухолевых клеток.

Изучены и описаны общие закономерности экспрессии VEGF-R1/Flt-1 на разных стадиях опухолевого роста.

Выявленные корреляционные связи показателей экспрессии VEGF-R1/Flt-1 с объемом и гистологическим типом опухоли, стадией заболевания и метастазированием позволяют считать Flt-1 важным показателем, ассоциированным с патогенезом и прогнозом увеальной меланомы и потенциальной мишенью для таргетной терапии.

Прогностическим неблагоприятным фактором в аспекте прогноза риска развития метастазов следует считать индекс соотношения Flt C/Flt N ≥ 3 .

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Лихванцева В.Г. — написание статьи, дизайн исследования, научное редактирование;
Анурова О.А. — выполнение исследований, сбор материала, интерпретация результатов;
Астахова С.Е. — сбор клинического материала, подготовка и анализ результатов;
Верецагина М.В. — сбор клинического материала, техническое редактирование, оформление библиографии;
Ованесян В.Э. — подготовка иллюстраций; сбор материала, статистический анализ данных;
Степанова Е.В. — непосредственное проведение исследования, интерпретация результатов, подготовка к публикации иллюстративного материала.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Карамышева А.Ф. Ангиогенез опухоли: механизмы, новые подходы. В кн.: Канцерогенез. Под ред. Д.Г. Заридзе. М.: Научный мир, 2000. [Karamysheva A.F. Tumor angiogenesis: mechanisms, new approaches. In the book: Carcinogenesis. Ed. by D.G. Zaridze. Moscow: Scientific World: 2000 (In Russ.).]
2. Holmes K., Roberts O.L., Thomas A.M., Cross M.J. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal. journal*. 2007;19(10):2003–2012. DOI: 10.1016/j.cellsig.2007.05.013
3. Stuttfeld E., Ballmer-Hofer K. Structure and function of VEGF receptors. *IUBMB Life*. 2009;61(9):915–922. DOI: 10.1002/iub.234
4. Gabrilove J.L. Angiogenic growth factors: Autocrine and paracrine regulation of survival in hematologic malignancies. *Oncologist*. 2001;6(Suppl. S5):4–7. DOI: 10.1634/theoncologist.6-suppl_5-4
5. Li B., Xiu R. Angiogenesis: From molecular mechanisms to translational implications. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2013;54(4):345–355. DOI: 10.3233/CH-121647
6. C  be-Suarez S., Zehnder-Fj  llman A., Ballmer-Hofer K. The role of VEGF receptors in angiogenesis; complex partnerships *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(5):601–615. DOI: 10.1007/s00018-005-5426-3
7. Dvorak A.M., Feng D. The vesiculo-vacuolar organelle: a new endothelial cell permeability organelle. *J. Histochem. Cytochem.* 2001;49(4):419–432. DOI: 10.1177/002215540104900401
8. Esser S., Wolburg K., Wolburg H., Breier G., Kurzchalia T., Risau W. Vascular endothelial growth factor induces endothelial fenestrations in vitro. *J. Cell Biol.* 1998;140(4):947–959. DOI: 10.1083/jcb.140.4.947

9. Roberts W.G., Palade G.E. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. *J. Cell Sci.* 1995;108(Pt 6):2369–2379.
10. Hanks S.K., Quinn A.M., Hunter T. The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science.* 1988;241(4861):42–52. DOI: 10.1126/science.3291115
11. Dengjel J., Kratchmarova I., Blagoev B. Receptor tyrosine kinase signaling: a view from quantitative proteomics. *Mol Biosyst.* 2009;5(10):1112–1121. DOI: 10.1039/b909534a
12. Hoeben A., Landuyt B., Highley M.S., Wildiers H., Van Oosterom A.T., De Bruijn E.A. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis *Pharmacological Reviews.* 2004;56(4):549–580. DOI: 10.1124/pr.56.4.3
13. Garg G., Finger P.T., Kivelä T.T., Simpson E.R., Gallie B.L., Saakyan S. Patients presenting with metastases: stage IV uveal melanoma, an international study. *Br J Ophthalmol.* 2021;0:1–8. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2020-317949
14. Brierley J., Gospodarowicz M.K., Wittekind C. (eds.) TNM classification of malignant tumours, Eighth edition edn. Oxford, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2017. 272 p. ISBN: 978-1-119-26357-9
15. Heegaard S., Jensen O.A., Prause J.U. Immunohistochemical diagnosis of malignant melanoma of the conjunctiva and uvea: comparison of the novel antibody against melan-A with S100 protein and HMB-45. *Melanoma Res.* 2000;10(4):350–354. DOI: 10.1097/00008390-200008000-00006
16. Dabbs D.J. Diagnostic immunohistochemistry. 5th Ed. Churchill Livingstone, Philadelphia. 2002. 641 p. ISBN: 9780323551601
17. Fan F., Wey J.S., McCarty M.F., Belcheva A., Liu W. Expression and function of vascular endothelial growth factor receptor-1 on human colorectal cancer cells. *Oncogene.* 2005;24(16):2647–2653. DOI: 10.1038/sj.onc.1208246
18. Vincent L. Fetal stromal-dependent paracrine and intracrine vascular endothelial growth factor- α /vascular endothelial growth factor receptor-1 signaling promotes proliferation and motility of human primary myeloma cells. *Cancer Res.* 2005;65(8):3185–3192. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3598
19. Тырси́на Е.Г. VEGF-R1 как потенциальная молекулярная мишень для противоопухолевой терапии. Доклады Академии Наук. (Биохимия, биофизика, молекулярная биология). 2018;478(2):236–239. [Tyrsina E.G. VEGF-R1 as a potential molecular target for anticancer therapy. Reports of the Academy of Sciences. (Biochemistry, biophysics, molecular biology) = *Doklady Akademii Nauk. Biohimiya, biofizika, molekulyarnaya biologiya.* 2018;478(2):236–239 (In Russ.)].
20. Lee T.H. Vascular Endothelial Growth Factor Mediates Intracrine Survival in Human Breast Carcinoma Cells through Internally Expressed VEGFR1/FLT1. *PLoS Med.* 2007;4(6):1001–1016. DOI: 10.1371/journal.pmed.0040186
21. Van Limbergen E.J., Zabrocki P., Porcu M., Hauben E., Cools J., Nuyts S. FLT1 kinase is a mediator of radioresistance and survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Acta Oncol.* 2004;53(5):637–645. DOI: 10.3109/0284186X.2013.835493
22. Bhattacharya R., Xiang-Cang Ye, Rui Wang, Xia Ling, McManus M., Fan Fan, et al. Intracrine VEGF Signaling Mediates the Activity of Prosurvival Pathways in Human Colorectal Cancer Cells. *Cancer Res.* 2016;76(10):3014–3024. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1605
23. Tran J., Rak J., Sheehan C., Saibil S.D., LaCasse E., Korneluk R.G. Marked induction of the IAP family antiapoptotic proteins survivin and XIAP by VEGF in vascular endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999;264:781–788. DOI: 10.1006/bbrc.1999.1589
24. Wey J.S., Fan F., Gray M.J., Bauer T.W., McCarty M.F., Somcio R. Vascular endothelial growth factor receptor-1 promotes migration and invasion in pancreatic carcinoma cell lines *Cancer.* 2005;104(2):427–438. DOI: 10.1002/cncr.21145
25. Owen L.A., Uehara H., Cahoon J. Morpholino-mediated increase in soluble Flt-1 expression results in decreased ocular and tumor neovascularization. *PLoS One.* 2012;7(3):e33576. DOI: 10.1371/journal.pone.0033576

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»
Лихванцева Вера Геннадьевна
доктор медицинских наук, профессор кафедры офтальмологии
Волоколамское шоссе, 91, Москва, 125310, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-3175-9592>

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Анурова Ольга Александровна
кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом отделения № 3 (онкопатология)
ул. Академика Опарина, 4, Москва, 117997, Российская Федерация

Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»
Астахова Светлана Евгеньевна
кандидат медицинских наук, кафедра офтальмологии
Волоколамское шоссе, 91, Москва, 125310, Российская Федерация

ГБУ «Детская городская поликлиника № 15» Департамента здравоохранения г. Москвы, Амбулаторно-поликлинический центр
Верещagina Марина Владимировна
кандидат медицинских наук, врач
Коптевский бульвар, 18, корп. 1, Москва, 125239, Российская Федерация

ГБУЗ МО «Егорьевская центральная районная больница»
Ованесян Владимир Эдуардович
заведующий отделением офтальмологии
Жукова гора, 19, Егорьевск, Московская область, 140304, Российская Федерация

НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
Степанова Евгения Владиславовна,
доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории изучения механизмов ангиогенеза
Каширское шоссе, 23, Москва, 23115478, Российская Федерация

ABOUT THE AUTHORS

Academy of Postgraduate Education of the Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of FMBA of Russia
Likhvantseva Vera G.
MD, Professor, department of ophthalmology
Volokolamsk highway, 91, Moscow, 125310, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-3175-9592>

National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I. Kulakov
Anurova Olga A.
PhD, pathologist of the pathology department No. 3 (oncopathology)
Academician Oparin str., 4, Moscow, 117997, Russian Federation

Academy of Postgraduate Education of the Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Medical Assistance and Medical Technologies of FMBA of Russia
Astakhova Svetlana E.
MD, department of ophthalmology
Volokolamsk highway, 91, Moscow, 125310, Russian Federation

Children's City Polyclinic No 15, Ambulatory and Polyclinic Center
Vereshchagina Marina V.
PhD, doctor
Koptev blvd., 18/1, Moscow, 125239, Russian Federation

Yegoryev Central District Hospital
Ovanesian Vladimir E.
head of the department of ophthalmology
Zhukova Mountain, 19, Yegoryevsk, Moscow Region, 140304, Russian Federation

Research Institute of Experimental Diagnosis and Therapy of Tumors of National Medical Research Center of Oncology named after N.N. Blokhin
Stepanova Evgenia V.
PhD, Professor, head of the laboratory for the study of angiogenesis mechanisms
Kashirskoye highway, 23, Moscow, 115478, Russian Federation