

**В.Е. Жильчук**  
**И.И. Лисняк**  
**А.Л. Воронцова**  
**Ю.И. Кудрявец**  
**В.Ф. Чехун**

Ровенский областной  
 онкологический диспансер,  
 Ровно

Институт экспериментальной  
 патологии, онкологии  
 и радиобиологии  
 им. Р.Е. Кавецкого  
 НАН Украины, Киев, Украина

**Ключевые слова:** рак молочной  
 железы, комплексное лечение,  
 интерферон альфа-2b,  
 эффективность, фактор роста  
 эндотелия сосудов (VEGF),  
 ангиогенез, лимфогенное  
 метастазирование.

## ИНГИБИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ИНТЕРФЕРОНА-АЛЬФА НА УРОВЕНЬ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ

**Резюме.** Установлено, что включение рекомбинантного интерферона альфа-2b (ИФН) в схему комплексного лечения больных раком молочной железы (РМЖ) (89 пациенток) сопровождается достоверным ( $p < 0,05$ ) снижением частоты случаев прогрессирования заболевания в течение 36 мес наблюдения (на 36,4–27,2% в зависимости от степени метастатического поражения регионарных лимфоузлов (РЛУ) — N0–N2). Исходный уровень фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в сыворотке крови (СК) больных РМЖ значительно превышает таковой здоровых женщин (50 нг/мл) и колеблется в пределах  $264,7 \pm 4,5$  —  $438,2 \pm 6,8$  нг/мл. Уровень VEGF прямо зависит ( $p < 0,001$ ) от степени вовлечения в процесс РЛУ. После лучевой терапии и хирургического вмешательства уровень VEGF в СК больных значительно ( $p < 0,001$ ) возрастает. Длительная ИФН-терапия в неoadъювантном и адъювантном режиме по разработанным схемам сопровождается достоверным снижением ( $p < 0,001$ ) уровня VEGF; в контрольной группе его уровень продолжал оставаться высоким до конца наблюдения. Ретроспективный анализ материалов показал, что уровень VEGF в СК больных РМЖ коррелирует с их клиническим статусом.

Информация о том, что вокруг опухоли имеет место активация ангиогенеза (АнгГ), появилась еще около 100 лет назад; в 1968 г. была сформулирована гипотеза, согласно которой опухоль продуцирует диффузно распространяющуюся «ангиогенную» субстанцию, а в 1971 г. J. Folkman высказал предположение, что опухолевый рост и метастазирование являются АнгГ-зависимыми процессами и, следовательно, блокирование АнгГ может рассматриваться как стратегия ингибирования опухолевого роста [1]. Позднее было показано, что приобретение клетками способности стимулировать АнгГ является одним из ключевых событий их малигнизации, и что только при этом условии может возникнуть первичный очаг злокачественного роста [1, 2]. Данная концепция теперь используется для разработки стратегии лечения при злокачественных новообразованиях и предотвращения развития рецидивов и метастазов; она стимулировала интенсивный поиск про- и антиангиогенных молекул и композиций.

В настоящее время внимание онкологов привлекает исследование многочисленных факторов и сигналов, запускающих или, напротив, блокирующих АнгГ. Согласно современным представлениям основным регулятором опухолюассоциированного АнгГ, а следовательно, промотором роста опухоли и ее метастазов является фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor —

VEGF) [3]. Интерферон (ИФН), наиболее изученный и широко применяющийся в онкологической клинике представитель семейства цитокинов, обладающий полипотентным эффектом, в последнее время рассматривают как один из важнейших природных компонентов противоопухолевой и антиметастатической защиты именно в связи с его антиангиогенной активностью. В основе этого свойства ИФН лежит прямое подавление транскрипции им гена VEGF и продукции этого и других проангиогенных факторов роста, подавление продукции металлопротеиназ и IL-8. Особенно заметно проявляется антиангиогенное действие ИФН при терапии высокоvascularизированных опухолей нервной и эндокринной систем человека, а также гемангиом: известны случаи полного излечения тяжелого гемангиоматоза с поражением кожи, печени и сердца путем монотерапии подкожными инъекциями ИФН-альфа в течение 12 мес. В сравнении с классическими ингибиторами АнгГ — ангиостатином и эндостатином ИФН-альфа оказался более эффективным ингибитором; показано, что он вызывает апоптотическую гибель эндотелиальных клеток и деструкцию опухолевых кровеносных капилляров, в частности в опухолях мозга, что приводит к резкому уменьшению их объема. Особенно эффективным выглядело комбинированное применение ежедневных инъекций небольших доз ИФН и антиан-

гиогенного фактора гемцитабина — использование комбинации этих препаратов сопровождалось подавлением метастазирования и редукцией массы карциномы поджелудочной железы, имплантированной бестимусным мышам, почти на 90% [4]. В наших исследованиях при терапии саркомы Капоши ИФН также проявлял себя не только как противоопухолевый, но скорее как антиангиогенный фактор [5]. Важно, что ИФН подавляет не только АнгГ в опухолях, но может также подавлять продукцию ангиогенных факторов и неоваскуляризацию в окружающих опухоль здоровых тканях.

Прямые доказательства роли ИФН в обеспечении всего спектра противоопухолевых реакций организма, включая антиангиогенез, были получены в недавних экспериментах с внедрением гена ИФН в опухолевые клетки с помощью электропорации. Эта процедура сопровождалась полной регрессией опухолей у половины животных. Последующий генетический анализ показал, что эффект обусловлен активацией в опухолях спектра именно тех клеточных генов, которые подавляют АнгГ и опухолевый рост, увеличивают экспрессию других генов-супрессоров и вызывают гибель опухолевых клеток [6]. Цель настоящей работы — изучение характера накопления VEGF в сыворотке крови (СК) больных раком молочной железы (РМЖ) при различных схемах терапии, а также влияния на уровень VEGF ИФН при его включении в комплексные схемы лечения.

### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 89 больных РМЖ стадии T1-2N0-2M0, которым в предоперационный период проводили курс крупнофракционной телегамма-терапии (ТГТ) на опухоль (СОД 30 Гр) с радикальным хирургическим лечением через 24–48 ч после завершения курса лучевой терапии (ЛТ). В адъювантном режиме все больные получали полихимиотерапию (ПХТ) по схемам АС или CMF. Все пациентки были разделены на 2 группы: контрольную (I) и основную (II), каждая из которых в свою очередь состояла из 3 подгрупп в зависимости от степени распространения опухолевого процесса на регионарные лимфоузлы (РЛУ): отсутствие метастатического поражения РЛУ определяли как N0, поражение 1–3 РЛУ — как N1, поражение 4–9 РЛУ — как N2. В ходе работы учитывали также размеры первичной опухоли и особенности ее гистологической структуры. Больных обеих групп рандомизировали по стадии заболевания, гистологической структуре опухоли, по характеру проведенного лечения (ПХТ, ЛТ, гормонотерапия). У пациенток основной группы вышеуказанные схемы традиционного лечения дополняли курсами ИФН-терапии (в работе применяли препараты рекомбинантного альфа-2b ИФН). Цитокин вводили перитуморально по 6 млн международных единиц (МЕ) в течение 5 дней за 30 мин до начала облучения; на 5–6-е сутки после опера-

ции ИФН в дозе 12–15 млн МЕ вводили в дренаж для орошения операционной раны; суммарную дозу ИФН доводили до 30 млн МЕ путем в/м инъекций. Последующие курсы ИФН-терапии проводили одновременно с ПХТ путем в/м инъекций препарата в дозе 3 млн МЕ ежедневно в течение 10 дней (1 курс); перерывы между курсами составляли 20 дней. Суммарная доза ИФН за весь период лечения составляла 180–240 млн МЕ.

СК онкологических больных получали до начала лечения, после завершения курса ЛТ, на 14-е сутки после операции, в дальнейшем — на протяжении всего курса лечения (6–7 мес) и хранили при –20 °С до использования. Контролем служили СК клинически здоровых женщин. Определение уровня VEGF в СК проводили с помощью иммуноферментного метода. Главным компонентом в схеме определения был конъюгат поликлональных антител к очищенному опухолевому ангиогенному фактору с пероксидазой, который получали с использованием периодатного метода. Концентрацию VEGF в нг/мл определяли, используя калибровочную кривую, полученную при титровании в аналогичных условиях очищенного VEGF [12].

Эффективность применения ИФН оценивали по его влиянию на частоту прогрессирования заболевания и частоту связанных с этим летальных исходов при наблюдении пациенток в течение 36 мес.

Статистический анализ результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента, а также коэффициента корреляции.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что включение рекомбинантного альфа-2b ИФН в схему комплексного лечения больных РМЖ сопровождается значительным снижением частоты случаев прогрессирования заболевания (при 36 мес наблюдения на 36,4–27,2%). Эффективность ИФН в значительной степени зависит от метастатического поражения РЛУ. Как видно из представленных данных (таблица), применение ИФН позволило предотвратить рецидивирование опухоли и процесс метастазирования у всех больных с N0, в значительной мере подавить его у больных с N1-2. Коэффициент корреляции эффективности применения ИФ составлял 0,90.

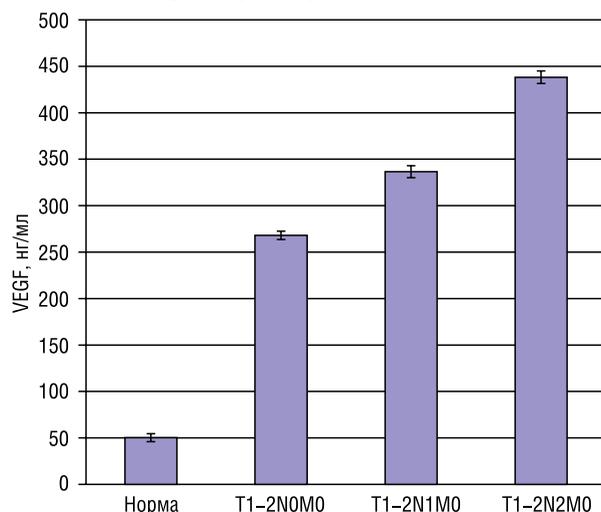
Таблица

Влияние ИФН на эффективность комплексного лечения больных РМЖ в зависимости от степени поражения РЛУ (N0, N1, N2), 3-летнее наблюдение

Показатель	N0		N1		N2	
	ИФН	Конт-роль	ИФН	Конт-роль	ИФН	Конт-роль
Количество больных, n	8	11	12	14	22	22
Ремиссия, n (%)	8 (100,0)	7 (63,6)	10 (83,3)	7 (50,0)	14 (63,6)	8 (36,4)
Прогрессия, n (%)	0 (0,0)	4 (36,4)	2 (16,7)	7 (50,0)	8 (36,4)	14 (63,6)
Летальный исход, n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (21,4)	4 (18,2)	7 (31,8)

Мониторинг содержания VEGF в СК больных РМЖ показал, что исходный (до начала лечения)

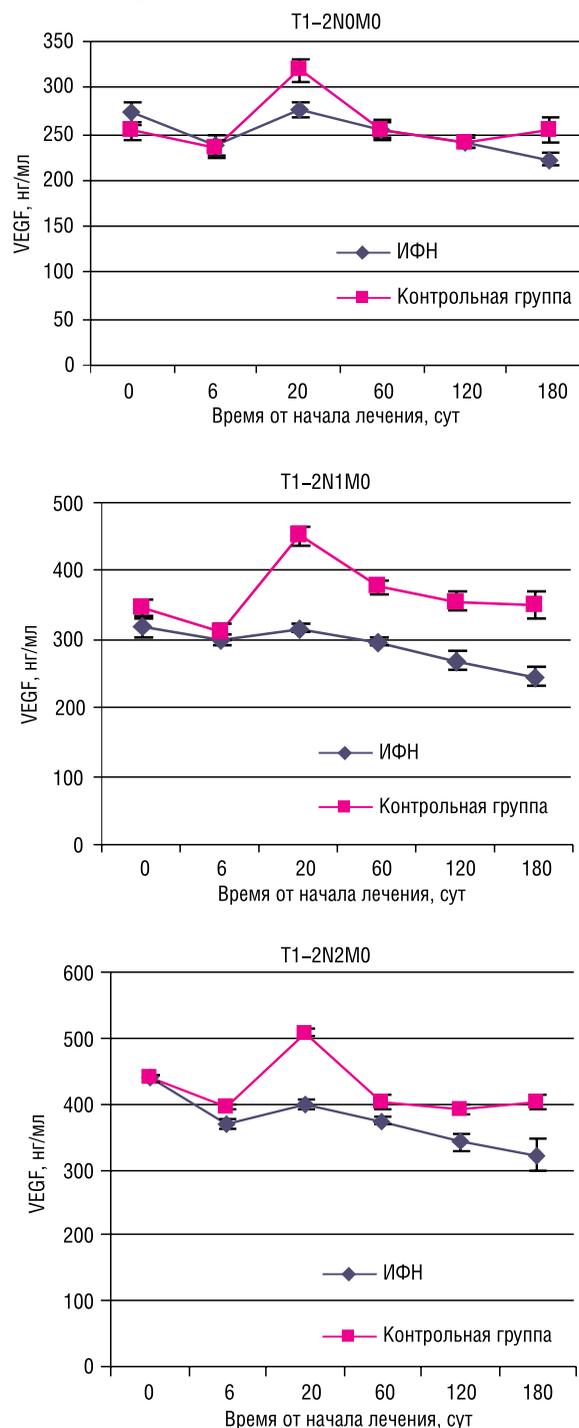
уровень этого фактора значительно ( $p < 0,00001$ ) превышает таковой в СК здоровых женщин. Уровень VEGF прямо зависит от степени распространенности опухолевого процесса на РЛУ — возрастание числа пораженных метастазами РЛУ сопровождалось достоверным ( $p < 0,001$ ) возрастанием накопления VEGF (рис. 1). Сравнительный анализ не выявил взаимосвязи размеров опухоли, ее гистологической структуры с уровнем VEGF.



**Рис. 1.** Уровень VEGF в СК больных РМЖ в зависимости от степени вовлечения РЛУ в метастатический процесс

Изучение динамики уровня VEGF в СК больных в процессе лечения (рис. 2) показало, что на 6-е сутки (после завершения курса ЛТ) имеет место достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение этого показателя у пациентов основной группы. В последующий период (20-е сутки после начала ЛТ и 14-е сутки после операции) наблюдалось резкое повышение уровня VEGF у больных контрольной группы. Степень этого повышения не зависела прямо от степени вовлечения в процесс РЛУ, однако у больных со стадией N1-2 уровень VEGF был на 42–49% выше, чем у больных с N0 (см. рис. 2). Выявленное повышение уровня VEGF, наиболее вероятно, обусловлено физиологическим повышением уровня всех ангиогенных факторов в ответ на хирургическое вмешательство. Последствия такого повышения, особенно для больных со стадией N1-2, могут носить крайне негативный характер, поскольку уровень VEGF четко ассоциирован с распространенностью процесса [7]. Применение ИФН предотвращало резкое повышение VEGF: если в контрольной группе его уровень возрастал в среднем на  $35,2 \pm 4,8\%$ , то в основной — лишь на  $8,2 \pm 2,4\%$  ( $p < 0,01$ ), то есть в 4 раза меньше. В дальнейшем (60–180-е сутки) наблюдали постепенное снижение «постхирургического» уровня VEGF, причем характер этого снижения четко зависел от метастатического поражения РЛУ (см. рис. 2). При N0 уровень VEGF в контрольной группе снижался до исходного, в основной — стал на 22,6% ниже такового ( $p < 0,01$ ). При N1-2 у больных контрольной группы уровень VEGF до исходного не снижался; в основной группе — снижение содержания VEGF до исходного

было уже на 60-й день и продолжалось до конца лечения ИФН. На завершающей стадии лечения (180-й день) уровень VEGF в контрольной группе больных с N1-2 был существенно выше ( $p < 0,001$ ), чем у больных аналогичных подгрупп, прошедших ИФН-терапию. Следует заметить, что у больных основной группы независимо от поражения РЛУ уровень VEGF в СК упал на 20–29% ниже такового до начала лечения ( $p < 0,01$ ).



**Рис. 2.** Динамика изменения уровня VEGF в СК пациентов с РМЖ в процессе лечения

Таким образом, проведенные исследования показали, что включение в схему комплексного лечения больных РМЖ ИФН сопровождается достовер-

ным снижением уровня VEGF в СК больных, что свидетельствует об антиангиогенном эффекте этого цитокина. Статистическая обработка материалов позволяет с вероятностью 0,90 утверждать, что показатели уровня VEGF коррелируют с эффективностью проводимой терапии

Обсуждая результаты мониторинга уровня VEGF в СК больных РМЖ в процессе комплексного лечения и сопоставляя их с клинической эффективностью проводимого лечения, следует заметить, что они четко перекликаются с результатами наших предыдущих исследований, выявивших связь уровня VEGF в СК больных раком тела и шейки матки с распространенностью опухолевого процесса [7].

В данном исследовании не выявлена связь уровня VEGF в СК с размерами опухоли или ее гистологическим типом, но выявлена четкая взаимосвязь между уровнем VEGF и степенью вовлечения в процесс РЛУ. Учитывая важную прогностическую роль степени вовлечения в опухолевый процесс РЛУ, а также наличие определенных проблем в диагностике опухолевого поражения аксилярного коллектора при РМЖ [8], можно сделать вывод о важности определения уровня VEGF у больных РМЖ, что может служить дополнительным показателем вовлечения аксилярного коллектора в метастазирование и основанием для изменения тактики лечения.

Выявленная нами связь степени поражения РЛУ с уровнем VEGF может также свидетельствовать об информативности последнего для оценки лимфогенного метастазирования как такового. Следует отметить, что в последние годы возросло внимание к распространению опухолевого процесса через сеть лимфатических капилляров опухоли и, следовательно, к опухолевому лимфангиогенезу [9–11]. В настоящее время уже четко показано, что плотность лимфатической сети в опухоли и прилежащих тканях является важным прогностическим фактором распространенности процесса и вовлеченности РЛУ. Открытия последних лет [9–13] позволили идентифицировать конкретные лиганды и рецепторы, обеспечивающие опухолевый лимфангиогенез и лимфогенное метастазирование (VEGF-C/D и рецептор VEGF-R3), а также изолировать чистые популяции лимфатических эндотелиальных клеток и идентифицировать маркеры для дискриминации в опухоли лимфатических капилляров от кровеносных (lymphatic vessel hyaluronan receptor-1 — LYVE-1; PROX-1 и подоплантин) [14]. В последние годы все чаще ставится вопрос о лимфангиогенезе как мишени противоопухолевой и антиметастатической терапии [9, 15]. Экспериментальные исследования показали, что выключение активности комплекса VEGF-C/VEGF-R3 значительно подавляет лимфангиогенез и лимфогенное метастазирование [15–18].

Мы связываем эффективность ИФН в лечении больных РМЖ и с его активностью в качестве ингибитора лимфангиогенеза. Такое мнение обосновано,

кроме изложенного выше, и результатами исследований, показавших, что ИФН подавляет пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток лимфатических капилляров, а также вызывает их апоптотическую гибель [19]. Кроме того, ИФН подавляет экспрессию всех субтипов VEGF и его рецепторов [20–22]. Еще одним свидетельством высокой активности ИФН относительно опухолевого лимфангиогенеза являются многочисленные клинические наблюдения эффективности ИФН при терапии различных тяжелых форм лимфангиоматоза — полного излечения удавалось добиться даже в условиях монотерапии ИФН [23–25].

Повышение результатов лечения обусловлено также, по нашему мнению, применением неoadъювантного перитуморального введения ИФН. Такой подход позволяет прямо воздействовать ИФН на опухолевые клетки, что сопровождается подавлением их пролиферации и подвижности, экспрессии в них гипоксия-индуцибельного и ангиогенных факторов [26], приводит к повышению их чувствительности к ЛТ, повышению экспрессии на их поверхности ряда антигенов, улучшающих иммунное распознавание и т. д. При таком способе применения ИФН, конечно, сохраняется и его системное действие, обеспечивающее активацию ряда специфических и неспецифических противоопухолевых реакций организма. Однако прежде всего используется способ оказывает антиметастатический эффект, механизм которого кроется, как мы полагаем, в локальном действии ИФН на опухолевое микроокружение. Характер этого действия многогранен: прежде всего это мощное подавляющее действие на продукцию опухолюассоциированными макрофагами протеиназ и эндотелиальных факторов роста, прежде всего лимфотропного VEGF-C [22, 26–28]. Перитуморальное введение ИФН, а также орошение ИФН послеоперационной раны позволяют через сеть лимфатических капилляров предотвратить лимфатическую диссеминацию опухоли: прямо воздействовать на опухолевые клетки в лимфатических капиллярах и РЛУ, подавить послеоперационный АнгГ и прежде всего лимфангиогенез. В литературе имеется ряд сообщений, свидетельствующих о возможности усиления метастазирования вследствие лучевого воздействия на опухоль [29, 30], поэтому ИФН, применяемый локально одновременно с ЛТ, позволил предотвратить ее возможные негативные последствия.

Отдельного обсуждения заслуживают данные о значительном возрастании уровня VEGF в СК больных после хирургического вмешательства. Подобное возрастание, видимо, является нормальной физиологической реакцией, возникающей вследствие послеоперационного воспаления и регенерации тканей. Однако подобная реакция при наличии опухолевого процесса (в виде «дремлющих» метастазов) является крайне нежелательной. Одно время длительно дискутировались возможные ме-

ханизмы феномена активации метастазирования после хирургического удаления первичной опухоли, отмеченного как в экспериментальных моделях, так и в клинической практике. Наличие в настоящее время обширной информации о физиологии цитокинов позволяют заключить, что в процесс активации метастазирования вовлечены именно ангиогенные факторы (возможно весь их спектр). Они могут функционировать и как позитивные ростовые факторы, стимулирующие пролиферацию опухолевых клеток, и как чисто ангиогенные и лимфангиогенные факторы, стимулирующие рост капилляров, обеспечивающих повышенный метаболизм в метастатических зачатках. Результаты недавнего исследования этих аспектов метастазирования действительно подтвердили факты стимуляции АнгГ и метаболизма в микрометастазах, а также смещения в них баланса между апоптозом и пролиферацией в сторону последней в результате хирургического удаления первичной опухоли [31–33]. Применение нами ИФН в неoadъювантном и адъювантном режиме по схеме, описанной в данной работе, позволило нивелировать многие негативные с точки зрения усиления метастазирования последствия оперативного вмешательства. Ранее этот эффект ИФН был впервые продемонстрирован нами и в эксперименте [34].

Приведенные выше факты свидетельствуют о важности контроля уровня ангиогенных факторов в крови онкологических пациентов и необходимости применения антиангиогенной терапии как обязательного компонента комплексного лечения больных РМЖ.

## ВЫВОДЫ

Включение ИФН в неoadъювантном и адъювантном режиме в схему комплексного лечения больных РМЖ сопровождается достоверным снижением на 36,4–27,2% частоты случаев прогрессирования заболевания в течение 36 мес; эффективность ИФН-терапии зависит от степени поражения РЛУ (N0-N2).

Исходный уровень VEGF в СК больных РМЖ значительно ( $p < 0,00001$ ) превышает таковой у здоровых женщин, прямо зависит от степени метастатического поражения РЛУ и не зависит от размеров опухоли и ее гистологического типа.

Хирургическое вмешательство сопровождается значительным ( $p < 0,001$ ) возрастанием уровня VEGF в СК больных РМЖ контрольной группы (не получавших ИФН).

Применение ИФН в неoadъювантном режиме снижает уровень VEGF в крови больных РМЖ в ходе ЛТ и препятствует его послеоперационному возрастанию.

Длительное (6–7 мес) применение ИФН в адъювантном режиме сопровождается стойким и достоверным снижением уровня VEGF в СК больных РМЖ по сравнению с таковым у больных контрольной

группы, где уровень VEGF продолжал оставаться высоким до конца наблюдения.

Снижение уровня VEGF в СК больных, получавших ИФН, коррелировало с их клиническим статусом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; **407**: 249–57.
2. Gullino PM. Angiogenesis and oncogenesis. *J Natl Cancer Inst* 1978; **61**: 39–43.
3. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int* 1999; **56**: 794–814.
4. Solorzano CC, Hwang R, Baker CH, et al. Administration of optimal biological dose and schedule of interferon alpha combined with gemcitabine induces apoptosis in tumor-associated endothelial cells and reduces growth of human pancreatic carcinoma implanted orthotopically in nude mice. *Clin Cancer Res* 2003; **9** (5): 1858–67.
5. Стойка РС, Якимович ІА, Антоненко СВ та ін. Дослідження ролі трансформуючих факторів росту у хворих на СНІД та саркому Капоші. *Биополимеры и клетка* 1997; **13** (6): 497–503.
6. Li S, Xia X, Zhang X, Suen J. Regression of tumors by IFN- $\alpha$  electroporation gene therapy and analysis of the responsible genes by cDNA array. *Gene Ther* 2002; **9** (6): 390–7.
7. Лісняк ІО, Алістратов ОВ, Вінницька АБ та ін. Зв'язок рівня фактора росту ендотеліальних клітин з поширеністю пухлинного процесу у хворих на рак тіла або шийки матки. *Онкологія* 2002; **4** (3): 188–90.
8. Щепотін ІБ, Олійниченко ГП, Анікусько МФ та ін. Доцільність проведення біопсії пограничних лімфатичних вузлів для прогнозування метастатичного ураження аксиллярного колектора у хворих на ранній рак грудної залози. *Вісник наукових досліджень* 2007; **3**: 78–9.
9. Tobler NE, Detmar M. Tumor and lymph node lymphangiogenesis – impact on cancer metastasis. *J Leukoc Biol* 2006; **80** (4): 691–6.
10. Das S, Skobe M. Lymphatic vessel activation in cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2008; **1131**: 235–41.
11. Achen MG, Stacker SA. Molecular control of lymphatic metastasis. *Ann NY Acad Sci* 2008; **1131**: 225–34.
12. Sundar SS, Ganesan TS. Role of lymphangiogenesis in cancer. *J Clin Oncol* 2007; **25** (27): 4298–307.
13. Breslin JW, Gaudreault N, Watson KD, et al. Vascular endothelial growth factor-C stimulates the lymphatic pump by a VEGF receptor-3-dependent mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; **293**: H709–18.
14. Kawai Y, Hosaka K, Kaidoh M, et al. Heterogeneity in immunohistochemical, genomic, and biological properties of human lymphatic endothelial cells between initial and collecting lymph vessels. *Lymphat Res Biol* 2008; **6** (1): 15–27.
15. Wissmann C, Detmar M. Pathways targeting tumor lymphangiogenesis. *Clin Cancer Res* 2006; **12** (23): 6865–8.
16. He XW, Yu X, Liu T, et al. Vector-based RNA interference against vascular endothelial growth factor-C inhibits tumor lymphangiogenesis and growth of colorectal cancer in vivo in mice. *Chin Med J (Engl)* 2008; **121** (5): 439–44.
17. Rebhun RB, Langley RR, Yokoi K, et al. Targeting receptor tyrosine kinase on lymphatic endothelial cells for the therapy of colon cancer lymph node metastasis. *Neoplasia* 2006; **8** (9): 747–57.
18. He Y, Kozaki K, Karpanen T, et al. Suppression of tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis by blocking vascular endothelial growth factor receptor 3 signaling. *J Natl Cancer Inst* 2002; **94** (11): 819–25.
19. Shao X, Liu C. Influence of IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  on lymphangiogenesis. *J Interferon Cytokine Res* 2006; **26** (8): 568–74.

20. Zhu Y, Tibensky I, Schmidt J, *et al.* Interferon-alpha in combination with chemotherapy has potent antiangiogenic properties in an orthotopic mouse model for pancreatic adenocarcinoma. *J Immunother* 2008; **31** (1): 28–33.

21. Yurkovetsky ZR, Kirkwood JM, Edington HD, *et al.* Multiplex analysis of serum cytokines in melanoma patients treated with interferon-alpha2b. *Clin Cancer Res* 2007; **13** (8): 2422–8.

22. Wu WZ, Sun HC, Shen YF, *et al.* Interferon alpha 2a down-regulates VEGF expression through PI3 kinase and MAP kinase signaling pathways. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; **131** (3): 169–78.

23. Ozeki M, Funato M, Kanda K, *et al.* Clinical improvement of diffuse lymphangiomatosis with pegylated interferon alfa-2b therapy: case report and review of the literature. *Pediatr Hematol Oncol* 2007; **24** (7): 513–24.

24. Chen YL, Lee CC, Yeh ML, *et al.* Generalized lymphangiomatosis presenting as cardiomegaly. *J Formos Med Assoc* 2007; **106** (3 Suppl): S10–4.

25. Takahashi A, Ogawa C, Kanazawa T, *et al.* Remission induced by interferon alfa in a patient with massive osteolysis and extension of lymph-hemangiomas: a severe case of Gorham-Stout syndrome. *J Pediatr Surg* 2005; **40** (3): E47–50.

26. Schoppmann SF, Fenzl A, Schindl M, *et al.* Hypoxia inducible factor-1alpha correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006; **99** (2): 135–41.

27. Schoppmann SF, Fenzl A, Nagy K, *et al.* VEGF-C expressing tumor-associated macrophages in lymph node positive breast cancer: impact on lymphangiogenesis and survival. *Surgery* 2006; **139** (6): 839–46.

28. Rinderknecht M, Detmar M. Tumor lymphangiogenesis and melanoma metastasis. *J Cell Physiol* 2008; **216** (2): 347–54.

29. von Essen CF. Radiation enhancement of metastasis: a review. *Clin Exp Metastasis* 1991; **9**: 77–104.

30. Camphausen K, Moses MA, Beecken WD, *et al.* Radiation therapy to a primary tumor accelerates metastatic growth in mice. *Cancer Res* 2001; **61**: 2207–11.

31. Peeters CF, Westphal JR, de Waal RM, *et al.* Vascular density in colorectal liver metastases increases after removal of the primary tumor in human cancer patients. *Int J Cancer* 2004; **112**: 554–9.

32. Peeters CF, de Waal RM, Wobbes T, *et al.* Outgrowth of human liver metastases after resection of the primary colorectal tumor: a shift in the balance between apoptosis and proliferation. *Int J Cancer* 2006; **119**: 1249–53.

33. Scheer MGW, Stollman TH, Vogel WV, *et al.* Increased metabolic activity of indolent liver metastases after resection of a primary colorectal tumor. *J Nucl Med* 2008; **49** (6): 887–91.

34. Воронцова А.Л., Кудрявец Ю.И., Фадеев В.А., Балицкий К.П. Антиметастатическое действие интерферона при хирургическом удалении экспериментальных опухолей. *Эксперимент онкол* 1983; **5** (5): 45–9.

## INHIBITING INFLUENCE OF INTERFERON-ALPHA ON THE LEVEL OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN BLOOD SERUM OF BREAST CANCER PATIENTS UNDERGOING COMBINED THERAPY

V.E. Zhilchuk, I.I. Lisnyak, A.L. Vorontsova,  
Yu.I. Kudryavets, V.F. Chekhun

**Summary.** *It has been shown, that introduction of interferon-alpha2b (IFN) into combined schemes of therapy of breast cancer patients (n = 89) determines the decrease of the number of cases of disease progression by 36.4–27.2% during 36 months of follow-up period dependent on the degree of lymph node metastasis (N0–N2). The VEGF baseline in blood serum of breast cancer patients is significantly higher than that in blood serum of healthy women (50 ng/ml) and varies from 264.7 ± 4.5 to 438.2 ± 6.8 ng/ml. VEGF level directly depends also on the degree of involvement of regional lymph nodes in tumor progression — an increase of the number of lymph nodes metastases is accompanied by significant (p < 0.001) elevation of VEGF accumulation in blood serum. It has been shown that VEGF level became significantly elevated (p < 0.001) after radiotherapy and surgery of the breast cancer patients. Prolonged therapy with IFN at neoadjuvant and adjuvant regimens by developed schemes is accompanied with significant decrease (p < 0.001) of VEGF level. In control group of breast cancer patients who did not receive IFN, VEGF level continued to be high up to the end of observation period. Retrospective analysis of the materials has shown that VEGF level correlates with clinical status of patients.*

**Key Word:** breast cancer, combined therapy, interferon-alpha2b, efficacy, vascular endothelial growth factor, angiogenesis, lymphogenic metastasis.

### Адрес для переписки:

Воронцова А.Л.  
03022, Киев, ул. Васильковская, 45  
Институт экспериментальной патологии,  
онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого  
НАН Украины