ДИНАМИКА VEGF У ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ РАЗЛИЧНОГО ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ТИПА

© А.П. Трашков¹, Н.А. Верлов¹, М.Р. Артеменко¹, В.А. Печатникова¹, М.А. Зелененко², М.А. Пахомова³, А.Г. Васильев³

¹ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра „Курчатовский институт“, Санкт-Петербург;

² ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург;

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

Для цитирования: Трашков А.П., Верлов Н.А., Артеменко М.Р., и др. Динамика VEGF у лабораторных грызунов с трансплантированными экспериментальными новообразованиями различного гистологического типа // Педиатр. – 2018. – Т. 9. – № 3. – С. 49–56. doi: 10.17816/PED9349-56

Поступила в редакцию: 14.05.2018

Принята к печати: 21.06.2018

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) является одним из наиболее важных цитокинов, обеспечивающих пролиферацию, миграцию и дифференцировку эндотелиоцитов в норме и при патологии. Это обуславливает его вовлеченность в патогенез опухолевого процесса, в частности в механизмы неоангиогенеза – развитие сети кровеносных сосудов в опухоли и прилегающих к ней участках неизмененных тканей. Подавляющее большинство современных антиангиогенных препаратов имеют в качестве мишени VEGF и/или рецепторы к нему. Вместе с тем общепринятые, детально описанные и рекомендованные к внедрению в практику доклинических исследований модели онкологических заболеваний *in vivo* в настоящее время отсутствуют. В исследовании на экспериментальных опухолях различного гистологического типа, интенсивности опухолевого процесса и локализации была изучена динамика VEGF на различных стадиях заболевания. Продemonстрировано, что развитие экспериментальных трансплантируемых опухолей различного гистологического типа и локализации, как правило, сопровождается увеличением содержания VEGF в крови подопытных животных, динамика которого зависит от интенсивности опухолевого процесса. У мышей-самцов линии BALB/c с трансплантированной подкожно экспериментальной аденокарциномой толстой кишки на фоне активного развития опухоли на 45-е сутки эксперимента наблюдалось статистически значимое снижение уровня VEGF по сравнению со значением в предыдущей контрольной точке исследования (30-е сутки). Полученные данные указывают на необходимость проведения специального исследования для уточнения механизмов такой динамики VEGF. Показано, что наиболее оптимальными для исследования фармакологической активности препаратов, нацеленных на элиминацию VEGF, являются лимфосаркома Плисса и лимфоцитарная лейкемия P-388.

Ключевые слова: неоангиогенез; факторы роста; VEGF; опухоль; лимфосаркома Плисса; АКАТОЛ; лимфоцитарная лейкемия P-388; опухоль яичника крыс; доклинические испытания.

VEGF DYNAMICAL CHANGES IN LABORATORY RODENTS WITH TRANSPLANTED EXPERIMENTAL TUMORS OF VARIOUS HISTOLOGICAL TYPES

© A.P. Trashkov¹, N.A. Verlov¹, V.R. Artemenko¹, V.A. Pechatnikova¹, M.A. Zelenenko², M.A. Pahomova³, A.G. Vasiliev³

¹ St. Petersburg Institute of Nuclear Physics named after B.P. Konstantinov, Saint Petersburg, Russia;

² Sechenov Institute of Ephysiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;

³ St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia

For citation: Trashkov AP, Verlov NA, Artemenko VR, et al. VEGF dynamical changes in laboratory rodents with transplanted experimental tumors of various histological types. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2018;9(3):49-56. doi: 10.17816/PED9349-56

Received: 14.05.2018

Accepted: 21.06.2018

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is one of the most important cytokines in charge of proliferation, migration and differentiation of endothelial cells in physiological and pathological processes. Because of this they are involved in pathogenesis of neoplastic process namely mechanisms of neoangiogenesis – development of blood-vessels' network in the tumor as well as adjoining intact tissues. Almost all contemporary antiangiogenic medicines are targeted at either

VEGF or its receptors. However, there are practically no conventional models of oncologic pathology nowadays described in detail and recommended for preclinical studies. The present study focuses at changes of VEGF concentrations at various stages of disease using experimental tumors of different histological types, intensity of neoplastic growth and localization. Development of experimental transplantable tumors of various histological types and locations has been demonstrated to be usually accompanied by increased VEGF blood serum concentration in experimental animals; the dynamic of this increase depending upon the intensity of the tumor growth. A statistically valid decrease of VEGF level in comparison with the previous control point of the study has been demonstrated in BALB/c male mice with subcutaneously transplanted colonic adenocarcinoma on the background of active development of the tumor at the 45th day of the study. Pliss' Lymphoma, and Lymphocytic Leukemia P-388 models have been demonstrated to be optimal for the assessment of medicines' aimed at VEGF elimination pharmacological activity.

Keywords: neoangiogenesis; growth factors; VEGF; tumor; Pliss Lymphosarcoma; lymphoma; Acatol; Lymphocytic Leukemia P-388; rat ovarian tumor; preclinical studies.

Развитие широкой сети кровеносных сосудов в тканях опухоли и перитуморальной области и поддержание высокой скорости этого процесса, эквивалентной темпу нарастания массы опухолевого узла, являются важными компонентами патогенеза злокачественных новообразований любых локализации и исходного гистологического типа. Накоплено большое количество результатов экспериментальных и клинических исследований, указывающих на большое значение неоангиогенеза в процессах роста и метастазирования опухолей и в развитии осложнений онкологических заболеваний (геморрагический и гиперкоагуляционный синдромы, анемия) [2, 3, 5, 15, 22].

Важная роль кровеносных сосудов в развитии новообразований прежде всего обусловлена внутренними метаболическими, пролиферативными и миграционными потребностями опухолей. Даже несмотря на способность опухолевых клеток длительное время существовать в условиях ограниченного притока кислорода и питательных соединений, обеспечивая синтез макроэргических молекул за счет активации анаэробных механизмов получения энергии, любая неопластическая клетка для быстрой и полной реализации программы клеточного цикла все-таки нуждается в адекватной доставке кислорода [4, 7, 8]. Неоангиогенез необходим для прогрессивного нарастания опухолевой массы, сдерживаемой естественными ограничениями, накладываемыми законами диффузии: без инициации прорастания кровеносных сосудов в формирующуюся опухоль последняя не сможет достичь размеров, превышающих 1–3 мм в диаметре, что было показано в изящных экспериментах Джудом Фолкманом более 45 лет назад [16].

В настоящее время выделены и достаточно подробно охарактеризованы несколько сотен различных про- и антиангиогенных факторов, оказывающих влияние на функциональную активность различных клеток, входящих в состав сосудистой стенки — эндотелиоцитов, фибробластов, глад-

комышечных клеток и перицитов, а также вызывающих деградацию или организацию базальной мембраны эндотелия и интерстициального матрикса [14, 19]. В значительной степени эти соединения продуцируются непосредственно опухолевыми клетками, но сходный спектр веществ, обладающих ангиогенной и провоспалительной активностью, характерен и для активированных клетками опухоли мигрирующих эндотелиоцитов, фибробластов, паравазальных макрофагов и клеток нейроглии, в результате чего формируется двойная система инициации и регуляции неоангиогенеза.

Несмотря на большое количество описанных ангиогенных соединений, в патофизиологии и клинической онкологии традиционно основное внимание уделяется цитокинам семейства сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) [1, 9, 11, 17]. VEGF был открыт в 1989 г. Наполеоном Фаррара (N. Ferrara) как селективный гепаринзависимый фактор пролиферации эндотелиоцитов. За это открытие, положившее начало целенаправленному поиску методов антиангиогенной терапии в онкологии, Н. Фаррара в 2010 г. был удостоен премии Ласкера–Дебейки в области клинических исследований. Следует отметить, что предшественником Н. Фаррара в вопросе изучения VEGF является профессор Гарольд Дворак (H. Dvorak), в 1983 г. описавший это соединение в качестве фактора, усиливающего проницаемость кровеносных сосудов.

VEGF, основной вклад в продукцию которого в норме вносят эндотелиоциты [12], стимулирует митоз, хемотаксис и локомоторную активность эндотелиоцитов и обладает возможностью блокировать механизмы апоптоза этих клеток [10]. Кроме того, одно из важных свойств этого соединения — способность усиливать транскапиллярный обмен, увеличивая проницаемость сосудов микроциркуляторного русла.

Ключевая роль неоангиогенеза в патогенезе онкологических заболеваний делает этот компонент опухолевого процесса привлекательной мишенью

для целенаправленного терапевтического воздействия. При этом подавляющее большинство разрабатываемых лекарственных препаратов направлены на элиминацию VEGF или блокирование его рецепторов [6, 18]. Вместе с тем, несмотря на большой объем проведенных исследований и детальное патогенетическое обоснование, использование антиангиогенных препаратов в онкологии до сих пор ограничено и в ряде случаев носит эмпирический характер. Ряд исследователей указывают также на недостаточную клиническую эффективность применения антиангиогенной терапии с одновременным увеличением токсичности химиопрепаратов при некоторых онкологических заболеваниях [21], сокращение длительности безрецидивного периода, усиление динамики развития новообразований и их инвазивного и метастатического потенциала [13, 20]. Очевидно, что эти вопросы требуют более глубокого изучения и пристального внимания к доклиническому этапу испытаний перспективных ангиогенных препаратов.

Учитывая все вышеизложенное, а также тот факт, что тест-системы *in vivo* для экспериментальных и доклинических исследований лекарственных средств, предназначенных для таргетной терапии опухоль-ассоциированного неоангиогенеза, детально не описаны и не включены в соответствующие руководства и методические рекомендации, нам представлялось интересным изучить динамику содержания VEGF в крови подопытных животных при развитии злокачественных новообразований различного гистологического типа и скорости развития патологического процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 60 самцов-альбиносов и 42 самки-альбиноса серых крыс (*Rattus norvegicus*; John Berkenhout, 1769), массой тела 190–220 г, 48 самцов мышей линии BALB/c массой тела 22–24 г и 42 самца мышей CDF₁ (BALB/c (самка) × DBA/2 (самец)) массой тела 26–28 г. Животные были получены из специализированного питомника — ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская область).

Содержание, питание, выведение животных из эксперимента и утилизация биологических отходов проводились в соответствии с российскими и международными нормативными актами, регламентирующими работу с лабораторными животными, и правилами биоэтики.

Для моделирования опухолевого процесса были использованы следующие штаммы злокачественных новообразований, полученные в лаборатории канцерогенеза и старения (НИИ он-

кологии им. проф. Н.Н. Петрова): лимфосаркома Плисса (ЛФС), перевиваемая асцитная опухоль яичника крыс (ОЯ), аденокарцинома толстой кишки (АКАТОЛ) и лимфоцитарная лейкемия Р-388 (Р-388). Выбор штаммов опухолей обусловлен их различным гистологическим типом, темпами развития и распространения в организме животного с вовлечением в патологический процесс различных органов и систем, а также высокой биологической эквивалентностью с онкологическими заболеваниями, регистрируемыми у человека (новообразования крови и кроветворных органов, рак яичника, колоректальный рак).

Воспроизведение опухолевого процесса осуществляли общепринятым способом путем прямой трансплантации злокачественных клеток, полученных от животных-опухоленосителей:

- 1) лимфосаркома Плисса — в объеме 10^3 клеток в 0,2 мл 0,9 % раствора натрия хлорида на животное, подкожно в область правого бока крыс;
- 2) перевиваемая асцитная опухоль яичника крыс — в объеме 0,5 мл смеси асцитной жидкости с 0,9 % раствором натрия хлорида в соотношении 1 : 4, интраперитонеально;
- 3) аденокарцинома толстой кишки — в объеме 0,2 мл взвеси опухолевой массы в 0,9 % растворе натрия хлорида в соотношении 1 : 10, подкожно в область правого бока;
- 4) лимфоцитарная лейкемия Р-388 — в объеме 0,2 мл смеси асцитной жидкости с 0,9 % раствором натрия хлорида в соотношении 1 : 4, интраперитонеально.

Были выделены следующие экспериментальные группы.

1. Контроль (крысы-самцы) — здоровые интактные животные ($n = 12$).
2. Контроль (крысы-самки) — здоровые интактные животные ($n = 12$).
3. Контроль (мыши линии BALB/c) — здоровые интактные животные ($n = 12$).
4. Контроль (мыши CDF₁ (BALB/c (самка) × DBA/2 (самец))) — здоровые интактные животные ($n = 12$).
5. Лимфосаркома Плисса — животные с трансплантированной лимфосаркомой Плисса ($n = 48$).
6. Опухоль яичника — животные с трансплантированной перевиваемой асцитной опухолью яичника крыс ($n = 30$).
7. АКАТОЛ — животные с трансплантированной аденокарциномой толстой кишки ($n = 36$).
8. Р-388 — животные с трансплантированной лимфоцитарной лейкемией Р-388 ($n = 30$).

Взятие крови производили путем транскутанной пункции сердца животных в условиях общего нар-

коза (золетил — 2,0 мл/кг массы тела) в вакуумные системы Monovette в объеме 6,0 и 1,5 мл для крыс и мышей соответственно. Обработку крови осуществляли сразу после ее взятия. Для получения обогащенной тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали с ускорением 240 g в течение 7 минут и последующим перенесением плазмы в другую пробирку. Обогащенную тромбоцитами плазму получали из обогащенной путем повторного центрифугирования с ускорением 1200 g в течение 15 минут. Полученный материал переносили в эпипендорф и замораживали при температуре минус 20–22 °C до проведения анализа. Максимальный срок криоконсервации не превышал 4 месяца.

Концентрацию VEGF в крови животных оценивали методом иммуноферментного анализа при помощи наборов реактивов компании Cusabio (Китай) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

Учитывая среднюю продолжительность жизни подопытных животных и динамику развития экспериментальных новообразований, установленных в ходе предварительных исследований, уровень VEGF определяли у животных с лимфосаркомой Плисса на 5, 10, 15 и 20-е сутки от момента трансплантации новообразования, с аденокарциномой толстой кишки — на 15, 30 и 45-е сутки, с перевиваемой опухолью яичника крыс — на 4-е и 8-е сутки и с лимфоцитарной лейкемией Р-388 — на 5-е и 8-е сутки.

Статистический анализ полученных результатов производили при помощи пакета программ SPSS. Характер распределения данных проверяли путем расчета критерия Колмогорова–Смирнова. Средние данные независимых выборок сравнивали при

помощи *t*-критерия Стьюдента (при нормальном характере распределения вариантов в выборочной совокупности) и *U*-критерия Манна–Уитни (при распределении вариантов, отличном от нормального). Средние данные зависимых выборок сравнивали при помощи χ^2 -критерия Фридмана. Точные доверительные интервалы (ДИ) для долей вычисляли по методу Клоппера–Пирсона с помощью программы CONFINT. Достоверным уровнем отличий считали вероятность не менее 95 % ($p < 0,05$), что является стандартом в медико-биологических исследованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Трансплантация всех изучаемых штаммов опухолей была успешной в 100 % случаев. Средняя продолжительность жизни крыс с лимфосаркомой Плисса составляла $27,4 \pm 1,15$ сут (медиана — 28,0 сут), у крыс с асцитной опухолью яичника — $11,3 \pm 2,02$ сут (медиана — 7,0 сут), у мышей с аденокарциномой толстой кишки — $62,4 \pm 4,45$ сут (медиана — 60 сут), у мышей с лимфоцитарной лейкемией Р-388 — $10,0 \pm 0,51$ сут (медиана — 9,0 сут).

Анализ содержания VEGF в крови подопытных животных установил существенные отличия динамики этого показателя при развитии опухолей различного гистологического типа и активности патологического процесса.

Уровень VEGF у крыс с солидной лимфосаркомой Плисса медленно нарастал по мере роста первичного опухолевого узла и распространения ЛФС в организме животного ($\chi^2 = 10,571$; $p = 0,005$; рис. 1). К 15-м суткам от момента перевивки новообразования концентрация VEGF

Рис. 1. Динамика содержания VEGF (а) в сыворотке крови крыс-самцов на различных этапах развития и увеличения размеров (б) трансплантированной подкожно лимфосаркомы Плисса. Примечание: *отличие от группы «Контроль» достоверно на принятом уровне значимости ($p < 0,05$)

Fig. 1. VEGF concentration dynamics (a) in blood serum of male rats at various stages of subcutaneously transplanted Pliss' Lymphoma growth (b). * valid distinction from control ($p < 0,05$)

Рис. 2. Динамика содержания VEGF (а) в сыворотке крови мышей-самцов линии BALB/c на различных этапах развития трансплантированной подкожно экспериментальной аденокарциномы толстой кишки (b). Примечание: *отличия от группы «Контроль» достоверно на принятом уровне значимости ($p < 0,05$)

Fig. 2. VEGF concentration dynamics (a) in blood serum of BALB/c male mice at various stages of subcutaneously transplanted experimental colonic adenocarcinoma growth (b). * valid distinction from control ($p < 0,05$)

в крови крыс-опухоленосителей была достоверно в среднем в 2,6 раза выше, чем у контрольных животных ($p = 0,009$). В дальнейшем у крыс с ЛФС наблюдалось незначительное увеличение содержания VEGF, статистически значимо не отличающееся от показателей, регистрируемых на 15-е сутки (см. рис. 1). Такое резкое снижение темпов роста уровня исследуемого фактора может быть объяснено общим ухудшением состояния подопытных животных к 20-м суткам эксперимента вследствие опухолевой интоксикации.

Динамика VEGF в крови животных на модели аденокарциномы толстой кишки, медленно растущей солидной опухоли (рис. 2), имела существенно иной характер, чем в группе «Лимфосаркома Плисса» (см. рис. 1). Высокие, статистически значимо отличающиеся от контрольных показатели значения этого фактора регистрировались на всем протяжении исследования уже с 15-х суток — периода начала выявления единичных опухолевых узлов (у 11 % мышей; 4 из 36 особей). К 30-м суткам отмечалось максимальное содержание VEGF в крови мышей, которое затем резко снижалось к 45-м суткам от начала эксперимента ($p = 0,031$, рис. 2).

Причины такого изменения концентрации VEGF в крови мышей BALB/c с аденокарциномой толстой кишки в рамках нашего исследования остаются непонятными. На 45-е сутки от момента трансплантации АКАТОЛ сохранялась достаточная, сопоставимая с аналогичным показателем на 30-е сутки эксперимента скорость увеличения объема опухолевого узла (см. рис. 2). При этом клинически значимых признаков опухолевой интоксикации у подопытных животных не отмечалось.

Уровень VEGF у животных с высокоинвазивными, исходно генерализованными (асцитными) опухолями быстро повышался и достигал максимальных значений к моменту их гибели. Кривые концентрации VEGF и у мышей CDF₁ с лейкозом P-388, и у крыс с опухолью яичника имели сходный вид (рис. 3, 4). При этом у мышей с перевитым лейкозом P-388 наблюдались статистически значимые отличия от контрольных значений изучаемого показателя на всем протяжении эксперимента (см. рис. 3). У животных с асцитной опухолью яичника отмечалась умеренная тенденция к нарас-

Рис. 3. Динамика содержания VEGF в сыворотке крови мышей самцов CDF₁ (BALB/c (самка) × DBA/2 (самец)) с трансплантированной внутрибрюшинно лимфоцитарной лейкемией P-388. Примечание: *отличия от группы «Контроль» достоверно на принятом уровне значимости ($p < 0,05$)

Fig. 3. VEGF concentration dynamics in blood serum of CDF₁ (BALB/c (female) × DBA/2 (male)) male mice at various stages of intraperitoneally transplanted lymphocytic leukemia. * valid distinction from control ($p < 0,05$)

Рис. 4. Динамика содержания VEGF в сыворотке крови крыс самок с трансплантированной внутрибрюшинно опухолью яичников

Fig. 4. VEGF concentration dynamics in blood serum of female rats at various stages of subcutaneously transplanted ovarian tumor growth

танию содержания VEGF по мере развития новообразования (см. рис. 4).

Результаты исследования у крыс этой экспериментальной группы отличались большой вариативностью, особенно на поздних сроках наблюдения, что можно объяснить высокой инвазивностью и тропностью этой опухоли к кровеносным сосудам. В 93 % случаев непосредственной причиной гибели подопытных животных являлось массивное кровотечение в брюшную полость.

ВЫВОДЫ

1. Развитие экспериментальных трансплантируемых опухолей различных гистологического типа и локализации, как правило, сопровождается увеличением содержания VEGF в крови подопытных животных, динамика которого зависит от интенсивности опухолевого процесса.
2. У мышей-самцов линии BALB/c с трансплантированной подкожно экспериментальной аденокарциномой толстой кишки на фоне активного развития опухоли на 45-е сутки эксперимента наблюдалось статистически значимое снижение уровня VEGF по сравнению со значением в предыдущей контрольной точке исследования (30-е сутки). Полученные данные указывают на необходимость проведения специального исследования для уточнения механизмов такой динамики VEGF.
3. Результаты исследования позволяют рекомендовать трансплантируемые опухоли «лимфосаркома Плисса» и «лимфоцитарная лейкемия Р-388» в качестве тест-систем для проведения экспериментальных и доклинических исследований таргетных антиангиогенных препаратов как наи-

более оптимальные по срокам развития новообразований и достоверным изменениям содержания VEGF, сопряженных с интенсивностью опухолевого процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герштейн Е.С., Щербаков А.М., Алиева С.К., и др. Фактор роста эндотелия сосудов в опухолях и сыворотке больных раком молочной железы: связь с клинко-морфологическими факторами // Вестник РОНЦ имени Н.Н. Блохина РАМН. – 2005. – Т. 16. – № 1–2. – С. 26–30. [Gershteyn ES, Shcherbakov AM, Alieva SK, et al. Vascular endothelial growth factor in tumors and serum of breast cancer patients: relation to clinicomorphological factors. *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*. 2005;16(1-2): 26-30. (In Russ.)]
2. Жуков Б.Н. Фотодинамическая терапия в комплексном лечении и реабилитации больных с острыми тромбозами глубоких вен нижних конечностей на фоне онкопатологии / Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции «Посттромботическая болезнь»; Санкт-Петербург; 2009 г. – СПб.: СПбГУ, 2009. – С. 14–16. [Zhukov BN. Photodynamic therapy in the complex treatment and rehabilitation of patients with lower extremities deep veins acute thrombosis on the background of oncopathology. In: *Proceedings of the All-Russian scientific-practical conference «Post-thrombotic disease»*; Saint Petersburg; 2009. Saint Petersburg: SPbGU; 2009. p. 14-16. (In Russ.)]
3. Зубаиров Д.М., Адрушко И.А., Зубаирова Л.Д., Свинтенюк Г.Ю. Пертурбация эндотелия – причина острой гиперкоагулемии // Казанский медицинский журнал. – 2002. – Т. 83. – № 5. – С. 327–333. [Zubairov DM, Andrushko IA, Zubairova LD, Svintenyok GY, et al. Perturbation of endothelium the cause of acute hypercoagulemia. *Kazan Med Zh*. 2002;83(5):327-333. (In Russ.)]
4. Мнихович М.В. Межклеточные и клеточно-матричные взаимодействия в карциномах молочной железы: современное состояние проблемы // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2014. – № 2. – С. 152–161. [Mnihovich MV. Cell and cell-matrix interactions in breast carcinoma: the present state of problems. *Rossiiskii mediko-biologicheskii vestnik imeni akademika I.P. Pavlova*. 2014;(2):153-162. (In Russ.)]
5. Степанова Е.В. Характеристика ангиогенной активности опухолей человека *in vivo* // Российский биотерапевтический журнал. – 2007. – Т. 6. – № 1. – С. 6–7. [Stepanova EV. Characteristic of angiogenic activity of human tumors *in vivo*. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2007;6(1):6-7. (In Russ.)]

6. Степанова Е.В. Антиангиогенная терапия: новые возможности лечения злокачественных заболеваний // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3. – № 4. – С. 246–252. [Stepanova EV. Angiogenic therapy: novel opportunities in the treatment of malignancies. *Practical oncology*. 2002;3(4):246-252. (In Russ.)]
7. Трапезникова М.Ф., Глыбин П.А., Морозов А.П., и др. Ангиогенные факторы при почечно-клеточном раке // Онкоурология. – 2008. – № 4. – С. 82–87. [Trapeznikova MF, Glybin PA, Morozov AP, et al. Angiogenic factors in renal cell carcinoma. *Onkourologiia*. 2008;(4):82-87. (In Russ.)]
8. Трашков А.П., Васильев А.Г., Цыган Н.В. Антитромботическая терапия в онкологии: современное состояние проблемы и нерешенные вопросы // Педиатр. – 2012. – Т. 3. – № 2. – С. 3–19. [Trashkov AP, Vasiliev AG, Tsygan NV. Antithrombotic therapy in oncology: contemporary concepts and pending problems. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2012;3(2):3-19. (In Russ.)]
9. Трашков А.П., Панченко А.В., Каюкова Е.С., и др. Лейкемия Р-388 у мышей линии CDF1 как тест-система опухоль-ассоциированного неопластического ангиогенеза и гиперкоагуляции // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158. – № 10. – С. 500–502. [Trashkov AP, Panchenko AV, Kayukova ES, et al. R-388 leukemia in CBA1 mice as tumor associated angiogenesis and hypercoagulation test system. *Biull Eksp Biol Med*. 2014;158(10):500-502. (In Russ.)]
10. Шурыгин М.Г., Шурыгин И.А., Дремина Н.Н. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на выраженность цитолиза при экспериментальном инфаркте миокарда // Acta biomedical scientifica. – 2008. – № 1. – С. 68–71. [Shurigin MG, Shurigina IA, Dremina NN. The influence of vessels endothelium growth factor on the cytolysis intensity at experimental cardiac infarction. *Acta biomedica scientifica*. 2008;(1):68-71. (In Russ.)]
11. Anisimov VN, Popovich IG, Zabezinski MA, et al. Sex differences in aging, life span and spontaneous tumorigenesis in 129/Sv mice neonatally exposed to metformin. *Cell Cycle*. 2015;14(1):46-55. doi: 10.4161/15384101.2014.973308.
12. Cao Y, Ji WR, Qi P, et al. Placenta growth factor: identification and characterization of a novel isoform generated by RNA alternative splicing. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;235(3):493-498. doi: 10.1006/bbrc.1997.6813.
13. Ebos JM, Lee CR, Cruz-Munoz W, et al. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer Cell*. 2009;15(3):232-239. doi: 10.1016/j.ccr.2009.01.021.
14. Fagiani E, Christofori G. Angiopoietins in angiogenesis. *Cancer Lett*. 2013;328(1):18-26. doi: 10.1016/j.canlet.2012.08.018.
15. Folberg R, Hendrix MJC, Maniotis AJ. Vasculogenic Mimicry and Tumor Angiogenesis. *Am J Pathol*. 2000;156(2):361-381. doi: 10.1016/s0002-9440(10)64739-6.
16. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*. 1971;285(21):1182-1186. doi: 10.1056/NEJM197111182852108.
17. García-Román J, Zentella-Dehesa A. Vascular permeability changes involved in tumor metastasis. *Cancer Lett*. 2013;335(2):259-269. doi: 10.1016/j.canlet.2013.03.005.
18. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2004;350(23):2335-2342. doi: 10.1056/NEJMoa032691.
19. Liekens S, De Clercq E, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem Pharmacol*. 2001;61(3):253-270. doi: 10.1016/s0006-2952(00)00529-3.
20. Paez-Ribes M, Allen E, Hudock J, et al. Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. *Cancer Cell*. 2009;15(3):220-231. doi: 10.1016/j.ccr.2009.01.027.
21. Poveda A, Selle F, Hilpert F, et al. Weekly paclitaxel (PAC), pegylated liposomal doxorubicin (PLD) or topotecan (TOP)+bevacizumab (BEV) in platinum (PT)-resistant recurrent ovarian cancer (OC): analysis by chemotherapy (CT) cohort in the GCIg AURELIA randomised phase III trial. *Ann Oncol*. 2012;23(Suppl 9):LBA26.
22. Takano S, Yoshii Y, Kondo S, et al. Concentration of vascular endothelial growth factor in the serum and tumor tissue of brain tumor patients. *Cancer Res*. 1996;56(9):2185-2190.

◆ Информация об авторах

Александр Петрович Трашков — канд. мед. наук, заведующий, Испытательный центр радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com.

◆ Information about the authors

Alexander P. Trashkov — MD, PhD, Head, Trials Center of Radiopharmaceutical, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com.

◆ Информация об авторах

Николай Александрович Верлов — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Испытательный центр радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра „Курчатовский институт“», Гатчина. E-mail: virlov@gmail.com.

Маргарита Радиевна Артеменко — аспирант, Испытательный центр радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра „Курчатовский институт“», Гатчина. E-mail: shadow_ii@list.ru.

Валерия Антоновна Печатникова — научный сотрудник, Испытательный центр радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра „Курчатовский институт“», Гатчина. E-mail: floluttrell@gmail.com.

Мария Александровна Зелененко — научный сотрудник, отдел экспериментальной фармакологии. ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург. E-mail: magu56110@gmail.com.

Мария Александровна Пахомова — старший научный сотрудник, Научно-исследовательский центр. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: mariya.pahomova@mail.ru.

Андрей Глебович Васильев — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии с курсом иммунопатологии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: avas7@mail.ru.

◆ Information about the authors

Nikolay A. Verlov — PhD, Senior researcher, Trials Center of Radiopharmaceutical, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia. E-mail: virlov@gmail.com.

Margarita R. Artemenko — Graduate, Trials Center of Radiopharmaceutical, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia. E-mail: shadow_ii@list.ru.

Valeria A. Pechatnikova — Researcher, Trials Center of Radiopharmaceutical, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina, Russia. E-mail: floluttrell@gmail.com.

Maria A. Zelenenko — MD, Researcher, Experimental Pharmacology Department. Sechenov Institute of Ephisiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences. Saint Petersburg, Russia. E-mail: magu56110@gmail.com.

Mariya A. Pakhomova — Senior Researcher, Research Center. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: mariya.pahomova@mail.ru.

Andrei G. Vasiliev — MD, PhD, Dr. Med. Sci., Head, Pathophysiology Department. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: avas7@mail.ru.