

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ, ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОГНОЗА И ВЫБОРЕ ТЕРАПИИ ПРИ ОПУХОЛЯХ КОСТЕЙ

И.В. Булычева, доктор медицинских наук

*Поликлиника №1 Управления делами Президента, Российская Федерация,
119002, Москва, Сивцев Вражек, 26/28*

E-mail: irena@boulytcheva.com

Опухоли костей встречаются крайне редко и составляют 0,7–2,0% всех новообразований человека. Пик заболеваемости опухолью костей приходится на возраст социальной активности человека. Опухоли костей являются одними из наиболее агрессивных среди всех злокачественных новообразований. Вот почему одним из наиболее адекватных методов лечения является комбинированный, включающий индуктивную (системную, регионарную) мультиагентную химиотерапию и локальный контроль опухоли (хирургическое лечение и лучевая терапия). Современные возможности онкоортопедии действительно могут улучшить результаты лечения и качество жизни таких пациентов. Группа первичных костных опухолей является редкой и разнородной группой неоплазий человека. Среди всех злокачественных новообразований ими болеют <1% взрослых и до 10% детей. В течение 2 последних десятилетий достигнут большой прогресс в лечении этих заболеваний. Благодаря современной химиотерапии и достижениям в технологиях визуализации опухолей костей, а также успехам ортопедии большинство больных могут быть излечены и конечности могут быть сохранены более чем в 80% случаев.

Ключевые слова: первичные опухоли костей, иммуногистохимия, молекулярные маркеры

MOLECULAR MARKERS AS A DIAGNOSTIC TOOL AND PROGNOSTIC FACTOR IN BONE TUMOR PATHOLOGY

I. V. Boulytcheva

*Polyclinic № 1 of the Business Administration for the President of the Russian Federation,
Sivsev Vrazhek side street, Bld 26/28, Moscow, Russian Federation, 119002*

Among oncology diseases the primary bone tumors make up to 0,7–2,0% of all malignancies. The peak of morbidity caused by bone tumors falls on the age of person's social activity. Bone tumors are one of the most aggressive among malignant human tumors. That's why one of the most adequate treatments is the combined method consisting of inductive (systematic, regional) multiagent chemotherapy together with tumor local control method (operative intervention, radiation therapy). Modern possibilities of oncoorthopedics can really improve both the quality of life and treatment outcomes for these patients. The group of primary bone tumors is a rare and diverse group of human neoplasms. Among the malignant tumors, they account for less than 1% among adults and up to 10% among children. Great progress in the treatment of these diseases has been achieved during the last two decades. Thanks to the modern chemotherapy and to the improvement in imaging technologies of bone cancer tumors together with the successes of orthopedics the majority of patients can be cured at the present time and the limb can be saved more than in 80% of cases.

Key words: bone sarcoma, immunohistochemistry, molecular markers

Успехи в комбинированном хирургическом и химиотерапевтическом лечении различных опухолей костей резко увеличили сроки выживаемости больных. В структуре злокачественных новообразований костной ткани в детском возрасте преобладают остеосаркома и саркома Юинга, у взрослых чаще встречаются хондросаркома, миелома и лимфома. Большую группу гетерогенных злокачественных новообразований костей составляют метастазы. В клинической онкологии последних лет особый интерес вызывает роль сигнальных путей в процессе злокачественной трансформации клеток и тканей. В области изучения костных опухолей привлекают внимание различные тканевые, клеточные и молекулярные маркеры, характеризующие фундаментальные «биологические» свойства опухоли, а именно: пролиферативную и

инвазивную способность, активность апоптоза и неоангиогенеза, склонность к инвазии и метастазированию.

В одних исследованиях выявлена взаимосвязь экспрессии *HER2/erbB2* в остеосаркомах с неблагоприятным прогнозом, а также слабым ответом на предоперационную химиотерапию, в других показано отсутствие взаимосвязи экспрессии *HER2/erbB2* с прогнозом остеосарком.

Недостаточно изучен вопрос, является ли инактивация p53 указанием на прогрессию остеосаркомы или этот факт отражает резистентность и чувствительность к облучению и химиотерапии [1]. Считается, что поврежденная цепочка взаимодействий p53 возникает на ранних стадиях патогенеза остеосаркомы, что показано ранее на основании

анализа изменения статуса p53 при первичных и генерализованных остеосаркомах [2]. В экспериментальных исследованиях установлено, что в основе способности раковых клеток к инвазивному росту и гематогенному метастазированию может быть активация матриксных металлопротеиназ (ММП), которые участвуют в разрушении внеклеточного матрикса (ВКМ) при росте злокачественных опухолей [3] и механизмов неоангиогенеза в первичной опухоли и ее метастазах [4]. При этом известно, что контроль за действием ММП осуществляют тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП). Баланс между экспрессией ММП и ТИМП не постоянен как при физиологических процессах, сопровождающихся ростом и развитием тканей, так и при различной патологии, в том числе при онкологических заболеваниях. В экспериментальных исследованиях показано, что клетки остеосаркомы продуцируют ММП-2, ММП-9, ТИМП-1 и, как предполагают, принимают активное участие в процессах инвазивного роста опухолей, однако этот факт требует подтверждения в клинике.

Предпосылкой к активации неоангиогенеза в опухолях являются размножение и миграция эндотелиальных клеток (ЭК), которые, подобно опухолевым клеткам, продуцируют ММП и локально инвазируют базальную мембрану и периваскулярный ВКМ, формируя новую капиллярную сеть в опухоли. Среди ангиогенных цитокинов особое место занимают фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и его высокоаффинные рецепторы Fltl (VEGF-R1) и Flkl/KDR (VEGF-R2), которые образуют отдельную группу в суперсемействе рецепторных тирозинкиназ [5]. VEGF связывается с ЭК и стимулирует их пролиферацию, продуцируется клетками некоторых опухолей человека, способствуя процессу неоваскуляризации новообразования и, возможно, связанной с этим ранней генерализацией процесса. В настоящее время убедительно доказано, что в развитии и регенерации костной ткани важную роль играют процессы ангиогенеза и костно-хрящевой резорбции. Иммуногистохимическими (ИГХ) методами обнаружено наличие экспрессии 2 изоформ – VEGF(121) и VEGF(189), которые связаны с протеогликанами ВКМ, а максимальную экспрессию VEGF-A, -B, -D наблюдали на стадии минерализации. В современной литературе представлены единичные работы по изучению продукции VEGF и его рецепторов у больных и так называемыми пограничными новообразованиями (гигантоклеточная опухоль кости) и остеосаркомой, а соотношение изоформ VEGF-A в различных саркомах костей значимо различается. Следовательно, ИГХ-анализ содержания VEGF и его трансмембранных рецепторов в опухолях костей может иметь связь с клиническим течением, а стало быть, и прогнозом.

Наиболее изученным считают механизм действия сигнальной системы рецептора эпидермального фактора роста (REGF) и родственных ему

рецепторов семейства c-erbB или HER (human epidermal growth factor receptor), которое состоит из 4 белков – собственно REGF (ErbB-1, HER1), а также ErbB-2 (HER2/neu), ErbB-3 (HER3) и ErbB-4 (HER4) – сходные по структуре трансмембранные рецепторы, внутриклеточная часть которых обладает тирозинкиназной активностью. Известно довольно много лигандов рецепторов семейства c-erbB (EGF, α -TGF, амфигулин, сурпто), которые взаимодействуют только с REGF, а также херегулины (неурегулины), взаимодействующие с ErbB-3 и ErbB-4. Ни одного лиганда, взаимодействующего с рецептором ErbB-2 (HER2/neu), до настоящего времени не обнаружено. Экспрессию HER2/neu в остеосаркомах изучали несколько групп исследователей, однако до настоящего времени нет единого мнения о его наличии в остеосаркомах и прогностической значимости, хотя в большинстве исследований подтверждено специфическое для HER2/neu мембранное окрашивание клеток остеосаркомы и выявлена избыточная экспрессия маркера в опухоли. Данные литературы о клинической значимости экспрессии белка HER2/neu в опухолях костей весьма противоречивы. Так, в ранее проведенных исследованиях предполагалось, что гиперэкспрессия c-erbB-2 соответствует неблагоприятному прогнозу при остеосаркоме и связана с ранними легочными метастазами остеосаркомы и низкими показателями выживаемости. Это позволило авторам указать на важную роль c-erbB-2 в агрессивном росте опухоли и влиянии его на метастатический потенциал остеосаркомы. Повышенная экспрессия c-erbB-2 выявлена в большинстве случаев остеосарком с метастазами, плохим (гистопатологическим) ответом опухоли на химиотерапию и худшей безрецидивной выживаемостью. Однако до настоящего времени не установлена частота выявления экспрессии HER2/neu в остеосаркомах, при этом одни авторы отмечают колебания частоты выявления HER2/neu в мембранах клеток остеосарком в пределах от 0 до 18%, другие – от 32 до 98%. Следовательно, анализ показателей экспрессии HER2/neu в остеосаркомах настоятельно требует дальнейшего изучения. В России таких исследований не проводили.

Гомеостаз многоклеточного организма поддерживается точно выверенным балансом между процессами пролиферации, дифференцировки и гибели клеток. Одним из основных механизмов элиминации опасных для организма клеток, к числу которых относятся вирусинфицированные, опухолевые клетки, а также клетки, закончившие свой жизненный цикл, является апоптоз или программируемая клеточная гибель.

Особое внимание исследователей привлекает семейство белка Bcl, играющего важную роль в регуляции митохондриальной цепи апоптоза и состоящего из 2 классов протеинов: проапоптотических (Bax, Bik, Bak, Bad, Bcl-xs) и антиапоптотических (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1). Именно соотноше-

ние ингибиторов и активаторов может определять предрасположенность клетки к апоптозу, а при наличии в клетке дефектных молекул Вах нарушается механизм нормальной ее гибели. До настоящего времени непонятно, как белки семейства Bcl ингибируют апоптоз, хотя показано, что эти молекулы взаимодействуют на поверхности митохондрий для поддержания нормального тканевого гомеостаза [6, 7]. Вместе с тем T. Nedelcu и соавт. [3] выявили прямую зависимость между степенью экспрессии Bcl-2 в опухоли и выживаемостью больных низкодифференцированной остеосаркомой. При этом экспрессия Bcl-2 была выявлена только в цитоплазме, но не в ядре опухолей, что согласуется с данными других исследователей [8].

M. Postl и соавт. [9] впервые предложили классификацию остеосаркомы с учетом уровня экспрессии Bcl-2 и пролиферативной активности. Авторы показали, что опухоли с высокой экспрессией Bcl-2 плохо отвечали на химиотерапию, однако статистических данных, подтверждающих эту корреляционную зависимость нет, поэтому исследователи предлагают дальнейшее изучение показателей экспрессии Bcl-2 как прогностического маркера при остеосаркомах. Кроме того, у всех пациентов, у которых в опухолях выявлено следующее соотношение белков: Вах(+)/Bcl-2(-)/p53(+), был худший прогноз. L. Rozeman и соавт. [9] провели сравнительный ИГХ-анализ экспрессии Bcl-2 в хондромах и центральных хондросаркомах и показали повышение экспрессии маркера при снижении степени дифференцировки хондросаркомы, что является подтверждением опухолевой прогрессии. Приведенные данные свидетельствуют о важной роли белков семейства Bcl, а именно ингибиторов апоптоза, которые способствуют онкогенезу и усиленно экспрессируются в некоторых типах саркомах костей. Пристальный интерес исследователей к использованию антиапоптотических белков как маркеров злокачественных опухолей связан с тем, что подавление апоптоза этими молекулами может влиять на патогенез, прогрессию и резистентность к противоопухолевой химиотерапии.

Установлена способность опухолевых клеток, в том числе сарком костей, усиленно синтезировать простагландины (P_g), преимущественно серии E (P_gE). Также получены доказательства подавления опухолевого роста ингибиторами циклооксигеназ (COX-1 и COX-2) — ключевого фермента синтеза P_g нестероидными противовоспалительными соединениями. При этом эффекты препаратов, направленных на процессы биосинтеза и метаболизма P_g, обусловлены комплексом взаимодействий, включающих стимулирующее и ингибирующее действие P_g на репликацию опухолевых клеток, а также влияние на макрофаги в опухоли и стромальные ее компоненты. Большая часть P_gE, продуцируемого в кости, является результатом индукции COX-2-экспрессии в остеобластах. Повышенная экспрессия COX-2 вы-

явлена в клеточных линиях остеосаркомы человека (Saos-2, U2OS, TE85) и в самой опухоли [10]. Полагают, что продукция COX-2 стимулирует формирование зрелой кости остеобластами. Полагают, что гиперэкспрессия COX-2 увеличивает апоптоз вторично по отношению к продукции свободных форм кислорода (СФК) [10]. Данные некоторых авторов указывают, что гиперэкспрессия COX-2 в клетках остеосаркомы снижает жизнеспособность клеток опухоли посредством увеличения СФК и тем самым может ингибировать прогрессию опухолевого процесса. Повышение уровня СФК может само по себе повреждать ДНК и тем самым вызывать опухолевую трансформацию.

Пока еще нет четких подтверждений того, что экспрессия COX-2 в первичной опухоли взаимосвязана с клиническим течением остеосаркомы. Вместе с тем по данным H. Urakawa и соавт. [11] гиперэкспрессия COX-2 ассоциирована с низкой безрецидивной выживаемостью больных остеосаркомой. Также отмечена выраженная ассоциация между повышенным уровнем экспрессии COX-2 и неблагоприятным прогнозом, особенно при низкодифференцированной хондросаркоме. Опубликованы данные о тенденции к более высокой экспрессии COX-2 в саркомах с метастазами, чем без них, включая остеосаркому, рабдомиосаркому и саркому Юинга. При этом мелоксикам-селективный ингибитор активности COX-2 подавлял рост клеток остеосаркомы *in vitro* с высокими показателями COX-2 посредством COX-2-зависимого и COX-2-независимого механизма [12]. Кроме того, стало известно, что COX-2 играет важную роль в ангиогенезе.

Повышение нестабильности генома — важное свойство опухолевых клеток, обеспечивающее неуклонную прогрессию злокачественных новообразований. В основе генетической нестабильности неопластических клеток лежат нарушения функции белков, контролирующих: 1) точность репликации ДНК и сегрегации хромосом в митозе; 2) образование/детоксикацию мутагенных соединений; 3) работу систем репарации поврежденной ДНК; 4) активность чекпойнтов клеточного цикла, предотвращающих дальнейшее размножение поврежденных клеток; 5) индукцию апоптоза в аномальных клетках [13–15].

Таким образом, на основании изучения молекулярно-биологических особенностей опухолей, в том числе сарком костей, может быть создана новая стратегия лечения, непосредственно влияющая на определенные молекулы и процессы. Знание специфических биологических характеристик опухоли может помочь в усовершенствовании существующих схем лекарственного лечения и развитии новых подходов к патогенетической, таргетной терапии опухолей, основанных на модификации системы передачи регуляторных сигналов в клетке. Изучение биологии сарком костей выходит на первый план в клинической практике для выявления

прогностических маркеров и выделения групп риска пациентов с первичным диагнозом саркомы кости. Кроме того, новые молекулярные мишени находятся под пристальным вниманием исследователей для выявления агентов эффективной таргетной терапии [16–18].

К сожалению, для практического использования, а именно — для оценки прогноза и выбора эффектив-

ной неoadъювантной химиотерапии эти маркеры до настоящего времени не считают общепризнанными. Вместе с тем все изложенное свидетельствует об актуальности комплексного изучения морфологических, рентгенологических, молекулярно-генетических и клинических характеристик опухолей костей с целью эффективной диагностики, лечения и оценки прогноза заболевания.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gokgoz N., Wunder J.S., Mousses S. et al. Comparison of p53 mutations in patients with localized osteosarcoma and metastatic osteosarcoma. *Cancer*. 2001; 92 (8): 2181–9.
- Ferrara N., Gerber H.-P., LeCouter J. The biology of VEGF and its 448 receptors. *Nat. Med.* 2003; 9 (6): 669–76.
- Nedelcu T., Kubista., Koller A. et al. Livin and Bcl-2 expression in high-grade osteosarcoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2008; 134 (2): 237–44.
- Chan S.L., Yu V.C. Proteins of the Bcl-2 family in apoptosis signaling: from mechanistic insights to therapeutic opportunities. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2004; 31 (3): 119–28.
- Lambert P.F., Sugden B. Viruses in cancer. In: Abeloff M., Armitage J., Niederhuber J., Kastan M., McKenna W., eds. *Clinical oncology*, 3rd ed. New York: Elsevier. 2004; 207–25.
- DuBois S., Demetri G. Markers of angiogenesis and clinical features in patients with sarcoma. *Cancer*. 2007; 109 (5): 813–9.
- Kansara M., Thomas D.M. Molecular pathogenesis of osteosarcoma. *DNA Cell. Biol.* 2007; 26 (1): 1–18.
- Posl M., Amling M., Werner M. et al. Osteosarcoma – apoptosis and proliferation. Study of Bcl-2 expression. *Pathologie*. 1994. 15 (6): 337–44.
- Rozeman L.B., Hameetman L., Cleton-Jansen A.-M. et al. Absence of IHH and retention of PTHrP signaling in enchondromas and central chondrosarcomas. *J. Pathol.* 2005; 205 (4): 476–82.
- Link M.P., Gebhardt M.C., Meyers P.A. Osteosarcoma. In: Pizzo P.A., Poplack D.G., editors. *Principles and practice of pediatric oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006; 1074–115.
- Urakawa H., Nishida Y., Naruse T. et al. Cyclooxygenase-2 overexpression predicts poor survival in patients with high-grade extremity osteosarcoma: a pilot study. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2009; 467 (11): 2932–8.
- Mullins M.N., Lana S.E., Dernel W.S. et al. Cyclooxygenase-2 expression in canine appendicular osteosarcomas. *J. Vet. Intern. Med.* 2004; 18 (6): 859–65.
- Xu Z., Choudhary S., Voznesensky O. et al. Overexpression of Cox-2 human osteosarcoma cells decreases proliferation and increased apoptosis. *Cancer Res.* 2006; 66 (13): 6657–64.
- Mino P, Baker K, Baumhoer D, et al. Urokinase-type plasminogen activator is a marker of aggressive phenotype and an independent prognostic factor in mismatch repair-proficient colorectal cancer. *Hum. Pathol.* 2010; 41: 70–8.
- Ferrari S., Bertoni F., Zanella L. et al. Evaluation of P-glycoprotein, HER-2/ErbB-2, p53, and Bcl-2 in primary tumor and metachronous lung metastases in patients with high-grade osteosarcoma. *Cancer*. 2004; 100 (9): 1936–42.
- Weinberg R.A. *The biology of cancer* NY, Oxford: Garland Science, 2007.
- Rodrigues N.I., Hoots W.K., Koshkina N.V. et al. COX-2 expression correlates with survival in patients with osteosarcoma lung metastases. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2008; 30 (7): 507–12.
- Kubo T., Shimose S., Matsuo T. et al. Interferon α/β receptor as a prognostic factor in osteosarcoma. *J. Joint Bone Surg. Am.* 2011; 93 (6): 519–26.

Поступила 27 января 2015 г.

Новости науки

ЛИМФОЦИТЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ОТ МЫШЕЙ, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ХРОНИЧЕСКОМУ СТРЕССУ, РАБОТАЮТ КАК АНТИДЕПРЕССАНТЫ

Депрессивные состояния в условиях современного мира знакомы большинству людей. Поиск антидепрессантов приводит к весьма неожиданным результатам. Общеизвестно, что депрессия снижает уровень иммунитета, а что длительный стресс способствует развитию депрессивного состояния. Исследователи из Университета Бетезда (штат Атланта, США) проверили, как клетки, участвующие в развитии адаптивного иммунитета, влияют на поведение мышей. Обнаружено, что лимфоциты мышей, подвергавшихся длительному психосоциальному стрессу, при введении мышам Rag2^{-/-} с лимфопенией приводят к достоверным изменениям поведения, пролиферации клеток гиппокампа, способствуют активации состояния

микроглии и оптимизации цитокинового статуса — уменьшению количества провоспалительных цитокинов в крови. У животных снижался уровень тревожности и беспокойства, более того, обнаруживались сдвиги в направлении M2-подобного фенотипа, в то время как у «стрессированных» доноров отмечали сдвиги в сторону M1-подобного провоспалительного профиля. Однако при исследовании поверхностных маркеров лимфоцитов не обнаружено каких-либо достоверных различий у мышей-доноров и реципиентов. R.A. Brachman считает, что полученные данные позволяют говорить о том, что периферический компонент адаптивной иммунной системы является важным компонентом психологической устойчивости и может быть основой для развития новых подходов к терапии депрессивных состояний.

[По материалу *The Journal of Neuroscience*, 28 January 2015, 35 (4): 1530–1538]