

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ НАУКА – ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗДРАВООХРАНЕНИЮ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.65-006.04-07:575.08

Пешков М.Н., Шарова Е.И., Клабуков И.Д.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОСТГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ПРИМЕРЕ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУН « Научно-исследовательский институт физико-химической медицины» ФМБА России, 119435, г. Москва

Последние десять лет существенно изменили диагностические и лечебные технологии в исследовании и практике. Геном человека из крупного интернационального проекта превращается в фундамент персонализированной медицины. В статье приведен позитивный опыт применения новой технологии экспериментального мышления, приведший к созданию сложной научно-технологической платформы, позволяющей значительно повысить диагностические характеристики (чувствительность, специфичность) традиционного ПСА-теста. В данной статье представлены экспериментально подтвержденные возможности по улучшению специфичности и чувствительности существующих диагностических методов.

Ключевые слова: персонализированная медицина; рак предстательной железы; простатоспецифический антиген (ПСА); ПСА-тест; лабораторная медицина; предиктивная медицина; медицина будущего; биомаркер; персональная норма.

Для цитирования: Российский онкологический журнал. 2015; 20(2): 29–32.

THE USE OF POST-GENOMIC TECHNOLOGIES FOR THE DIAGNOSIS OF CANCER ON THE EXAMPLE OF PROSTATE CANCER

Peshkov M.N., Sharova E.I., Klabukov I.D.

Scientific Research Institute of Physical-Chemical Medicine, 119435, Moscow, Russian Federation

The last ten years have significantly changed the diagnostic and therapeutic technologies in research and practice. Human genome from a large international project turns into a basis of personalized medicine. The paper presents the positive experience of the new technology experimental thinking that led to the creation of complex scientific and technological platform that allows you to significantly improve the diagnostic characteristics (sensitivity, specificity) of the traditional PSA test. This paper presents the experimental results, which can improve the specificity and sensitivity of existing diagnostic methods.

Key words: personalized medicine; prostate cancer; prostate specific antigen (PSA); PSA test; laboratory medicine; predictive medicine; the medicine of the future; biomarker; personal norm.

Citation: Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. 2015; 20(2): 29–32. (In Russ.)

Correspondence to: Maksim Peshkov – MD, PhD; e-mail: Drpeshkov@gmail.com.

Received 28.11.14

Рак предстательной железы (РПЖ) – это гормонально зависимая опухоль, отличающаяся выраженной гетерогенностью и мультицентричным ростом, а, учитывая распространенность данного заболевания, на сегодняшний день – актуальная медико-социальная проблема. В России РПЖ занимает 2-е место после рака легкого в структуре злокачественных новообразований у мужчин. Распределение больных по стадиям: I–II стадия – 44,9%; III стадия – 35,3%; IV стадия – 17,8%; стадия не установлена – 2%. Летальность в течение года после установки диагноза 12,2% [1]. В странах с более эффективной системой выявления РПЖ показатель заболеваемости этой формой рака выше. В США с 2007 г. по настоящее время заболеваемость РПЖ на 1-м месте [2].

Для корреспонденции: Пешков Максим Николаевич – канд. мед. наук; 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1А, e-mail: Drpeshkov@gmail.com.

Успешная реализация международного проекта «Геном человека» (International Human Genome Sequencing Consortium 2001) привела к формированию в начале XXI века нескольких новых научных дисциплин (геномики, транскриптомики, протеомики, биоинформатики и др.), а также к внедрению в различные молекулярные исследования современных высокоэффективных технологий, предназначенных для изучения генов человека и кодируемых ими белков, пептидов и их метаболитов. Все это позволяет говорить о переходе биомедицинских дисциплин в постгеномную эру развития, что дает возможность проводить поиск более эффективных маркеров различных заболеваний человека, в том числе и онкологических.

Перспективы улучшения результатов лечения связаны с ранней диагностикой предраковых изменений и опухолевого процесса в предстательной железе. Сегодня известно более 220 биохимических маркеров РПЖ. До недавнего времени (с 1979 г.), счита-

Таблица 1

Критерии аналитической надежности ПСА-теста и его производных в сравнении с клиническими методами обследования

| | Чувствительность,% | Специфичность,% |
|----------|--------------------|-----------------|
| ПСАобщ. | 95 | 13 |
| ПСАсвоб. | 95 | 17 |
| -2проПСА | 95 | 33 |
| Phi | 90 | 34,8 |
| РСА3 | 67 | 83 |
| ТРУЗИ | 69,4 | 92,2 |
| ПРИ | 55,7 | 95,7 |

Примечание. ТРУЗИ – трансректальное ультразвуковое исследование. ПРИ – пальцевое ректальное исследование.

лось, что проблему точной диагностики РПЖ решает анализ уровня так называемого простатоспецифического антигена (ПСА) [3], однако существуют убедительные данные о недостаточной диагностической значимости этого маркера [4–7]. Показано, что около 40% пациентов с нормальным уровнем ПСА имеют клинически выраженный РПЖ [8, 9], тогда как у 65% лиц с повышенным уровнем ПСА (выше 4 нг/мл) оказываются иные заболевания предстательной железы, в частности доброкачественная гиперплазия и воспаление [4]. В связи с этим в мире активно проводится поиск новых, более эффективных маркеров РПЖ [6, 10–12] и одно из центральных мест в этом занимают работы, проводимые с помощью различных постгеномных и, в частности, геномных, и протомных технологий [13, 14].

Ранняя диагностика в таких случаях возможна на уровне оценки предрасположенностей к РПЖ в зависимости от генотипа однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП, SNP's) в онкогенах и генах опухолевой супрессии [10, 13, 15] и основывается на анализе серой зоны ПСА крови (2,5–4 нг/мл), когда принимается решение о выполнении биопсии простаты. Известно, что 35–45% пациентов с уровнем ПСА более 10 нг/мл получают отрицательный результат биопсии. По другим данным, 63% пациентов с аденокарциномой предстательной железы (при показателе Глисона ≥ 7) имеют уровень ПСА менее 3 нг/мл.

Целевой функцией применения ПСА-теста в скрининге является снижение смертности от РПЖ. В Европейском Союзе и США проведены два масштабных исследования по скринингу РПЖ. Результаты Европейского рандомизированного исследования (ERSPC) демонстрируют снижение специфической выживаемости скрининговой группы на 21% по сравнению с контрольной группой за 11 лет наблюдения, на 44% – за 14 лет наблюдения. Данное исследование доказало эффективность ПСА-теста в скрининге РПЖ, при большем периоде наблюдения возрастает результативность скрининга [10, 15].

Федеральные регуляторные органы при правительстве США подготовили новые рекомендации, согласно которым здоровые мужчины перестанут проходить регулярные анализы на ПСА для раннего выявления РПЖ. Основанием такого решения явились результаты мультицентрового контролируемого клинического исследования (PLSO), которые продемонстрировали неэффективность ПСА-теста для

скрининга РПЖ: не снижается общая смертность от этого заболевания, гипердиагностика приводит к ряду необоснованных диагностических и лечебных мероприятий (биопсии предстательной железы), ассоциированных с высоким риском осложнений. Данное положение объясняется низким уровнем канцероспецифичности ПСА-теста (табл. 1) [16].

В изучении и разработке биологических маркеров РПЖ на сегодняшний день сформировались следующие направления:

1. Дальнейшее изучение клинического применения ПСА крови и его производных (-2проПСА; ПСА-общ., ПСАсвоб., время удвоения ПСА; плотность ПСА и т. д.);

2. Дальнейший клиничко-лабораторный поиск диагностических маркеров и их клиническая валидация (Аннексин III (ANXA3, Annexin A3), РСА3 (Prostate cancer antigen 3) и другие), обладают большей чувствительностью и специфичностью, чем ПСА;

3. Активное применение постгеномных технологий для более тонкой (выше чувствительность и специфичность) работы с существующими маркерами и разработка новых диагностических алгоритмов.

Наглядной демонстрацией интеграции постгеномных технологий в клинику является работа Robert K. Nam и его коллег, выполненная в Канадском институте исследования здоровья [6]. В данной работе проведено обследование 3004 мужчин (из них РПЖ у 1389 (46,2%)) на 25 генетических полиморфизмах. Проведена биопсия предстательной железы и сделана попытка на основании стандартного общеклинического и генетического обследования определить персональную норму ПСА-теста (индивидуальная норма ПСА-теста с учетом генетической предрасположенности конкретного пациента).

Результаты и обсуждение

В результате выделено 7 полиморфизмов (табл. 2), ассоциирующих уровень ПСА крови с результатами гистологического исследования после пункционной биопсии предстательной железы. Анализ полученных данных показывает, что у более 5% (1-я группа) выборки распространено генетически детерминированное повышение уровня ПСА крови более чем на 23–47%, чем средний уровень в популяции. У 5% пациентов (2-я группа) отмечается генетически детерминированное снижение уровня ПСА крови на 30–56%, чем средний уровень в популяции. В представленной выборке, группе кровных родственников (3-я группа, более 5%), отмечается повышение значения ПСА крови на 40–92%. Вместе тем, отмечается депривация показателя ПСА на 53–80% в 4-й группе, кровных родственников (более 5%), чем среднее статистическое значение в популяции.

Полученные данные демонстрируют влияние четырех полиморфизмов на уровень ПСА крови и показывают корреспонденцию индивидуальную и общепринятого значения в популяции (cut-off value 4 ng/ml).

Вместе с тем при расчете показателей нормы (cut-off values) с учетом индивидуальной специфичности: 1-я группа: 4,9–5,9 нг/мл; 2-я группа: 5,6–7,7 нг/мл; 3-я группа: 1,7–2,8 нг/мл; 4-я группа: 0,8–1,9 нг/мл.

Проведенный анализ свидетельствует, что обладатели трех полиморфизмов 10q26, 12q24, и 19q13.33 ассоциированы с повышением уровня ПСА крови,

Таблица 2

Панель полиморфизмов (SNP's), выбранных для анализа и сравнения частот аллелей между исследуемой и контрольной группами

| SNP | Аллель /генотип риска | Ген | Хромосома | Частота положительных биопсий | Частота отрицательных биопсий | Риск РПЖ (Odds Ratio 95% CI) |
|------------|-----------------------|----------|-----------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| rs2736098 | A | 5p15.33 | 5 | 0,34 | 0,32 | 1,04 (0,94–1,16) |
| rs10993994 | T | 10q11 | 10 | 0,41 | 0,40 | 1,05 (0,96–1,15) |
| rs10788160 | A | 10q26 | 10 | 0,28 | 0,32 | 0,79 (0,71–0,87) |
| rs11067228 | A | 12q24 | 12 | 0,55 | 0,59 | 0,87 (0,79–0,95) |
| rs4430796 | A | 17q12 | 17 | 0,55 | 0,53 | 1,03 (0,97–1,10) |
| rs17632542 | T | 19q13.33 | 19 | 0,93 | 0,95 | 0,77 (0,63–0,95) |
| rs2735839 | G | KLK3 | 19 | 0,88 | 0,89 | 0,85 (0,74–0,98) |

другие 4 аллеля ассоциированы с повышенным риском РПЖ. Определение персонального уровня ПСА крови (cut-off value) с учетом генотипа пациента является существенным индикатором при определении показания для выполнения пункционной биопсии предстательной железы, интерпретации результатов и определения тактики ведения пациента в послеоперационном периоде. При инкорпорировании в нормограмму генотипического статуса вместе со значением ПСА семейного анамнеза, этнического происхождения, данных шкалы IPSS, возраста и пальцевого ректального исследования возрастает позитивная положительная ценность ПСА-теста от 42 до 94% и мультифокальной пункционной биопсии предстательной железы соответственно.

Таким образом, созданная научно-практическая модель геномно-протеомной системы позволит выделить группу риска по РПЖ из наблюдаемой популяции и организовать диспансеризацию с индикаторами контроля качества. В клинической практике данная технология молекулярной биологии позволит онкологу, урологу осуществлять лечебный менеджмент, а не только констатировать факт заболевания у пациента.

Выводы

1. Постгеномные технологии не являются сменой существующих геномных, а являются их дальнейшим логическим эволюционным развитием.

2. Применение генотипирования пациентов с риском РПЖ увеличивает положительную прогностическую и диагностическую ценность ПСА-теста и помогает определить целесообразность и оптимальное время проведения пункционной биопсии предстательной железы под УЗ-контролем.

3. Интеграция в клиническую практику постгеномных технологий позволит более эффективно использовать существующие диагностические тест-системы, такие как ПСА и другие.

4. В настоящее время мы находимся в начале нового этапа эволюционного развития в лабораторной медицине. Будущее будет принадлежать разработке и внедрению в клиническую практику мультипараметрических биологических платформ (профилей) заболевания.

5. «Платформенный» формат исследования позволит специалистам лабораторной диагностики более детально (на молекулярном уровне) оценивать патологические процессы при мультифакторных заболеваниях. Клиницисты получают инструменты

лечебного менеджмента заболевания, которые позволяют прогнозировать риски развития, распространенность и агрессивность опухолевого процесса на доклинической и ранней стадии заболевания, а не только констатировать состоявшийся факт наличия патологии.

Данная статья подготовлена в рамках соглашения о субсидии Минобрнауки России № 14.607.21.0068 (уникальный идентификатор RFMEFI60714X0068).

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. *Злокачественные новообразования в России в 2010 г. (заболеваемость и смертность)*. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздравсоцразвития России. 2012.
2. Jemal A., Bray F., Center M. M. et al. Global cancer statistics. *CA. Cancer J. Clin.* 2011; 61(2): 69–90.
3. Wang M.C., Valenzuela L.A., Murphy G.P., Chu T.M. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest. Urol.* 1979; 17: 159–63.
4. Catalona W.J., Partin A.W., Slawin K.M., Brawer M., Flanigan R., Patel A. et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *J. A. M. A.* 1998; 279 (19): 1542–7.
5. Catalona W.J., Smith D.S., Ratliff T.L., Basler J.W. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *J. A. M. A.* 1993; 270 (8): 948–54.
6. Nam R.K., Zhang W.W., Trachtenberg J., Seth A., Klotz L.H., Stanimirovic A. et al. Utility of incorporating genetic variants for the early detection of prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15(5): 1787–93.
7. Schaefer A., Jung M., Mollenkopf H.J., Wagner I., Stephan C., Jentzmik F. et al. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int. J. Cancer.* 2010; 126(5): 1166–76.
8. Stamey T.A., Caldwell M., McNeal J.E., Nolley R., Hemenez M, Downs J. The PSA era in the United States is over for prostate cancer: what happened in the past 20 years? *J. Urol.* 2004; 172(4): 1297–301.
9. Thompson I.M., Ankerst D.P., Chi C., Goodman P.J., Tangen C.M., Lucia M.S, et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98(8): 529–34.
10. Schroder F.H., Hugosson J., Roobol M.J., Tammela T.L., Ciatto S., Nelen V, et al. Screening and prostate cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(13): 1320–8.
11. Stephenson A.J., Scardino P.T., Eastham J. A., Bianco F.J., Dotan Z.A., Fearn P. A. et al. Preoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J. Nat. Cancer Inst.* 2006; 98(10): 715–7.

12. Zheng S.L., Sun J., Wiklund F., Smith S., Stattin P., Li G. et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358, 910–19.
13. Chevillet J. C., Karnes R. J., Therneau T. M., Kosari F., Munz J.-M., Tillmans L. et al. Gene panel model predictive of outcome in men at high-risk of systemic progression and death from prostate cancer after radical retropubic prostatectomy. *J. Clin. Oncology.* 2008; 26(24): 3930–6.
14. Koh C. M., Bieberich C. J., Dang C. V., Nelson W. G., Yegnasubramanian S., De Marzo A. M. MYC and prostate cancer. *Genes and Cancer.* 2010; 1(6): 617–28.
15. Andriole G.L., Crawford E.D., Buys S.S., Grubb R.L. III et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1310–9.
16. Schröder F.H., Hugosson J., Roobol M.J. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1320–8.

REFERENCES

1. Chissov V.I., Starinskiy V.V., Petrova G.V., eds. *Malignant neoplasms in Russia in 2010 (morbidity and mortality) [Zlokachestvennye no-voobrazovaniya v Rossii v 2010 g. (zabolevaemost' i smertnost')]*. Moscow: FGBU MNIOI im. P. A. Gertsena; 2012. (in Russian)
2. Jemal A., Bray F., Center M. M. et al. Global cancer statistics. *CA. Cancer J. Clin.* 2011; 61(2): 69–90.
3. Wang M.C., Valenzuela L.A., Murphy G.P., Chu T.M. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest. Urol.* 1979; 17: 159–63.
4. Catalona W.J., Partin A.W., Slawin K.M., Brawer M., Flanigan R., Patel A. et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *J. A. M. A.* 1998; 279 (19): 1542–7.
5. Catalona W.J., Smith D.S., Ratliff T.L., Basler J.W. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *J. A. M. A.* 1993; 270 (8): 948–54.
6. Nam R.K., Zhang W.W., Trachtenberg J., Seth A., Klotz L.H., Stanimirovic A. et al. Utility of incorporating genetic variants for

- the early detection of prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15(5): 1787–93.
7. Schaefer A., Jung M., Mollenkopf H.J., Wagner I., Stephan C., Jentzmik F. et al. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int. J. Cancer.* 2010; 126(5): 1166–76.
8. Stamey T.A., Caldwell M., McNeal J.E., Nolley R., Hemenez M., Downs J. The PSA era in the United States is over for prostate cancer: what happened in the past 20 years? *J. Urol.* 2004; 172(4): 1297–301.
9. Thompson I.M., Ankerst D.P., Chi C., Goodman P.J., Tangen C.M., Lucia M.S., et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98(8): 529–34.
10. Schroder F.H., Hugosson J., Roobol M.J., Tammela T.L., Ciatto S., Nelen V. et al. Screening and prostate cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(13): 1320–8.
11. Stephenson A.J., Scardino P.T., Eastham J. A., Bianco F.J., Dotan Z.A., Fearn P. A. et al. Preoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J. Nat. Cancer Inst.* 2006; 98(10): 715–7.
12. Zheng S.L., Sun J., Wiklund F., Smith S., Stattin P., Li G. et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358, 910–19.
13. Chevillet J. C., Karnes R. J., Therneau T. M., Kosari F., Munz J.-M., Tillmans L. et al. Gene panel model predictive of outcome in men at high-risk of systemic progression and death from prostate cancer after radical retropubic prostatectomy. *J. Clin. Oncology.* 2008; 26(24): 3930–6.
14. Koh C. M., Bieberich C. J., Dang C. V., Nelson W. G., Yegnasubramanian S., De Marzo A. M. MYC and prostate cancer. *Genes and Cancer.* 2010; 1(6): 617–28.
15. Andriole G.L., Crawford E.D., Buys S.S., Grubb R.L. III et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1310–9.
16. Schröder F.H., Hugosson J., Roobol M.J. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1320–8.

Поступила 28.11.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.5-006.81-092:612.13]-092.9

Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Трештаки Л.К., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д.**ФАКТОРЫ РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И РЕЦЕПТОРОВ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ПЕРЕВИВАЕМОЙ МЕЛАНОМЫ В16/F10**

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, 344037, г. Ростов-на-Дону

Рост любой злокачественной опухоли связан с неоангиогенезом и неоплимогенезом, что дает неоплазме возможность автономного развития. Основными агентами этих процессов является семейство факторов роста сосудистого эндотелия (VEGF), представленных VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, осуществляющих свой биологический эффект в результате взаимодействия с тирозинкиназными рецепторами R_1 , R_2 и R_3 . В опухоли, перифокальной зоне и неповрежденной коже у лабораторных животных – мышей с перевитой подкожно меланомой В16/F10 ($n = 40$) изучали зависимость изменения уровня VEGF-A, VEGF-C, а также их рецепторов – R_1 , R_2 от развития злокачественной опухоли. Установлено, что на протяжении роста меланомы В16/F10 в организме мышей линии C57BL/6j активно реализуются механизмы образования различных сосудов – неоангиогенез, неоплимогенез и васкулогенная мимикрия. При этом факторы роста и их рецепторы синтезируются не только опухолью, но и окружающими ее тканями и даже отдаленными от опухоли участками кожи. До 2-й недели развития опухоли меланома является лидирующим компонентом по экспрессии факторов роста и их рецепторов, однако к 3-й неделе лидерство переходит к перифокальной зоне, в которой продолжается нарастание уровня как VEGF, так и их рецепторов. Интересен тот момент, что для отдаленных от опухоли участков кожи гораздо более активным является синтез VEGF-C и его рецептора.