

ристикам, предметные стекла используются один раз. Стекла перед использованием обязательно промываются в дистиллированной воде и тщательно обезжириваются, например, 96% этиловым спиртом. Маркировка стекол производится либо наклейкой штрих-кода, либо нанесением надписи фло-мастером в части стекла, предназначенной для маркировки.

Для приготовления мазков используется устройство V-Sampler. Кровь на предметное стекло наносится в объеме $5 \pm 0,5$ мкл с помощью автоматического дозатора с разовыми пластиковыми наконечниками. Настройку и регулировку V-Sampler осуществляют таким образом, чтобы мазок имел длину 3,7–4,5 см и заканчивался метелочкой на расстоянии 0,7–0,9 см от конца стекла. После приготовления мазка он должен быть высушен при комнатной температуре.

Окрашивание мазков крови производится по методу Романовского – Гимзы (в зарубежной литературе Май-Грюнвальд – Гимза (MGG) в автоматическом приборе для окраски предметных стекол V-Chromer. Для приготовления реактивов используется дистиллированная вода с pH $6,9 \pm 0,1$ единицы. Фиксация мазков осуществляется в красителе-фиксаторе Май-Грюнвальда в течение 3 минут. Краситель Романовского–Гимзы готовится по модифицированной методике непосредственно перед использованием. Необходимость модификации обусловлена тем, что при использовании традиционного метода на поверхности мазка образуются многочисленные преципитаты красителя, создающие грязный фон и затрудняющие работу автоматизированных систем анализа мазков крови. Решение этой проблемы достигнуто добавлением к водному раствору краски 10% от общего объема 96% этилового спирта. Для приготовления 250 мл рабочего раствора краски следует взять 25 мл красителя Романовского–Гимзы, добавить к нему 25 мл 96% этилового спирта и довести объем до 250 мл дистиллированной водой с pH $6,9 \pm 0,1$ единицы. Окраска осуществляется в течение 15 минут на автомате для окраски мазков V-Chromer. После окраски мазки высушить. Данный протокол позволяет приготовить качественные мазки с низким содержанием грязи и отсутствием преципитатов краски.

Использование данного протокола для подготовки мазков крови повысило эффективность работы автоматизированной системы анализа мазков крови Vision Nema. Увеличение производительности работы связано с ускорением сбора галерей клеток в качественном мазке и более правильной их преклассификацией по типам. В мазках крови с нормальным лейкоцитозом система в среднем затрачивала $2,7 \pm 1,14$ мин для сбора изображений 100 лейкоцитов. Чувствительность обнаружения ядросодержащих клеток крови составила $98,4 \pm 1,2\%$. Специфичность распознавания клеток также увеличилась. Процент ручной коррекции в мазках с нормальной лейкоцитарной формулой составил $4,9 \pm 3,2\%$ при подсчете 100 клеток.

Таким образом, стандартизация преаналитического этапа увеличивает эффективность и производительность работы

автоматизированных систем анализа мазков крови и является залогом успешного их использования в практической деятельности КДЛ.

А.А. Хартукова. Важные аспекты водоподготовки в клиничко-диагностической лаборатории. Sartorius

Начав свою историю в 1870 г. с мастерской по производству высокоточных весов, сегодня концерн Sartorius является всемирно признанным лидером в производстве лабораторного оборудования и крупнейшим поставщиком решений для промышленного производства в области биотехнологии и фармацевтики.

Современная лаборатория все больше требований предъявляет к точности и воспроизводимости анализов. Для достижения этого, на рынок производителями аналитического оборудования выводится все более точное и чувствительное оборудование, которое само может контролировать качество промышленных тестов. Особую важность это приобретает в клиничко-диагностической лаборатории (КДЛ), где от точности результата зависит постановка диагноза пациенту.

Качество воды при проведении исследований на высокочувствительном оборудовании становится таким же существенным фактором, влияющим на анализ, как и качество реактивов. Например, для надежной, точной и бесперебойной работы биохимических анализаторов (БХА) требуется деминерализованная вода класса NCCLS тип II. Данный тип воды можно получить методом электродеионизации или глубокой деминерализации воды на высокоочистных ионообменных смолах. Однако оба эти метода требуют специальной подготовки воды – частичной деминерализации на системах обратного осмоса.

Как правильно и с минимальными затратами организовать комплекс водоподготовки в вашей лаборатории? Какую технологию очистки воды предпочесть? На это влияет множество факторов таких, как:

- качество исходной воды;
- объем необходимой водоподготовки, суточный и часовой расход воды;
- требования к воде используемых методик и оборудования.

Конечно, тяжело учесть в одном докладе все многообразие исходных данных и уникальные условия каждой лаборатории, однако специалисты компании Sartorius имеют большой опыт в решении нестандартных задач. С нашими инновационными системами очистки воды агит уже сейчас многие КДЛ:

- получают воду необходимого качества и оптимизируют затраты на расходные материалы;
- отказались от химических промывок накопителей воды и аккумулируют воду в системах хранения очищенной воды Sartorius bagtank без потери ее качества в течение длительного времени;
- думают только о своей работе, а о водоподготовке заботятся системы лабораторной очистки воды Sartorius.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В ОНКОЛОГИИ

Д.Г. Заридзе. Полногеномные исследования в онкологии: современное состояние и перспективы (лекция) ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Доминирующую роль в этиологии злокачественных опухолей играют факторы образа жизни и окружающей среды: курение, избыточный вес, инфекционные агенты, потребление алкоголя и т. д. Однако вероятность заболеть раком, т. е. индивидуальный риск развития рака, кроме курения и других менее значимых факторов риска определяется и индивидуальной предрасположенностью. Результаты молекулярно-генетических исследований указывают на возможную связь

между полиморфизмом генов, регулирующих метаболизм канцерогенных веществ, клеточный цикл, воспаление и многие другие ключевые события канцерогенеза и риском злокачественных опухолей. В связи с этим важным направлением онкологических исследований является изучение роли генетического полиморфизма в этиологии «спорадических» (ненаследственных) опухолей человека. Наиболее часто встречающийся тип генетического полиморфизма – однонуклеотидный полиморфизм – single nucleotide polymorphisms (SNPs). Идентифицировано несколько миллионов вариантов SNPs. Риск развития рака, связанный с этим типом полиморфизма, скорее всего, невысок, и доля злокачественных опу-

холей, связанных с определенным вариантом полиморфизма, зависит от частоты встречаемости этого варианта среди населения. Первые работы по определению роли генетического полиморфизма в этиологии злокачественных опухолей были ориентированы на конкретные гипотезы. В них изучался полиморфизм 1–2 генов, которые согласно гипотезе должны были влиять на предрасположенность к развитию рака. Однако результаты большинства этих исследований в дальнейшем не подтвердились. Как известно, репликация (воспроизводство) результатов является главным показателем того, что обнаруженная связь отражает интересующий нас биологический процесс. В настоящее время в результате технологического прогресса стало возможно одновременно исследовать варианты многих тысяч генов, что позволяет оценить комбинированное влияние относительно часто встречающихся аллельных вариантов генов, участвующих в различных биологических механизмах канцерогенеза, на риск развития рака. Доступность панелей, позволяющих «метить» (идентифицировать) SNPs (полиморфизм одиночных нуклеотидов) на протяжении практически всего генома, значительно расширила возможности выявления относительно часто встречающихся генетических вариантов (с частотой в популяции более 1%) и анализа их связи с риском развития злокачественных опухолей.

Рак легкого. В рамках международного многоцентрового исследования рака легкого нами проведен анализ конституционального (герминогенного) генома 4435 больных раком легкого и 7272 здоровых людей. Использовали Illumina Sentrix HumanNap300 Bead Chip, который включает 317139 SNPs. В результате идентифицированы участки генома, содержащие аллельные варианты, которые значительно чаще встречались у больных раком легкого, чем у здоровых лиц. Первый участок расположен на длинном плече хромосомы 15 (15q25). На этом участке хромосомы расположены гены ацетилхолиновых рецепторов никотина (*CHRNA5*, *CHRNA3*, *CHRNA4*). Ассоциация с риском развития рака была наиболее выражена для двух аллельных вариантов (SNPs – rs11051730, rs8034191; rs¹ – reference snip – идентификационный номер варианта). Риск развития рака легкого наиболее высок у лиц, гомозиготных (C/C) по rs8034191 ($OP = 1,8$; 95%ДИ 1,6–2,0). Риск выше для аденокарциномы, у лиц в возрасте до 50 лет и у курящих, чем у некурящих. Второй участок расположен на коротком плече хромосомы 5 (5p15), который содержит два SNPs высокого риска. У индивидов гетерозиготных и гомозиготных по этим SNPs повышен риск развития рака легкого. Локус 5p15 содержит ген *hTERT*, который регулирует образование теломеры и поддерживает сохранность теломеров.

Рак верхних дыхательных и пищеварительных органов (ВДПО). В полногеномное исследование включены 2000 больных ВДПО и 3000 контрольных лиц (стадия идентификации) и 6500 больных и 7900 контрольных лиц (стадия репликации). Идентифицированы пять генетических вариантов (полиморфизмов), расположенных на хромосомах 4q21, 4q23 и 12q24, статистически достоверно влияющие на предрасположенность к раку ВДПО ($p < 5 \cdot 10^{-7}$). Три аллельных варианта расположены на хромосоме 4q23 на участке, на котором локализованы гены алкоголь дегидрогеназы *ADH1B* – rs1229984, *ADH7* – rs1573496, *ADH1C* – rs698. Открыты два новых варианта, влияющие на предрасположенность к раку ВДПО: rs1494961 – на 4q21 на участке, на котором локализованы гены, участвующие в репарации ДНК (*HEL308* и *FAM1765*) и rs4767364 – на 2q24.

Рак почки. Рак почки часто ассоциирован с синдромом von Hippel-Lindau (*VHL*) и другими редкими генетическими синдромами. Однако подобные наследственные формы почечноклеточного рака составляют не более 5% всех случаев этого заболевания. Поэтому представляет интерес изучение относительно часто встречающихся генетических вариантов (с низкой пенетрацией) с умеренным влиянием на риск. В результате полногеномного исследования 3800 больных и 8500 контрольных лиц (стадия идентификации) и 2500 больных

и 4900 контрольных лиц (стадия репликации) идентифицирован участок на хромосоме 2p21, влияющий на предрасположенность к почечноклеточному раку. На данном участке 2p21 расположен ген *EPAS1*, кодирующий фактор, индуцируемый гипоксией (hypoxia inducible factor) – HIF-2 альфа, который является ключевым геном в механизме канцерогенеза с участием *VHL-HIF*. Риск рака почки у индивидов с rs7579899 (*EPAS1*) вариантом повышен: у курильщиков ($OP = 1,3$; 95%ДИ 1,1–1,4), у лиц, куривших в прошлом ($OP = 1,2$; 95%ДИ 1,1–1,3), но не у некурящих ($OP = 1,0$; 95%ДИ 0,9–1,1). Это наблюдение указывает на то, что влияние гена *EPAS* на риск развития ПК рака, по-видимому, зависит от фактора курения.

Полногеномные исследования – новая платформа для открытия аллельных вариантов, влияющих на предрасположенность к развитию злокачественных опухолей, которые могут быть использованы как маркеры болезни для разработки методов профилактики и лекарственных средств избирательного действия. Этот метод позволяет без предварительной гипотезы одновременно анализировать несколько сотен тысяч аллельных вариантов (более 1 000 000 SNPs) во многих тысячах образцах. Идентификация геномных вариантов, влияющих на риск развития заболевания, на основании сканирования всего генома значительно ускорит процесс открытия генов, предрасполагающих к развитию различных форм рака. Учитывая огромный потенциал геномных исследований и то, что цена на них постоянно снижается, можно предположить, что полное или частичное секвенирование генома опухоли для оценки индивидуального риска развития рака и выработки стратегии лечения больного не в таком уж отдаленном будущем войдет в клиническую практику.

М.В. Немцова. **Применение ДНК- и РНК-маркеров в практической онкологии.** НИИ молекулярной медицины ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ

Группу молекулярных маркеров, используемых в диагностике опухолей, можно разделить на биохимические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические. Большая часть биохимических онкомаркеров, вошедших в клиническую практику (РЭА, СА-19-9, СА-72-4), представляют собой белки, и определяются в крови, а не в опухоли. Это облегчает забор материала для исследования, но удаленность маркера от опухолевого очага снижает его чувствительность и специфичность. Концентрация сывороточных маркеров также может изменяться при доброкачественных новообразованиях, воспалительных процессах или при опухолях других локализациях. Другой тип молекулярных маркеров активно используемых в клинической практике в последнее время – это иммуногистохимические маркеры, которые представляют собой белковые молекулы – продукты экспрессии генов, активно участвующих в процессе канцерогенеза. Как правило, эти маркеры определяют в опухолях, зафиксированных в парафиновых блоках. Исследование маркеров этого типа проводят при участии морфолога, визуально определяющего опухолевые клетки. Непосредственное исследование маркеров в опухоли делают их достаточно чувствительными и специфичными, что необходимо для практической работы в клинике. Однако изменение белковой экспрессии является заключительным этапом реализации генетической информации, приводящей к опухолевому процессу. Классическая передача генетической информации в клетке ДНК-→РНК-→белок предполагает, что до проявления аномальной экспрессии белков, повреждения затрагивают и ДНК, и РНК. В последнее время большое значение приобретают молекулярногенетические маркеры, основанные на использовании ДНК и РНК-технологий. Они представляют собой структурные и функциональные повреждения, выявляемые в геноме опухолевой клетки, потому что нестабильность генома является основным свойством опухоли. Подобные повреждения приводят к изменению экспрессии генов, регулирующих клеточный цикл, метастатическую

и инвазивную активность клеток. В результате таких нарушений изменяется экспрессия генов, кодирующих адгезионные белки и факторы активности неоплазии, возникает аномальное метилирование регуляторных областей генов-супрессоров, активируется теломераза в клетках опухолей и т. д. Повреждения генома приводят к развитию, как наследственных онкологических синдромов, так и спорадических опухолей. Подобные повреждения можно использовать в качестве опухолевых маркеров, достаточно чувствительных и специфичных. Они просты в лабораторном исследовании, выявляются в опухолевых тканях и биоптатах, однако их применение требует тщательной научной разработки и подготовки для внедрения в клиническую практику. Исследование молекулярно-генетических маркеров представляет собой обширное поле научно-исследовательской деятельности и имеет принципиальное значение для клиники. Существует несколько направлений, в клинической онкологии, где уже сегодня активно применяют маркеры, полученные при использовании ДНК- и РНК-технологий. К этим направлениям можно отнести: 1) диагностику наследственных форм рака; 2) определение маркеров прогноза; 3) определение маркеров, свидетельствующих о начальных стадиях опухолевого процесса; 4) определение маркеров, свидетельствующих о наличии микрометастазов; 5) диагностика ДНК-маркеров, определяющих чувствительность к лекарственным средствам, особенно к таргетной терапии;

Диагностика наследственных форм рака. Наследственные формы рака составляют от 5–10% всех опухолей, но среди опухолей определенного типа их доля достигает 30%. Наследственные онкологические синдромы характеризуются накоплением в семье случаев опухолей определенного типа, передачей заболевания от родителей к детям, проявлением множественных опухолей, а также ранней манифестацией опухолевого процесса, обычно до 30 лет. Герминальные (наследуемые) мутации в гене, ответственном за возникновение наследственных форм рака возникают в гаметах родителей или *de novo* на ранних стадиях дробления при эмбриональном развитии. Появление таких мутаций определяет риск развития опухоли от 70 до 100% и среди них следующие гены: *TP53* (саркомы, РМЖ, опухоли мозга, лейкозы, *RB1* (ретинобластома, остеосаркома, РМЖ, рак простаты, мочевого пузыря, легких), *PTEN* (глиобластома, рак простаты, РМЖ, неходжкинские лимфомы), *ATM* (лейкемия), *WT1* (нефробластома), *BRCA1* и *BRCA2* (РМЖ, рак простаты), *CDH1* (диффузный рак желудка, лобулярный РМЖ), *APC* (множественные аденоматозные полипы и рак толстой кишки), *CDKN2A(p16)* (мезотелиомы, меланомы, глиобластомы), *RET* (медулярная, папиллярная тиреокарциномы), *VHL* (феохромоцитомы, светлоклеточная карцинома почки). Определение носительства герминальных мутаций в семьях и, особенно у бессимптомных носителей, является важной задачей практической медицины. Выявление мутаций позволяет контролировать манифестацию опухолевого процесса у носителей мутации, а также при некоторых типах опухолей, например, при РМЖ или раке почки, влияет на тактику лечения, корректируя объем хирургического вмешательства и химиотерапевтическое лечение. Кроме того, выявление наследуемых мутаций требует разработки алгоритмов медико-генетического консультирования семей, в которых имеются бессимптомные носители и больные с мутациями.

Определение маркеров прогноза. Поиск маркеров прогноза напрямую связан с изучением молекулярного патогенеза опухоли и определением его основных этапов, определяющих клиническое течение опухоли. Маркерами прогноза являются молекулярно-генетические изменения, определенные в опухолевой ткани, полученной в результате хирургического лечения или биопсии. В качестве таких изменений исследуют хромосомные и геномные перестройки, мутации, делеции, транслокации, ассоциированные с развитием опухоли. В последнее время, в связи с развитием технологии микрочипов, которая позволяет исследовать сразу тысячи

генов для одного пациента, в качестве маркеров прогноза исследуют изменения экспрессионного спектра на уровне РНК, или изменение спектра регуляторных последовательностей, таких как микро-РНК. Показано, что нарушение эпигенетической регуляции генной активности имеет большое значение для канцерогенеза. Исследование метилирования генома с помощью технологии микрочипов, как аномального метилирования генов-супрессоров опухолевого роста, так и общего уровня метилирования/деметилирования всего генома, также может быть использовано для диагностики и оценки прогноза.

Определение маркеров, свидетельствующих о начальных стадиях опухолевого процесса. Поиск маркеров ранней, доклинической диагностики опухолевого роста является важной задачей клинической онкологии. Благоприятный прогноз и успех лечения большинства опухолей напрямую зависит от диагностики их на ранних стадиях. К сожалению, определение опухолевых клеток посредством морфологического анализа обычно происходит на более поздних стадиях, когда заболевание имеет клинические проявления, иногда достаточно тяжелые. Определение молекулярно-генетических и иммуногистохимических маркеров, ассоциированных с развитием опухоли, еще на стадии предопухолевых изменений является заманчивой перспективой для практической онкологии. Определение группы подобных маркеров позволит приступить к более раннему лечению, а также осуществлять мониторинг пациентов с повышенным риском развития опухоли определенного типа. Известно, что метилирование/деметилирование генома, отдельных генов и их регуляторных районов является ранним событием канцерогенеза, и может определяться еще до клинической манифестации заболевания. Поэтому в качестве маркеров ранней диагностики сегодня используют анализ метилирования генома или отдельных генов, которые исследуют в биопсийном материале, полученном для морфологического исследования. В последнее время изучают спектр метилирования/деметилирования в лимфоцитах периферической крови, как реакцию организма на развитие опухоли определенного органа.

Определение маркеров, свидетельствующих о наличии микрометастазов. Поиск микрометастазов в крови онкологического пациента предполагает выявление циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК). Выявление ЦОК основано на использовании специфических свойств опухолевых клеток, которые отличают их от клеток крови, особенно лейкоцитов. Циркулирующие опухолевые клетки отличаются по размеру и экспрессии некоторых белков и рецепторов, расположенных на клеточной поверхности, таких как ЕРСАМ и цитоцератин. Экспрессию этих генов можно выявить в крови пациента, посредством различных молекулярно-генетических и иммуногистохимических методов. В настоящее время разработаны и применяются анализаторы, позволяющие исследовать единичные циркулирующие в крови клетки РМЖ.

Определение ДНК-маркеров, определяющих чувствительность к лекарственным средствам. Развитие индивидуальной предсказательной медицины невозможно без исследования лекарственной чувствительности опухолей к проводимому лечению. Каждый организм имеет свои характеристики, свои индивидуальные особенности генома, определяющие вариации в спектре и активности белков и ферментов, поэтому ответ на проводимую лекарственную терапию тоже может быть разным. Молекулярно-генетические исследования позволяют исследовать активность ферментов, влияющих на лекарственный метаболизм, опираясь на ДНК и РНК-изменения в геноме. Исследование определенных мутаций и полиморфизмов в ДНК, модулирующих активность ферментов лекарственного метаболизма и гормонального уровня, позволит оценить ответ на лечение до его проведения и рассчитать дозу лекарственного средства, допустимую для пациента. В последнее время активно внедряются в практику препараты, воздействующие на определенный этап патогенеза опухоли, так называемая

таргетная терапия. Для успешного применения этих новых лекарственных средств совершенно необходимо проведение оценки определенного патогенетического звена канцерогенеза, на который и воздействует предложенное средство. Исследование мутаций в генах рецепторов и молекул, участвующих в передаче сигнала, стимулирующего клеточное деление, выявление амплификации рецепторов требует применения всего арсенала молекулярно-генетических методов, от ПЦР и секвенирования до гибридизации *in situ*, для осуществления успешного лечения определенного типа опухоли у конкретного пациента.

В.В. Делекторская, Н.А.Козлов, Г.Ю. Чемерис. Экспрессия Ki67 и злокачественный потенциал нейроэндокринных опухолей желудочно-кишечного тракта и поджелудочной железы. ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Нейроэндокринные опухоли (НЭО) желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и поджелудочной железы (ПЖ) образуют гетерогенную группу эпителиальных новообразований, которые значительно различаются по биологическим характеристикам и клиническому течению. Определение злокачественного потенциала НЭО является сложной диагностической проблемой и основой для оценки прогноза заболевания и получения оптимальных результатов лечения данной патологии. Ключевым параметром для диагностики степени злокачественности НЭО является индекс пролиферативной активности опухолевых клеток – индекс Ki67. Принимая во внимание, что более 60% больных НЭО пищеварительной системы имеют метастазы на период постановки диагноза, большое значение имеет уточнение степени злокачественности метастатических форм опухолей и изучение факторов, влияющих на их клиническое течение.

Цель исследования – ретроспективный анализ локализованных и метастатических форм НЭО ЖКТ и ПЖ для изучения взаимосвязи пролиферативной активности опухолевых клеток с клинико-морфологическими параметрами и показателями выживаемости. Экспрессия Ki67 оценена в первичных опухолях и их метастазах в лимфатических узлах и печени.

В исследование включено 132 больных НЭО ЖКТ и ПЖ, проходивших хирургическое лечение в ФГБУ РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН за период с 1994 по 2011 г. Возраст больных варьировал от 16 до 79 лет (в среднем - 51 ± 5 лет), 59 мужчин и 73 женщины. Первичные НЭО пищеварительной системы были представлены: НЭО ПЖ – 72 (54,5%), НЭО подвздошной кишки – 20 (15,1%), НЭО желудка – 18 (13,6%), НЭО толстой кишки – 13 (9,8%), НЭО двенадцатиперстной кишки – 7 (5,3%), НЭО аппендикса – 2 (1,5%). Размер первичных опухолей составлял 0,3–16,0 см (в среднем - 2,5 см). При первичной диагностике у 39 (29,5%) больных выявлена локализованная форма заболевания, у 40 (30,3%) – регионарное распространение и у 53 (40,2%) – отдаленные метастазы. Длительность периода послеоперационного наблюдения находилась в пределах 6–312 мес. (медиана – 35 мес.). За этот период у 5 (3,8%) пациентов выявлен локальный рецидив, у 31 (23,5%) – метастатические отдаленные метастазы. В 18 (13,6%) случаях больные умерли от прогрессирования заболевания. Медианы общей и безрецидивной выживаемости составили 35 и 27 мес, соответственно. Морфологический анализ операционного материала включал в 58 наблюдениях только первичные НЭО, в 74 случаях - первичные и метастатические (синхронные и метастатические) очаги опухолевого роста. Иммуногистохимические (ИГХ) исследования препаратов первичных и метастатических опухолей выполнены на серийных парафиновых срезах с использованием антител к Ki67 (MIB-1), хромогранину А (CgA), синаптофизину (Syn) (фирма «Dako») и системы детекции Super Sensitive™ Polymer-HRP («BioGenex»). Нейроэндокринная природа первичных и метастатических новообразований подтверждена на основании гистологического исследования и анализа ИГХ экспрессии хромогранина А и синаптофизина. Индекс Ki67

выражали как процент антиген-позитивных ядер опухолевых клеток в зонах максимальной экспрессии при учете 2000 клеток. Математический анализ полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ SPSS 17.0 for Windows и Microsoft® Office Access 2007. Достоверность различий частот признаков в изучаемых группах определяли с использованием критерия χ^2 (различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$). Анализ прогностической значимости изучаемых параметров и построение кривых выживаемости проводили методом Каплан-Майера. Достоверность различий в выживаемости оценивали с помощью log-rank теста.

С учетом степени дифференцировки все исследованные нейроэндокринные новообразования ЖКТ и ПЖ разделены на 2 основные группы: высокодифференцированные НЭО, включающие 126 (95,5%) случаев, и низкодифференцированный нейроэндокринный рак (НЭР), представленный мелкоклеточным типом в 6 (4,5%) наблюдениях. Высокодифференцированные НЭО имели характерное органоидное строение в виде гнездовых, альвеолярных, трабекулярных и солидных структур и содержали не более 10 митозов в 10 репрезентативных полях зрения ($\times 400$). Для НЭР был характерен диффузный характер роста, обширные участки некрозов и высокая митотическая активность. При сравнении первичных и метастатических НЭО не обнаружено достоверных различий в вариантах гистологического строения и уровне экспрессии маркеров нейроэндокринной дифференцировки хромогранина А и синаптофизина. Анализ пролиферативной активности клеток (индекса Ki67) первичных НЭО пищеварительной системы показал, что 29 (22,0%) опухолей имели низкую (G1) (Ki67 – 1–2%), 85 (64,4%) – промежуточную (G2) (Ki67 – 3–20%), 18 (13,6%) – высокую (G3) (Ki-67 – 25–80%) степень злокачественности. При этом в опухолях без метастазов ($n = 62$), с метастазами ($n = 70$) и в метастазах в печени ($n = 70$) степень злокачественности была определена как G1 в 19 (30,6%), 10 (16,1%) и 2 (3,2%) случаях, G2 – в 41 (58,6%), 44 (62,9%) и 16 (22,9%) наблюдениях, G3 - в 0 (0%), 18 (25,7%) и 18 (25,7%) случаях, соответственно. Таким образом, низкая степень злокачественности более характерна для опухолей без отдаленных метастазов, достоверных различий в частоте встречаемости НЭО промежуточной степени злокачественности в зависимости от наличия или отсутствия метастазов обнаружено не было, а высокая степень злокачественности преобладала в метастатических первичных опухолях и их метастазах. Средние значения индекса Ki67 в группах НЭО без метастазов, метастатических НЭО и их метастазах в печени (синхронных и метастатических) составили 7,3, 12,7 и 14,6%, соответственно. В 19 (27,1%) из 70 исследованных отдаленных метастазов отмечено увеличение уровня пролиферативной активности клеток метастазов в печени в 1,5–4,5 раз по сравнению с первичной опухолью. При этом в 10 (25%) из 40 случаев первичная опухоль была локализована в различных отделах ЖКТ и в 9 (30%) из 30 наблюдений - в ПЖ. Значения Ki67 в регионарных метастазах в лимфатических узлах в большинстве случаев достоверно не отличались от таковых в первичном очаге опухолевого роста. В группе НЭО G1 рост индекса Ki-67 наблюдали в 4 из 10 выявленных метастазов. В 2 случаях индекс Ki67 в метастазах в печени увеличился до 9% и соответствовал градации G2. Средние значения Ki-67 в группе НЭО G1 без метастазов, НЭО G1 с метастазами и отдаленных метастазах составили 1,7, 1,9 и 4,8%, соответственно. В группе НЭО G2 в 15 из 44 метастатических опухолей был отмечен рост индекса Ki67 с 6–8% в первичной опухоли до 18–20% в синхронных и 27–30% в метастатических вторичных очагах опухолевого роста. Средние значения Ki-67 в группе НЭО G2 без метастазов, НЭО G2 с метастазами и отдаленных метастазах составили 9,7, 12,6 и 15,9% соответственно. Важно отметить, что уровень Ki67 превысил пороговое для НЭО G2 значение, равное 20%, в 4 первичных НЭО и 7 метастазах. С учетом максимального значения индекса Ki67, составляющего 25–35%, НЭО ЖКТ и ПЖ в 12 (9,1%) случаях были выделены в отдельную

группу НЭО G3. Данные новообразования были отнесены к градации G3 в соответствии с фракцией пролиферации, но не гистологической структурой и степенью дифференцировки. В группу НЭО G3 было включено 5 НЭО ЖКТ и 7 НЭО ПЖ, которые сопровождалась развитием отдаленных метастазов в 100% случаев. Средние значения Ki-67 в группе НЭО G3 с метастазами и отдаленных метастазах составили 25,7 и 25,1% соответственно. В группе низкокодифференцированного НЭР G3 во всех первичных опухолях и исследованных метастазах наблюдали высокий уровень пролиферативной активности, который составлял 50–80% Ki67-позитивных клеток. Анализ связи ключевых клинико-морфологических параметров НЭО ЖКТ и ПЖ с уровнем экспрессии Ki67 показал, что индекс пролиферации > 5% достоверно коррелирует с увеличением размера опухоли ($p = 0,014$) и наличием отдаленных метастазов ($p = 0,007$). Значительно более высокая экспрессия Ki67 выявлена у больных, опухоли которых имели критерий рТ3-4 по сравнению с рТ1-2 (по системе TNM) и сопровождалась развитием отдаленных метастазов. При изучении прогностической значимости уровня экспрессии Ki67 достоверная обратная связь обнаружена между показателями пролиферативной активности и выживаемостью больных НЭО ЖКТ и ПЖ. Общая 5-летняя выживаемость больных НЭО низкой и промежуточной степени злокачественности составила 87 и 38% соответственно. НЭО промежуточной степени злокачественности значительно различались по агрессивности течения и метастатическому потенциалу, при этом наименее благоприятно протекали неоплазии с индексом Ki67 > 15%. Показатели общей и безрецидивной 3-летней выживаемости в этой группе больных были равны 33 и 16% соответственно, и достоверно отличались от показателей в подгруппах НЭО G2 с менее высоким уровнем пролиферативной активности клеток ($p = 0,005$). Прогноз НЭО G3 характеризовался снижением общей и безрецидивной выживаемости по сравнению с НЭО G1-G2, однако, достоверные различия были выявлены только при опухолях, локализованных в желудке ($p = 0,001$). При сравнении выживаемости больных НЭО G2 и НЭО G3 в общей группе, независимо от анатомической локализации исходной опухоли, достоверных различий в прогнозе течения болезни обнаружено не было ($p = 0,197$).

Результаты исследования показывают, что пролиферативная активность, определяемая в НЭО ЖКТ и ПЖ с помощью анализа ИГХ экспрессии антигена Ki67, может повышаться во вторичных очагах опухолевого роста в 1,5–4,5 раза по сравнению с первичной опухолью. Полученные данные подтверждают возможность увеличения злокачественного потенциала НЭО в метастазах в процессе опухолевой прогрессии, при этом первичные НЭО низкой или промежуточной степени злокачественности (G1/G2) сохраняют в отдаленных метастазах типичную высококодифференцированную гистологическую структуру, но могут демонстрировать более высокую пролиферативную активность и градацию (G2/G3). Кроме того, уровень Ki67 в высококодифференцированных НЭО пищеварительной системы достоверно коррелирует с увеличением размера опухоли, наличием отдаленных метастазов и прогнозом заболевания. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что определение пролиферативной активности клеток в каждом из мест развития опухолевого процесса имеет принципиальное значение в диагностике НЭО ЖКТ и ПЖ. Увеличение уровня экспрессии Ki67 в метастазах по сравнению с первичной опухолью следует расценивать как неблагоприятный фактор прогноза и учитывать при оценке степени злокачественности новообразования и выборе варианта дальнейшего лекарственного лечения метастатического поражения печени.

М.Л. Филипенко, Н.В. Оськина¹, В.С. Дорошенко², Е.А. Храпов¹, Д.В. Морозов³, А.Ф. Лазарев². **Выявление соматических мутаций в опухолях для персонализации их лечения.**¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск; ²Алтайский филиал ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН, Барнаул; ³ГБУЗ НСО (ГКБ № 1), Новосибирск

Сигнальный путь PI3K/Akt/mTORPI3K играет важную роль в процессе злокачественной трансформации, стимулируя пролиферацию, выживание и подвижность клеток. Активация этого пути наблюдается в опухолях разного происхождения и может осуществляться разными молекулярными механизмами. Эти механизмы включают активацию aberrантных рецепторов выше PI3K, амплификацию или появления активирующих мутаций в гене PIK3CA, кодирующего каталитическую субъединицу p110 α PI3K, инактивацию продукта гена PTEN посредством соматического мутагенеза, делеций или эпигенетического замолкания. Активация сигнального пути PI3K могут рассматриваться как ранние причинные события при злокачественной трансформации клеток или как адаптивный ответ на лекарственную терапию. Компоненты сигнального пути PI3K/Akt/mTOR представляют перспективные мишени для разработки противоопухолевых лекарственных препаратов. Целый ряд низкомолекулярных химических ингибиторов компонентов пути PI3K исследуются как потенциальные лекарственные препараты для лечения различных онкологических заболеваний, часть из которых сегодня находится на разных стадиях клинических испытаний. Соматические мутации PIK3CA, по видимому, могут также иметь значение при прогнозе ответа на терапию анти-EGFR моноклональными антителами (mAb) у пациентов с метастазирующим колоректальным раком. Тем не менее, предиктивный потенциал соматических мутаций PIK3CA для прогноза ответа на лечение остается дискуссионным и требует формирования представительных хорошо описанных групп пациентов, подвергающихся лекарственной терапии, с известным PIK3CA-статусом.

Цель исследования – идентификация соматических мутаций в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *PTEN*, *EGFR*, *AKT1* в ДНК, выделенной из гистологических парафиновых блоков опухолей больных раком прямой кишки, содержащих не менее 30% опухолевых клеток.

Опухоли исследовали у 150 больных раком прямой кишки в возрасте от 32 до 76 лет в III-IV стадиях заболевания. Проводили оценку чувствительности и специфичности выявления соматических мутаций методом анализа кривых плавления с высоким разрешением (HRM-анализа) с последующим секвенированием и аллель-специфичной PCR в режиме реального времени (модифицированный протокол).

На основании проведенных результатов исследования показано, что соматически мутации обнаружены в генах *EGFR* (2%), *KRAS* (41%), *BRAF* (5%), *PIK3CA* (11%), *PTEN* (4%). Использование HRM-анализа позволило обнаружить две новые мутации в экзонах 9 и 20 гена *PIK3CA*, которые по предсказанию *in silico* с высокой вероятностью ($p < 0,05$) могут являться патогенными. В то же время выявление соматических мутаций в кодонах 542 и 545 экзона 9 и в кодоне 1047 экзона 20 гена *PIK3C* позволило выявить мутацию в парных образцах опухоли и плазмы крови от одного пациента в 8 из 9 случаев, что указывает на высокий потенциал для неивазивной диагностики.

Н.И. Поспехова, А.С. Цуканов, В.П. Шубин, С.И. Ачкасов, В.Н. Кашиников, Е.Г. Рыбаков, Ю.А. Шелыгин. **Молекулярно-генетические аспекты наследственной и спорадической форм рака толстой кишки.** ФГБУ Государственный научный центр колопроктологии Минздрава России

В структуре онкологической заболеваемости в России колоректальный рак за последние годы переместился с 6-го на 3-е место. При этом отмечается тенденция к дальнейшему росту заболеваемости раком толстой кишки. Высокая смертность при этом заболевании (70 умерших на 100 заболевших) в основном обусловлена запоздалой диагностикой – у 60–70% больных диагностируются уже запущенные формы рака. Достижения фундаментальной науки (особенно в области молекулярной генетики) позволили разработать и внедрить в клиническую практику ряд молекулярно-генетических методов, способных выявлять структурные изменения генов, характеризующих процессы канцерогенеза спорадических и наследственных форм РТК. В последние годы активно ведется поиск специфических молекулярных маркеров с целью разработки на их основе те-

стов для ранней диагностики опухолей толстой кишки, прогноза заболевания и определения чувствительности конкретной опухоли к различным лекарственным препаратам. Такой подход должен привести к более ранней диагностике рака, а также служить основой для выбора тактики химиотерапии. В настоящее время сформировалось несколько направлений использования молекулярных исследований в онкоколопроктологии. В первую очередь – это ДНК-диагностика наследственных форм РТК. Второе направление – определение молекулярно-генетических характеристик опухоли в случае метастатического РТК при назначении пациенту химиотерапии или таргетных препаратов. Для колоректального рака принято выделять два основных наследственных синдрома: семейный аденоматоз толстой кишки (САТК) и наследственный непוליозный рак толстой кишки (ННПРТК, синдром Линча).

1. Семейный аденоматоз толстой кишки (САТК) – это наследственный синдром, который является важным фактором риска рака толстой кишки. Приблизительно 1% от всех случаев РТК связан с этим синдромом. Частота САТК составляет примерно 1 на 8000 новорожденных. Для данного синдрома клинически выделяют 2 формы: классическую и ослабленную (аттенуированную). Классическая форма заболевания клинически представлена сотнями и даже тысячами полипов, которые развиваются после первой-второй декады жизни. Средний возраст развития РТК у таких пациентов составляет около 30–35 лет, что на 30 лет раньше, чем в общей популяции. При этой форме САТК количество пораженных родственников в одной семье, как правило – два и более. Данная форма преимущественно вызывается мутациями в гене *APC* (частота мутаций в этом гене в разных популяциях составляет от 40 до 70%). В изученной нами выборке пациентов с классической формой САТК частота мутаций в гене *APC* составила 70%. Основными типами мутаций в гене *APC* являются делеции и стоп-кодны (суммарно более 80%). Аттенуированная форма САТК имеет следующие характеристики: менее 100 аденоматозных полипов; более поздний возраст возникновения заболевания, но при этом риск развития РТК остается высоким; небольшое количество пораженных родственников (0–2). Данная форма заболевания преимущественно обусловлена наследственными мутациями в гене *MUT*. В изученной нами выборке пациентов частота мутаций в гене *MUT* составила около 15%. Если учитывать только пациентов с числом полипов от 20 до 100, то частота выявленных мутаций вырастает до 40%. Основной тип мутаций – аминокислотные замены.

2. Наследственный непוליозный рак толстой кишки (ННПРТК, синдром Линча). У больных с синдромом ННПРТК обнаруживают наследственные мутации в генах репарации неспаренных нуклеотидов (MMR – в основном гены *MLH1* и *MSH2*). Частоты выявления мутаций в генах варьируют в зависимости от критериев выбора, этнической принадлежности, применяемых методов и других факторов. По нашему мнению, наиболее адекватными критериями для отнесения пациента к синдрому Линча являются следующие: 3 случая морфологически верифицированных рака толстой кишки (один из которых возник в возрасте до 50 лет) в 2–3 разных поколениях; 2 морфологически верифицированных рака толстой кишки в 2–3 разных поколениях и один или более случаев рака желудка, эндометрия, тонкого кишечника, яичников, уретры, почечной лоханки (один из случаев любого рака должен быть в возрасте до 50 лет); возраст возникновения рака толстой кишки – до 50 лет у обоих родственников в двух разных поколениях; наличие синхронных, метакхронных опухолей толстой кишки у одного родственника и случай рака толстой кишки у второго родственника (один из случаев любого рака должен быть в возрасте до 50 лет); метакхронный или синхронный рак толстой кишки в возрасте до 35 лет. У половины пациентов соответствующих данным критериям нами были обнаружены наследственные мутации в генах MMR.

3. Спорадические формы РТК. Генетические исследования при спорадических формах рака толстой кишки широко применяются. В диагностических и прогностических

целях определяют наличие соматических мутаций в разных генах, а также изменения в повторяющихся последовательностях ДНК (микросателлиты). К наиболее изученным генам, мутирующим в РТК относят *KRAS*, *TP53*, *APC*, *BRAF*, *NRAS*. Информативным ранним маркером РТК служат соматические мутации в гене *APC*, обнаруживаемые более чем в 80% случаев. Около 40% случаев РТК имеют активирующие соматические мутации в 12–13 кодонах гена *KRAS*. Около 10–15% – в 599–600 кодонах гена *BRAF*. Данные гены являются протоонкогенами и их мутационный статус может быть использован как прогностический – при колоректальном раке наличие мутации в гене *BRAF* и мутация Gly12Val в гене *KRAS* традиционно интерпретируются как факторы плохого прогноза. «Классические» мутации в генах *KRAS* и *BRAF* ассоциированы с потенциальной устойчивостью опухолевых клеток к ингибиторам рецепторов ростовых факторов, включая gefitinib и erlotinib, cetuximab и panitumumab, и к сорафенибу. При этом «классические» мутации в гене *BRAF* ассоциированы также с потенциальной чувствительностью к препарату PLX4032 и его аналогам. Опубликованы данные об эффективности применения аспирина у больных РТК в случае наличия соматической мутации в гене *PIK3CA*. Для подбора химиотерапии также важную роль имеет определение микросателлитной нестабильности (МСН) в опухоли. МСН в опухолевых клетках выявляется более, чем в 15% случаев при спорадической форме рака (по нашим данным около 18%) и практически в 95% случаев у пациентов с наследственной мутацией в генах MMR при синдроме Линча (по нашим данным 100%). Для надежного выявления МСН в настоящее время используется не менее 5 мононуклеотидных маркеров. Наличие МСН при колоректальном раке является положительным прогностическим фактором; однако сочетание микросателлитной нестабильности с мутацией в гене *BRAF* или с ранним возрастом пациента на момент диагноза (до 30 лет), напротив, является фактором неблагоприятного прогноза. Наличие в опухоли МСН ассоциировано с потенциальной устойчивостью опухолевых клеток к терапии на основе фторпиримидинов и оксалиплатина, а также с потенциальной чувствительностью к иринотекану.

4. Современные подходы для диагностики, прогноза РТК и определения резистентности/чувствительности опухоли к лекарственным препаратам. Нормальные и опухолевые клетки различаются по экспрессии многих генов различных метаболических путей. Метастазирование и распространенность опухоли могут оцениваться по характеру изменений экспрессии генов в опухолевых клетках (например, гены *ERCC1*, *CXCR4*, *ERβ*, *CDH1*, *MMP2*, *MCC1* и ряд других). Разработан и применяется экспрессионный тест ColoPrint (Agendia, Амстердам, Нидерланды), включающий 18 генов. Новыми перспективными молекулярными маркерами являются микроРНК – малые некодирующие молекулы РНК, регулирующие транскрипционную активность генов. В ГНЦК также ведутся работы в этом направлении.

И.В. Булычева, Н.Е. Кушлинский. Молекулярно-биологические маркеры в диагностике, определении прогноза и выборе терапии при остеосаркоме. ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Успехи в комбинированном хирургическом и химиотерапевтическом лечении резко увеличили сроки выживаемости больных при остеосаркоме в последнее десятилетие. Остеосаркома превалирует в структуре первичных злокачественных костных новообразований и составляет 35% от всех первичных костных опухолей. В последние годы особый интерес в клинической онкологии в области изучения костных опухолей привлекают различные тканевые, клеточные и молекулярные маркеры, характеризующие фундаментальные «биологические» свойства опухоли, а именно: пролиферативную и инвазивную способности, активность апоптоза и неапоптоза, склонность к инвазии и метастазированию. В ряде наблюдений молекулярно-генетические методы иссле-

дования могут быть полезны при выборе более эффективных методов противоопухолевой терапии и оценке прогноза.

Цель исследования – анализ собственных результатов и данных литературы по экспрессии некоторых молекулярно-биологических маркеров в остеосаркомах.

Основными характеристиками злокачественных новообразований считается их способность к неограниченному росту, что связано с нарушением механизмов апоптоза, устойчивостью к действию факторов, регулирующих процессы пролиферации и дифференцировки, а также склонностью к инвазии и метастазированию. Механизмы, определяющие способность опухолевых клеток к инвазии в окружающие ткани и метастазированию, до конца не изучены. Наиболее изученным считается 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 четырех 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, сурто), которые взаимодействуют только с REGF, а также херегулины (неурегулины), взаимодействующие с ErbB-3 и ErbB-4. Ни одного лиганда, взаимодействующего с рецептором ErbB-2 (Her-2/neu), до настоящего времени не обнаружено. Экспрессию Her-2/neu в остеосаркомах изучали несколько групп исследователей, однако до настоящего времени не существует общего мнения относительно его наличия в остеосаркомах и прогностической значимости. Хотя в большинстве исследований подтверждено специфическое для Her-2/neu мембранное окрашивание клеток остеосаркомы и выявлена избыточная экспрессия маркера в опухоли. Данные литературы о клинической значимости экспрессии белка Her-2/neu в опухолях костей весьма противоречивы. Некоторые авторы высказали предположение, что гиперэкспрессия *c-erbB-2* соответствует плохому прогнозу при остеосаркоме и связана с ранними легочными метастазами опухоли и низкими показателями выживаемости. Это позволило предположить важную роль *c-erbB-2* в агрессивном росте опухоли и влиянии его на метастатический потенциал остеосаркомы. Кроме того, выявили повышенную экспрессию *c-erbB-2* в большинстве остеосарком с неудовлетворительным ответом опухоли на химиотерапию и худшей безрецидивной выживаемостью. Однако следует указать, что не все исследователи придерживаются этой точки зрения, а некоторые даже выявили, что экспрессия *c-erbB-2* в остеосаркомах не коррелировала с показателями выживаемости. Кроме того, до настоящего времени не установлена частота выявления экспрессии Her-2/neu в остеосаркомах, при этом некоторые авторы опубликовали колебание частоты выявления Her-2/neu в мембранах клеток остеосарком от 0 до 18%. Следовательно, анализ показателей экспрессии Her-2/neu в остеосаркомах настоятельно требует дальнейшего изучения этого белка. Злокачественность новообразований определяется не только огромным пролиферативным потенциалом составляющих их клеток, но и устойчивостью этих клеток к действию факторов, регулирующих процессы дифференцировки и апоптоза. Особое внимание привлекает семейство белка Bcl, которое играет важную роль в регуляции митохондриальной цепи апоптоза и состоит из двух классов протеинов: проапоптотических (Bax, Bik, Bak, Bad, Bcl-xs) и антиапоптотических (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1). Именно соотношение ингибиторов и активаторов может определять предрасположенность клетки к апоптозу, а при наличии в клетке дефектных молекул Bax нарушается механизм нормальной ее гибели. До настоящего времени не понятно, как белки семейства Bcl ингибируют апоптоз, хотя показано, что эти молекулы взаимодействуют на поверхности митохондрий для поддержания нормального тканевого гомеостаза, а также выявлена прямая зависимость между степенью экспрессии Bcl-2 в опухоли и выживаемо-

стью больных низкодифференцированной остеосаркомой. При этом экспрессия Bcl-2 была выявлена только в цитоплазме, но не в ядре опухолей. Впервые была предложена классификация остеосаркомы с учетом уровня экспрессии Bcl-2 и пролиферативной активности. Показано, что опухоли с высокой экспрессией Bcl-2 плохо отвечали на химиотерапию, однако статистических данных не получено на эту корреляционную зависимость, поэтому исследователи предлагают дальнейшее изучение показателей экспрессии Bcl-2 как прогностического маркера при остеосаркомах. Кроме того, показано, что экспрессия Bcl-2 не коррелировала со степенью дифференцировки опухоли и прогнозом пациента, а некоторые исследователи обнаружили, что экспрессия Bax и Bcl-2 в остеосаркомах не играла прогностической роли в исходе заболевания, хотя повышенный индекс Bax/Bcl-2 достоверно сочетался с худшей выживаемостью. Все пациенты, в опухолях которых выявили следующее соотношение белков Bax(+)/Bcl-2(-)/p53(+), имели худший прогноз. Выше приведенные данные свидетельствуют о важной роли белков семейства Bcl, а именно ингибиторов апоптоза, которые способствуют онкогенезу и усилению экспрессируются в некоторых типах саркомах костей. Следует отметить, что 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 и сарком костей, усиленно синтезировать простагландины (ПГ), преимущественно ПГ серии E (ПГЕ). Также получены доказательства подавления опухолевого роста ингибиторами циклооксигеназы, простагландинсинтетазы, ПГН-синтетазы; COX-2 – ключевого фермента синтеза ПГ нестероидными противовоспалительными соединениями. Повышенная экспрессия COX-2 выявлена в клеточных линиях остеосаркомы человека (Saos-2, U2OS, TE85) и в самой опухоли. Данные некоторых авторов указывают, что гиперэкспрессия COX-2 в клетках остеосаркомы снижает жизнеспособность клеток опухоли посредством увеличения свободных форм кислорода и тем самым может ингибировать прогрессию опухолевого процесса. Пока еще нет четких подтверждений, что экспрессия COX-2 в первичной опухоли взаимосвязана с клиническим течением остеосаркомы. Вместе с тем по данным некоторых исследователей гиперэкспрессия COX-2 ассоциирована с низкой безрецидивной выживаемостью больных остеосаркомой и склонностью к развитию ранних метастазов опухоли.

Полагаем, что на основании изучения молекулярно-биологических особенностей сарком костей, может быть создана новая стратегия лечения, непосредственно влияющая на ключевые процессы опухолевого роста. Знание специфических биологических характеристик опухоли может помочь в усовершенствовании существующих схем лекарственного лечения, в 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 разделения групп риска среди обследованных пациентов с первичным диагнозом саркома кости. Кроме того, новые молекулярные мишени находятся под пристальным вниманием исследователей для выявления агентов эффективной таргетной терапии. К сожалению, для практического использования, а именно оценки прогноза и выбора эффективной неoadъювантной химиотерапии, эти маркеры до настоящего времени не считаются общепризнанными. Вместе с тем, все выше изложенное свидетельствует об актуальности комплексного изучения морфологических, рентгенологических, молекулярно-генетических и клинических характеристик опухолей костей с целью эффективной диагностики, лечения и оценки прогноза заболевания.