

Обзоры

КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК. ОПУХОЛЕВЫЕ МАРКЕРЫ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Н.Е. Кушлинский¹, В.А. Исаков², В.В. Делекторская¹, ГХ. Кусаинов¹, В.Е. Гольдберг³

Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН¹, г. Москва
Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского²
НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН³

В настоящее время использование молекулярных методов в диагностике злокачественных опухолей считается очень перспективным и важным направлением исследований, и связано это с тем, что события, происходящие на уровне генома, следует считать ключевыми в возникновении и профессии злокачественных опухолей.

Особенностью современного периода развития молекулярной диагностики рака является ее широкое внедрение в практику. Эти методы делают диагностику не только более ранней и точной, но, что самое главное, позволяют назначить дифференцированное лечение и прогнозировать его результат. Существуют неопровержимые факты, свидетельствующие о том, что колоректальный рак (КРР) на ранних стадиях развития может и должен идентифицироваться молекулярными методами.

Известно, что КРР развивается в результате последовательных изменений (дисплазия/аденома—аденокарцинома), в основе которых лежат генетические нарушения [2]. Однако механизмы, ответственные за возникновение и накопление в эпителиальной клетке таких нарушений, изучены фрагментарно. Примером трудностей, стоящих на пути изучения этой проблемы, является тот факт, что имеются различия в частоте возникновения доброкачественных и злокачественных фаз болезни, а именно, в последовательности дисплазия/аденома — аденокарцинома. Доказано, что колоректальные аденомы возникают более чем у половины населения к девятому десятилетию жизни, а КРР развивается

только у 5% населения [47]. Следовательно, только единичные из предраковых изменений трансформируются в рак. Кроме аденоматозных полипов, плоские аденомы и фокусы микроскопических диспластических аберрантных крипт также были признаны самыми ранними предраковыми изменениями, которые могут трансформироваться в злокачественную опухоль [67].

Т а б л и ц а 1

Наследственные синдромы колоректального рака

Синдромы	Мутации в гене
Связанные с полипозом	
Семейный аденоматозный полипоз и связанные с ним синдромы с внескипическими проявлениями	APC
Ювенильный полипоз и связанные с ним синдромы	DPC4, PTEN
Синдром Пейтца-Иегерса	STK11
Не связанные с полипозом	
Малая форма семейного аденоматозного полипоза	APC
П1307К мутация у евреев Ашкенази	APC
Наследственный синдром непипозного КРР (HNCSS)	hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, hMSH3, hMSH6
Внесиндромные семейные случаи КРР	Не известны

Наряду с пожилым возрастом и хроническими воспалительными заболеваниями (неспецифический язвенный колит, болезнь Крона или шистосомоз с вовлечением толстой кишки) наличие КРР у кровных родственников — признанный, если не основной, фактор повышенного риска. Причины, которые вызывают развитие КРР у членов одной семьи, могут варьировать от редких аутосомных доминантных синдромов

с высокой заболеваемостью КРР (семейный аденоматозный полипоз, синдром наследственного неполипозного КРР) до менее ясных в генетическом отношении состояний, таких, например, как обнаружение аденомы у ближайших кровных родственников (родитель, родной брат или ребенок).

Известно, что чем в более молодом возрасте возник КРР, тем больший статистический риск, что он возникнет у близких родственников. Наследственные синдромы КРР представлены в табл. 1 согласно фенотипу и мутациям в соответствующих генах.

Следует отметить, что изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе редких "наследственных синдромов", способствовало пониманию патогенеза спорадического КРР, который наблюдается значительно чаще в популяции, но в основе которого лежат аналогичные или похожие молекулярные события [55].

Роль молекулярно-генетических нарушений в возникновении КРР и нестабильности гено-

ма, в частности, стала интенсивно изучаться относительно недавно. В 1993 г. у членов семей, больных наследственным неполипозным раком толстой кишки (РТК), была найдена нестабильность микросателлитов (MSI) [16]. Это открытие послужило основой гипотезы "мутаторного фенотипа" возникновения рака, выдвинутой L. Loebe et al. (1974,1991), согласно которой клетка должна пережить цепь мутаций, чтобы стать злокачественной. Но для этого у нее исходно должна быть способность мутировать чаще, чем в норме, а это, в свою очередь, может быть связано с инактивацией механизмов, отвечающих в норме за сохранность структуры ДНК [60, 61]. Полученные в последние годы факты свидетельствуют о том, что нестабильность генома — один из ключевых механизмов возникновения целого ряда случаев РТК. По крайней мере, 3 вида различных генетических нарушений [45,81], из которых два можно отнести к нестабильности генома, вовлечены в возникновение опухолей (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Виды генетических нарушений при колоректальном раке и их молекулярные маркеры

Вид нарушения	Гены, в которых происходят первичные нарушения	Гены, в которых происходят нарушения во время прогрессирования процесса
Хромосомная нестабильность	APC, β -катенин	Активация RAS, MYC, SRC и т.д. Инактивация DCC, p53, TGF β и т.д.
Нестабильность микросателлитов (MSI), нестабильность нуклеотидов	Гены, исправляющие ошибки ДНК	APC, TGF β RII, IGFII рецептор, E2F4, Bax, RAS и т.д.
Аберрантное метилирование	В настоящее время не известны	Метилирование промоторных участков с последующей неэффективной транскрипцией APC, p53, p16, hIC1, TSP1, hMLH1 (MSI зависимый механизм)

Почти во всех РТК отмечается или хромосомная нестабильность, или нестабильность микросателлитов. Фактически между этими двумя нарушениями существует обратная зависимость. Так, злокачественные опухоли, в которых имеется нестабильность микросателлитов, обычно диплоидные и в них не наблюдается хромосомных аберраций. Опухоли, в которых имеется хромосомная нестабильность, характеризуются анеуплоидией и часто сопровождаются потерей или появлением добавочных хромосом [37, 58].

Столь частое обнаружение хромосомной нестабильности или нестабильности микросателлитов свидетельствует в данном случае не о том, что это весьма распространенное и неспе-

цифическое событие в процессе возникновения любой злокачественной опухоли, а о том, что нестабильность генома тесно ассоциирована с туморогенезом. Исключительно важны в этом смысле исследования, показавшие, что и хромосомная нестабильность, и нестабильность микросателлитов могут быть обнаружены на самых ранних стадиях эволюции РТК [23, 43, 69, 70]. Так, используя сравнительную гибридизацию генома для определения среднего числа ошибок при копировании, удалось показать их постепенное увеличение при прогрессировании аденом с дисплазией легкой степени в аденомы с дисплазией тяжелой степени и последующей трансформацией в рак (табл. 3) [44].

Т а б л и ц а 3

Хромосомная нестабильность при возникновении рака толстой кишки
(цит. с изменениями по Grady W.M., Markowitz S., 2000)

Область хромосомы	Аденома с дисплазией легкой степени, %	Аденома с дисплазией тяжелой степени, %	Рак, %	MSI, %	Хромосомная нестабильность, %	Первичная опухоль, %	Метастазы, %
7p	7,1↑	33,3↑	50↑	0	33,3↑	10↑	10↑
7q	0	25↑	31,3↑	0	33,3↑	30↑	30↑
12q	0	8,3↑	6,3↑	0	0	20↑	0
13q	0	8,3↑	50↑	16,7↓	41,7↑	30↑ и 10↓	50↑
18q	0	16,7↓	37,5↓	0	25↓	50↓	90↓
20q	0	33,3↑	75↑	0	25↑	50↑	40↑
Число вовлеченных плечей хромосомы	3/47	21/47	32/47	3/47	22/47	34/47	35/47

Примечание: ↑ – с наличием дополнительной аллели; ↓ – с потерей аллели.

У пациентов с наследственной предрасположенностью вследствие нарушений APC гена, включающих нарушения последовательности нуклеотидов и экспрессии гена, возникают опухоли, обычно развивающиеся вследствие хромосомной нестабильности, которая характеризуется потерей аллелей и патогенетическими нарушениями [58]. Опухоли у части пациентов со спорадической формой KPP возникают таким же путем.

Напротив, у пациентов с синдромом наследственного неполипозного KPP, вследствие мутации в гене, исправляющем ошибки ДНК, возникают опухоли, характеризующиеся нестабильностью микросателлитов и нуклеотидов, выявляемых в виде повторяющихся нуклеотидных последовательностей, некоторые из которых располагаются в кодонах генов. Потеря аллелей наблюдается редко [40]. Такой тип молекулярной патологии также наблюдается примерно в 15% случаев спорадических KPP и часто связан с патологоанатомическими особенностями, такими как: расположение в проксимальных отделах кишки (восходящей ободочной кишке); низкая дифференцировка клеток опухоли с ослизнеким, медуллярным или перстневидно-клеточным компонентом; наличие значительного числа лимфоидных фолликулов с зародышевыми центрами по периферии опухоли; инфильтрация опухоли лимфоцитами [22, 52].

Неэффективная транскрипция генов в результате aberrантного метилирования последова-

тельств цитозин-гуанин (Ц~Г островки) в промоторных участках генов в настоящее время рассматривается как один из компонентов молекулярного патогенеза третьего подвида KPP [50].

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Использование методов молекулярной диагностики у пациентов имеет большой потенциал как в ранней диагностике и оценке ответа опухоли на терапию, так и в прогнозе заболевания. Как показано в табл. 4, такая диагностика может иметь несколько целей и использовать различные объекты для исследования.

У пациентов, уже болеющих KPP, молекулярные методы могут быть использованы для идентификации микрометастазов, для более точной оценки стадии опухолевого процесса, в частности, для выявления микрометастазов в лимфатических узлах или для оценки возможной гематогенной диссеминации опухолевых клеток в костный мозг [64]. Кроме того, молекулярная диагностика обладает большим потенциалом для выявления генотипических и фенотипических характеристик опухоли, которые обуславливают цепь событий, приводящих к метастазированию клеток – так называемый метастатический генотип и фенотип. Маркеры этого типа могли бы указывать на большую вероятность прогрессирования опухолевого процесса после радикальной операции.

Т а б л и ц а 4
Возможное применение методов молекулярной
диагностики при колоректальном раке

Исследование ткани опухоли
Карциномы
Прогноз/течение
Более точная оценка стадии опухолевого процесса
Обнаружение микрометастазов
Установление генотипа и фенотипа метастазов
Прогноз ответа на терапию
Аденомы
Развитие метакронных опухолей
Исследование неопухолевых тканей
Исследование проб крови и кала
Диагностика микрометастазов и оценка гематогенной диссеминации
Диагностика, скрининг и динамическое наблюдение
Диагностика наследственных синдромов (см. табл.1)

идентификация маркеров эффективности неоадьювантных режимов химио- и/или лучевой терапии, адьювантной химиотерапии, химиотерапии распространенных стадий болезни при РТК стала исключительно важной проблемой. В последнее десятилетие было выполнено значительное число исследований, связанных с поиском таких маркеров с помощью молекулярных методов, однако ни один из них пока не получил широкого клинического применения.

Генетические нарушения, связь которых с прогнозом или ответом на химиотерапию КРР была установлена, включают: потери аллелей в 18q, исчезновение экспрессии продукта гена DCC, нарушения в гене p53, потерю аллелей на коротком плече хромосомы 1 и 5, RAS мутации [64]. Исследования клинической эффективности использования таких молекулярных маркеров были убедительно сформулированы, в настоящее время проводятся и включают в себя репрезентативную популяционную выборку. Для широкого использования в клинической практике исследования молекулярных маркеров должны удовлетворять всем требованиям, предъявляемым к рутинным лабораторным тестам, таким как воспроизводимость, доступность, адекватный контроль качества. Наконец, результаты исследования молекулярных маркеров должны легко интерпретироваться клиницистами и иметь терапевтическое значение.

Сложность и многоступенчатость генетических и биохимических процессов, протекающих

в раковых клетках, которые позволяют им метастазировать, обуславливают трудность интерпретации значений таких маркеров. Кроме того, факторы, не связанные с опухолью непосредственно, например качество хирургической техники, значительно влияют на конечный результат. Среди маркерных генов опухоли, прогнозирующих терапевтический ответ, внимание было сосредоточено на p53 и генах, ответственных за апоптоз, которые регулируются p53 [68].

Одно из направлений молекулярно-генетического изучения опухолей касается выявления молекулярных нарушений, характерных для более позднего развития метакронных опухолей, иногда ошибочно рассматриваемых как рецидив основной опухоли. Такие исследования включают изучение колоректальных аденом в качестве мишеней для идентификации маркерного гена из-за их высокой частоты в популяции как предракового изменения по сравнению с низкой частотой выявления злокачественных опухолей. Молекулярный маркер, указывающий на высокую вероятность развития метакронных аденом, особенно аденом, способных трансформироваться в злокачественную опухоль, мог бы быть полезен для определения групп риска с целью последующего колоноскопического скрининга.

Напротив, тех пациентов, у которых метакронные аденомы вряд ли будут прогрессировать, можно исключить из скрининга. Стратегия удаления аденом показала, что она связана с уменьшением частоты КРР, и молекулярные маркеры, идентифицирующие пациентов с более высоким риском, могли бы быть полезны.

Исследование проб кала и крови имеет также большой потенциал. Так, использование весьма простого теста на скрытую кровь в кале позволило снизить смертность от КРР, однако его специфичность остается относительно низкой. Молекулярные тесты на обнаружение в кале фрагментов опухолевой ДНК представляют собой в этом смысле значительный прогресс. Целый ряд исследований показал, что ДНК, содержащая мутации, может быть идентифицирована в кале и крови пациентов, у которых имеются опухоли с этими мутациями [76]. Диагностика опухолей, скрининг и динамическое наблюдение за больными могут существенно улуч-

шиться, если будут преодолены технические проблемы и сбалансированы затраты на их проведение.

Очевидно, что молекулярно-генетическая диагностика КРР подошла к основному этапу своего развития - внедрению в практику. Для того чтобы этот этап наступил, необходимо проведение широких клинических исследований с применением молекулярных методик. Этому препятствовали, прежде всего, трудоемкость и высокая стоимость анализов. В настоящее время с развитием современных биотехнологий появилась возможность одновременно тестировать в одном образце мутации сразу в десятках и сотнях генов, а автоматизация этого процесса делает его менее зависимым от погрешностей персонала и методических ошибок. Важно также понимать, что молекулярно-генетическая диагностика РТК может быть использована на любом этапе развития опухоли, кроме того, она позволит существенно упростить скрининг, увеличив при этом его чувствительность и специфичность.

ОПУХОЛЕВЫЕ МАРКЕРЫ

В настоящее время большое внимание исследователи уделяют изучению перспектив использования молекулярно-генетических маркеров КРР. Вместе с тем необходимо отметить важную роль тех опухолевых маркеров, которые уже сейчас наиболее часто используются в клинической практике [7].

Опухолевые маркеры. Раково-эмбриональный антиген (РЭА). Этот показатель относится к числу наиболее изученных опухолевых маркеров как в практическом, так и теоретическом отношении. Впервые его обнаружили P. Gold и S. Freedman (1965) при исследовании тканей желудочно-кишечного тракта человека и аденокарциномы толстой кишки, а затем РЭА был выявлен в сыворотке крови больных КРР [42].

Первые результаты были обнадеживающими, казалось, что найден специфический тест для диагностики РТК [3]. Однако в последующем при совершенствовании методов обнаружения РЭА и накоплении данных этот маркер удалось выделить при различных опухолях (рак поджелудочной железы, печени, легкого, щитовидной железы, нейробластома), а также при неопухоле-

вых заболеваниях (цирроз печени, язвенные колиты, панкреатиты, хронические бронхиты, эмфизема) [12,13]. Поэтому нельзя при выявлении РЭА абсолютно утверждать, что у больного рак [3].

Вместе с тем до сих пор РЭА остается маркером первого выбора при КРР и используется с высокой эффективностью в мониторинге заболевания, при этом главное внимание уделяют количественным его параметрам. В популяции здоровых людей уровень РЭА в 99% составляет менее 5,0 нг/мл, а концентрация более 40,0 нг/мл крайне редко наблюдается при доброкачественных опухолях кишечника [10]. При КРР чувствительность теста колеблется от 25 до 80% и зависит от размеров и степени дифференцировки опухоли, распространенности процесса. Известно, что уровень РЭА коррелирует со стадией опухолевого процесса. Так, по данным разных авторов, суммированным в обзоре S. Bates и D. Longo [21], в соответствии со стадиями по классификации Dukes для антигена было характерно нарастание его концентрации: при стадии А - 7,8 нг/мл, В - 30,3 нг/мл, С - 58,1 нг/мл, D - 134,3 нг/мл, при этом частота повышения РЭА в группах больных с указанными стадиями также нарастала и соответствовала 32, 56, 69 и 86%. С учетом того, что при стадии А опухолевый маркер повышен только у 30—32% больных, его использование в ранней диагностике КРР проблематично. Показано, что высокодифференцированные опухоли активнее продуцируют РЭА.

По данным многочисленных авторов, маркер обладает прогностической значимостью, которая заключается в том, что высокий исходный уровень РЭА в сыворотке крови (более 25 нг/мл) свидетельствует о высоком риске развития раннего рецидива КРР после хирургического удаления опухоли.

Одним из примеров использования РЭА является определение радикальности хирургического вмешательства при КРР. Как правило, после радикального хирургического удаления опухоли уже к концу 6-й недели концентрация антигена становится ниже нормы. Если уровень маркера не падает после удаления первичной опухоли, следует предполагать, что у больного есть метастазы.

Определение РЭА в динамике с интервалом в 2-3 мес является общепринятым подходом при

обследовании больных КРР в послеоперационном периоде. Увеличение концентрации РЭА в эти сроки более чем на 50% указывает на локальный рецидив заболевания и/или метастазы. Резкий подъем концентрации маркера более чем на 100% по сравнению с предыдущим его уровнем, как правило, наблюдается при генерализации процесса и наличии метастазов в печени. Этот прием позволяет диагностировать возврат болезни раньше клинических ее проявлений приблизительно на 3-5 мес, а по некоторым данным, — до 12 мес.

Подсобное значение имеет определение уровня РЭА в сыворотке крови больных КРР при характеристике ремиссий, обусловленных химио-терапией или лучевой терапией [3]. Паллиативное лечение не сопровождается снижением уровня РЭА.

К. Albanopoulos et al. (2000) обнаружили у большинства больных РТК (79,1%) антитела к РЭА IgM и IgG по сравнению с группой контроля (10%) [17]. Авторы убеждены в том, что этот показатель может быть использован как диагностический маркер и независимый фактор прогноза. При этом выявление антител к РЭА в сыворотке крови больных КРР ассоциируется с лучшим прогнозом и значительным увеличением показателя 2-летней выживаемости.

N. Uedo et al. (2000) изучали уровни РЭА в смывах толстой кишки у 213 пациентов до проведения рутинного эндоскопического исследования и доказали, что этот простой тест может быть полезным в практической медицине для выявления группы пациентов с высоким риском развития КРР [82]. В последнее время большое внимание исследователи уделяют изучению не только биохимических, но и молекулярно-биологических маркеров в смывах толстой кишки при КРР.

Применение РЭА в диагностических целях ограничено его низкой специфичностью, обусловленной повышением концентрации антигена в сыворотке крови при неопухолевых заболеваниях, а также влиянием на синтез этого маркера некоторых экзогенных и эндогенных факторов [12,13]. Поэтому при обследовании больных опухолями толстой кишки в качестве маркера второго выбора используют СА-19-9 [71]. Особое значение это имеет при РЭА-негативных новообразованиях.

СА-19-9 и а-фетопротеин. С.В. Скворцов и соавт. (1999) провели сравнительное изучение одновременно трех опухолевых маркеров (СА-19-9, РЭА и а-фетопротеина) в сыворотке крови 108 больных РТК при различных стадиях опухолевого процесса, у 26 больных хроническим язвенным колитом и у практически здоровых людей [13]. Авторы выявили достоверное различие между больными локализованным РТК и хроническим язвенным колитом по уровню СА-19-9 и РЭА, а также между локализованным и генерализованным РТК по двум вышеуказанным опухолевым маркерам. Значения опухолевых маркеров при хроническом язвенном колите не превышали их показатели в норме. Ни в одном наблюдении при локализованном процессе уровень СА-19-9 не превышал значения 1000 ед/мл, РЭА — 20,0 нг/мл. Показатели а-фетопротеина у больных КРР были в пределах нормы и повышались только при генерализации опухолевого процесса, что не позволяет использовать этот маркер в диагностике заболевания. При использовании комплекса СА-19-9 -Б РЭА — диагностическая чувствительность составила 91% и значительно превышала этот показатель при использовании только одного опухолевого маркера. Авторы также отметили, что присоединение к инструментальным методам диагностики данных по определению опухолевых маркеров - СА-19-9 и РЭА - повышает частоту выявления локализованного КРР на 14%, а при генерализации процесса — на 9%. Кроме того, исследователи показали, что общая продолжительность жизни больных КРР больше при повышении у них только одного опухолевого маркера в сыворотке крови.

F. Martini et al. (2000) обнаружили, что СА-19-9 моносиалоганглиозид может быть вовлечен в механизмы межклеточных взаимодействий "клетки опухоли - тромбоциты" и, таким образом, играть важную роль в гематогенном метастазировании РТК [62].

G. Shiota et al. (2000) показали, что определение кр53 в сыворотке крови больных КРР наряду со стадией процесса и уровнями СА-19-9 можно использовать как фактор прогноза [75]. Показатели общей выживаемости были ниже

среди **больных** КРР с наличием в сыворотке крови антител к p53.

СА-125. G. Mavligit et al. (2000) обнаружили высокие уровни СА-125 у больных с метастазами КРР в печени, при нормальном уровне РЭА [63]. Авторы полагают, что определение СА-125 у больных КРР с нормальными значениями РЭА может быть полезно в оценке распространенности опухолевого процесса.

Маркеры апоптоза. Известно, что для опухолей характерен дисбаланс между процессами пролиферации и апоптоза [1,15]. Эндотелин-1 - полипептид из 21 аминокислотного остатка обладает вазоконстрикторной и митогенной активностью, а также вовлечен в механизмы регуляции апоптоза. L.P. Eberl et al. (2000) на клеточных линиях РТК у экспериментальных животных (PРob и REGb) показали, что эндотелин-1 является фактором выживания и способен *in vitro* защищать клетки РТК против FasL-индуцированного апоптоза [35].

По данным Н.Е. Кушлинского и соавт. (2000), частота выявления и уровень растворимого Fas-антигена (sFas) - ингибитора апоптоза в сыворотке крови больных РТК — выше, чем у практически здоровых людей [8]. Отмечена тенденция к повышению содержания sFas в сыворотке крови больных РТК с метастазами в регионарных лимфатических узлах и печени, что позволяет обсуждать роль Fas/FasL-системы как возможную мишень противоопухолевой терапии у больных КРР.

L.E. Jonges et al. (2001) обнаружили, что высокая активность каспазы-3 коррелирует с высоким риском рецидива РТК, особенно в случаях правосторонней их локализации [53]. Также выявлена корреляция активности каспазы-3 с CD 57+ опухоль инфильтрирующими клетками.

Важную роль в механизмах регуляции апоптоза при РТК играет bcl-2, который в норме экспрессируется клетками, выстилающими донную часть крипт толстого кишечника. S.H. Meterissian et al. (2001) показали, что экспрессия bcl-2 при РТК стадии Dukes' В ассоциируется с лучшей выживаемостью больных, и соответственно тем пациентам, чьи опухоли не экспрессируют bcl-2, целесообразно проводить адъювантную терапию [65].

M. Diez et al. (2000a, b) обнаружили, что экспрессия иммунореактивного p53 в первичной опухоли при КРР является маркером высокого риска рецидива заболевания после хирургического ее удаления и чаще после первого года наблюдения [32, 33]. При этом повышенная экспрессия p53 выявлялась в 47,0%, а РЭА - в 34,4% опухолей. Авторы убедительно настаивают на определении обоих маркеров при оценке прогноза КРР.

Известно, что генетические повреждения отличают первичные карциномы проксимального и дистального отделов толстой кишки. Так, многофакторный анализ экспрессии p53 в 190 первичных КРР, по данным M. Diez et al. (2000,b), выявил, что повышенная экспрессия p53 чаще обнаруживалась в дистальных (58,5%), чем проксимальных (41,7%) РТК [32]. При этом безрецидивный период был меньше в p53+ опухолях (75 и 38%, соответственно, $p=0,006$). Высокий риск рецидива КРР отмечен среди p53+ опухолей при их дистальной локализации. Представленные данные свидетельствуют о том, что оценка экспрессии p53 при КРР может служить маркером раннего рецидива заболевания и связана с локализацией опухоли в органе [32].

Доказано, что неудачи химиотерапии КРР связаны с множественной лекарственной резистентностью этих новообразований. R.C. Bates et al. (2001) показали, что экспрессия различных изоформ *CD44* ассоциируется с агрессивным поведением опухоли и ставит вопрос о том, модулирует ли сигнал от этого рецептора лекарственную чувствительность опухоли. Авторы доказали, что *CD44* индуцирует активацию src-семейства тирозинкиназы *LYN* и *A.kt*. Способность супрессировать апоптоз может играть критическую роль в развитии опухолей толстой кишки, и это связано с экспрессией *CD44* [20].

Цитокератины и интегрины. P. Chu et al. (2000), которые изучали экспрессию цитокератинов 7 и 20 в эпителии 435 опухолей, в том числе и при РТК, пришли к заключению, что все КРР были позитивны по цитокератину 20 [29]. Однако окончательные выводы о роли этого цитокератина в прогнозе КРР пока еще сделать не представляется возможным.

N. Daemi et al. (2000) продемонстрировали, что (34 субъединица СС604 интегрин, рецептор ламинина в РТК могут служить маркерами инвазивной способности первичной опухоли [30].

Активаторы и их ингибиторы системы плазминогена. В последние годы пристальное внимание исследователей привлекает изучение металлопротеиназ внеклеточного матрикса, которые тесно связаны с процессами инвазии и мета-стазирования опухолей [4]. При развитии метастазов должна иметь место цепь последовательных событий, приводящих к выходу опухолевых клеток из их первоначального окружения и образованию опухолевых узлов в отдаленных органах и тканях. Предполагается, что для обеспечения процессов инвазии и метастазирования нужна комплексная протеолитическая цепочка, включающая различные протеазы. Считается, что плазмин, уменьшающий уровень внеклеточных матричных гликопротеидов и активирующий некоторые прометаллопротеазы, играет решающую роль в процессах инвазии и метастазирования, при этом в многоступенчатой цепочке протеаз ключевую позицию занимает сериновая протеаза — активатор плазминогена урокиназного типа (иРА), — поскольку она катализирует образование плазмина из его предшественника плазминогена. Важную роль играет также рецептор иРА (РшдРА), так как при связывании иРА с рецептором его способность активировать плазминоген увеличивается. С другой стороны, в тканях РТК могут присутствовать ингибиторы иРА — PAI-1 и PAI-2. Показано, что уровни иРА и РАТ-1 в КРР выше, чем в гомологичной нормальной ткани и доброкачественных опухолях [4].

Вопрос о том, является ли иРА при РТК у человека производным самих раковых клеток или производным элементов окружающей стромы, таких как фибробласты, макрофаги или лейкоциты, переносящие активатор к рецепторам раковых клеток, долгое время оставался спорным. S.R. Harvey et al. (1999) показали, что активатор происходит из самих раковых клеток, а не заимствуется ими из элементов стромы, при этом антиген наиболее интенсивно выявлялся в апикальной и базальной области клеток РТК [48].

Наиболее репрезентативное исследование компонентов системы активации плазминогена в 97 образцах КРР было проведено Т. Fujii et al. (1999), которые проанализировали экспрессию генов иРА и PAI-1 с использованием метода ПЦР [39]. Экспрессия иРА была обнаружена в 57 опухолях (58,8%). У пациентов с положительными результатами теста на иРА и отрицательными результатами на PAI-1 прогноз 5-летней выживаемости был достоверно хуже. Многофакторный анализ показал, что результаты одновременного определения иРА и PAI-1 в КРР являются независимыми прогностическими показателями.

М.М. Skelly et al. (1997) исследовали связь между уровнями иРА и выживаемостью 133 больных КРР после операции и показали, что самый высокий уровень иРА выявлен в злокачественных опухолях, по сравнению с полипами и нормальной слизистой [37]. Выживаемость не зависела от содержания иРА в строме опухоли, а только от его уровня в эпителии опухоли. По мнению авторов, полученные результаты свидетельствуют о том, что определение уровня иРА может быть тестом для диагностики РТК без метастазов и риска раннего развития рецидива после операции. Авторы полагают, что протеазы могут быть мишенью лекарственных препаратов, предотвращающих инвазию и метастазирование КРР.

Метастазы в печень — важный фактор, ограничивающий прогноз у больных РТК. Исследования S. Hayashi et al. (1999) указывают на корреляционную связь между иРА и печеночными метастазами [49]. Авторы исследовали эффективность генной терапии КРР с помощью tРА с использованием модели печеночного метастаза РТК у мышей. Полученные результаты позволили авторам предположить, что трансдукция гена tРА в клетки РТК полезна с точки зрения противодействия метастазам в печень.

Наименее изученным в клиническом плане компонентом системы активации плазминогена считается Рц-иРА, который представляет собой мембраносвязанный трехдоменный гликопептид [25]. Этот рецептор может также существовать в растворимой форме (pРц-иРА) в экстрактах из опухоли, а также в плазме крови как

здоровых людей, так и больных раком. Растворимый Рц-uPA в плазме является практически неизменной молекулой, однако ни точный механизм его высвобождения с поверхности клеток, ни его биологическая функция до конца не изучены. Результаты проведенных исследований позволили авторам (Brunner N. et al.) сделать вывод о том, что повышенный уровень рРц-uPA в плазме крови был обнаружен у больных ФФК, и полученные данные показали, что концентрация рРц-uPA связана с прогнозом заболевания.

S. Nakata et al. (1998), изучая участие VEGF и Рц-uPA в микрососудистой инвазии при РТК, наблюдали сильное окрашивание на VEGF или Рц-uPA в раковых клетках, прорастающих в микрососуды [66]. Результаты исследований позволили авторам предположить, что опухолевая трансформация может сопровождаться повышением экспрессии VEGF при РТК и что VEGF и Рц-uPA могут вносить весомый вклад в усиление ангиогенеза вокруг опухоли, равно как и в процессы метастазирования по микрососудам.

R.W Stephens et al. (1997) предприняли попытку количественного определения методом иммуноферментного анализа рРц-uPA в крови, полученной от здоровых людей и больных раком [78]. Рост медианы рРц-uPA наблюдали у 10 больных РТК в запущенных стадиях, что соответствует выделению Рц-uPA из опухоли в кровь. Авторы делают вывод о том, что повторный мониторинг рРц-uPA в крови больных КРР может иметь значение в прогнозе и раннем выявлении рецидива опухоли.

E. Lengyel et al. (1997) получили данные, которые позволили авторам предположить, что повышенная экспрессия Рц-uPA, характеризующая инвазивную способность опухоли *in vitro*, по крайней мере в некоторых субпопуляциях клеток РТК, является частично следствием постоянной активации сигнального каскада, зависящего от митоген-активированных протеинкиназ [59]. Эта гипотеза подтверждается исследованиями Н. АНгауер et al. (1999), которыми впервые было проведено исследование роли K-Ras онкогена в качестве одного из регуляторов экспрессии Рц-uPA [18]. Авторы пришли к выводу, что гиперэкспрессия Рц-uPA является следствием активации K-Ras онкогена.

Факторы роста и их рецепторы. Одной из важных регуляторных систем передачи митогенного сигнала является семейство тирозинкиназных рецепторов — продуктов онкогенов группы *c-erbB*, в которое входят четыре сходных по структуре трансмембранных рецептора — рецептор эпидермального фактора роста (РЭФР или *EgB-1*), а также *ErbB-2* (HER2/neu), *EgB-3* (HER3) и *ErbB-4* (HER4) [5]. Помимо структуры, эти рецепторы отличаются между собой относительной специфичностью и средством к различным общим лигандам. После активации в результате связывания лигандов и димеризации внутренняя тирозинкиназа рецепторов активируется и приобретает способность фосфорилировать как сам рецептор, так и другие клеточные белки, участвующие в передаче митогенного сигнала.

В аутокринной и паракринной регуляции пролиферации клеток КРР участвуют различные ростовые факторы. В последние годы активно изучается клиническое значение рецепторов факторов роста и их лигандов при КРР, и это в первую очередь рецептор эпидермального фактора роста (РЭФР), рецептор инсулиноподобного фактора роста I типа (РИФР-1), рецептор фактора роста эндотелия сосудов (R-VEGF).

Рецепторы эпидермального фактора роста — продукт онкогена *c-erbB1*, представляющий собой трансмембранную тирозинкиназу, наиболее изученный в клиническом плане из маркеров данной группы при опухолях различной локализации, но недостаточно исследованный при КРР [5].

Вместе с тем А. Di Carlo et al. (2001) провели сравнительное изучение уровней ЭФР и РЭФР, РЭА, сс-фетопротеина в 30 аденокарциномах толстой кишки и сравнили эти показатели в нормальных тканях органа. При этом было отмечено значительное увеличение уровня РЭА в цитозоле опухолей и во всех новообразованиях выявили ЭФР [31]. Однако только единичные опухоли содержали РЭФР. Кроме того, авторы показали, что антитела Mab B3, которые экспрессируются клетками метастазов КРР в печени, могут быть полезны не только в диагностике распространенности опухолевого процесса, но при лечении этих метастазов: иммунотерапией, радиоиммунотерапией, радиоиммунохирургией.

Рецепторы семейства ErbB могут образовывать как гомо-, так и гетеродимеры, при этом во многих случаях наиболее активными являются гетероструктуры с участием второго представителя этого семейства - HER2/neu, не имеющего собственного лиганда. Таким образом, HER2/neu является ключевым звеном передачи митогенных сигналов ЭФР-подобных факторов роста, и его блокирование может существенно замедлить или остановить рост опухолей, зависящих от подобных стимулов. Полагают, что повышенная экспрессия HER2/neu в опухолях, в том числе и при КРР, может служить маркером чувствительности и мишенью для более эффективной биотерапии этих новообразований. Однако в литературе представлены единичные работы, посвященные изучению экспрессии HER2/neu в прогнозе опухолей желудочно-кишечного тракта [85].

Ии^линоподобные факторы роста I и II типа (ИФР-1 и ИФР-2) являются потенциальными митогенами и сильными стимуляторами роста опухолевых клеток. Рост стимулирующие эффекты обоих типов ИФР опосредуются, главным образом, РИФР-1. Единого мнения относительно клинической ценности РИФР-1 при КРР до настоящего времени не существует.

В большинстве исследований показана обратная взаимосвязь между обнаружением рецепторов стероидных гормонов (эндокринный тип регуляции) и РЭФР (ауто/паракринный тип регуляции) в опухолях.

Известно, что РТК являются тканями-мишенями стероидных гормонов и в 25-60% случаев сохраняют функциональную способность первичного звена механизма действия одного или нескольких стероидов, а именно, рецепцию эстрогенов (РЭ) (40,9%), андрогенов (15,5%), прогестина (РП) (32,6%) и глюкокортикоидов (59,1%) [11]. Однако только наличие РЭ и РП в опухоли может быть использовано как критерий благоприятного прогноза 10-летней выживаемости больных КРР. При этом более часто РЭ выявляются в РТК у женщин (60,5%), чем у мужчин (39,5%), при локализованной стадии заболевания (63,1%) и поражении опухолью правых отделов толстой кишки (59,4%).

Блокирование любого из этапов передачи митогенного сигнала факторов роста может, в

принципе, привести к нарушению регуляции пролиферации опухолевых клеток и, потенциально, к торможению роста опухоли. В эксперименте уже исследовано достаточно большое количество препаратов, влияющих на вышеперечисленные процессы: специфические и неспецифические блокаторы связывания РЭФР с лигандами, ингибиторы тирозинкиназы и МАП-киназ, блокаторы связывания SH2 доменов эффекторных белков с активированным рецептором, соединения, подавляющие активацию гена *ras*, в том числе ингибиторы фарнезилирования. Большинство из них находятся на стадии клинического изучения, хотя некоторые из них, в частности герцептин, уже прошли клинические испытания и показали себя достаточно эффективными при некоторых видах опухолей [5].

Маркеры ангиогенеза в опухолях. Большой интерес исследователи проявляют в последние годы к изучению ангиогенных факторов в опухоли, в частности к VEGF. Появляется все больше доказательств, что метастазирование на разных этапах опухолевого процесса зависит от степени васкуляризации опухоли. Известно, что при гематогенном метастазировании клетки опухоли должны прикрепиться к эндотелиальным клеткам, пройти в просвет сосуда, выжить в циркулирующей крови, остановиться в определенном органе или ткани и образовать там колонию. Высокоангиогенные первичные опухоли, к которым относится и КРР, с высокой внутриопухолевой плотностью сосудов обладают большей способностью дать в отдаленном органе ангиогенный клон, который при благоприятных условиях способен образовать метастаз. Большинство исследователей полагают, что высокая степень васкуляризации опухоли является статистически значимым маркером наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах [14]. В 77% ранее проведенных исследований обнаружена значимая связь между опухолевым ангиогенезом и развитием отдаленных метастазов. И хотя имеются значительные различия в исследованных группах пациентов и используемых методах оценки ангиогенеза, большинство исследователей продемонстрировали обратную связь между васкуляризацией опухоли и выживаемостью больных КРР [14]. Кроме того, не-

достаточная васкуляризация и, как следствие ее, гипоксия увеличивают экспрессию генов, связанных с устойчивостью (Pg—гликопротеина, гидрофолатредуктазы) к химиотерапии и представляют важный фактор неэффективности неоадъювантной лучевой и химиотерапии.

J.C. Lee et al. (2000) изучали экспрессию VEGF в 145 КРР и показали, что интенсивность экспрессии ангиогенного фактора связана с прогрессией этих новообразований [57].

Исследования S. Cascinu et al. (2001) у 150 больных РТК с регионарными метастазами в лимфоузлах доказали, что у большинства из них (73,4%) безрецидивный период достоверно ($p < 0,0001$) выше при отсутствии экспрессии VEGF и низком индексе SPF (S-phase fraction) в опухоли [28].

C.J. Bruns et al. (2000) обнаружили, что VEGF в дополнение к прогностической значимости показали, что блокирование VEGF-рецептора-2 ингибирует рост метастазов КРР в печени [26].

Изучение экспрессии фактора роста эндотелиальных клеток, выделенного из тромбоцитов у 86 больных распространенным КРР, показало, что этот маркер экспрессируется в основном в строме опухоли, но не в опухолевых клетках [72]. При этом высокие уровни маркера обнаружены в 65,1% опухолей, они не были связаны со степенью выраженности васкуляризации новообразования, но статистически значимо (обратная зависимость) коррелировали со временем появления лимфогенных и гематогенных метастазов. Исследователи полагают, что этот фактор роста в КРР продуцируется макрофагами, инфильтрирующими строму опухоли и, вероятно, скорее играет роль в иммунных реакциях против опухоли, нежели в опухолевом неоангиогенезе. Высокая экспрессия данного маркера в клетках опухоли коррелирует с хорошим прогнозом КРР.

В настоящее время ангиогенной активностью обладают более 200 соединений, и по механизму действия все они могут быть разделены на 2 группы: 1) ингибирующие передачу ангиогенных сигналов эндотелиальными клетками (антагонисты факторов роста эндотелия, ингибиторы продукции ангиогенных факторов, миграции эндотелиальных клеток); 2) ингибирующие проли-

ферацию эндотелиальных клеток [14]. Наиболее перспективны такие антиангиогенные препараты, как маримастат, батимастат - ингибиторы матриксных металлопротеиназ, SU 6661. Следует отметить, что за последние годы наши знания о биологических процессах, вовлеченных в формирование новых микрососудов в опухоли, значительно возросли. И хотя прогностические и терапевтические принципы еще только формируются, достижения в понимании патофизиологических механизмов неоангиогенеза в опухоли уже передаются в клиническую практику.

Ферменты. Одним из наиболее эффективных маркеров лекарственной резистентности и прогноза КРР считается уровень экспрессии тимидилат синтетазы в опухоли. Фермент необходим в процессах синтеза ДНК и катализирует метилирование дезоксиуридинмонофосфата в дезокситимидинмонофосфат в качестве кофактора 5,10-метилентетрагидрофосфата (5,10-CH²FH₂). Известно, что 5-ФУ, один из наиболее широко используемых антиметаболитов в лечении гастроинтестинальных опухолей, при введении больному образует 5-фтор-2'-дезоксиуридин-5*-монофосфатные формы, связывающиеся ковалентно с тимидилатсинтетазой, блокируя, таким образом, процесс синтеза ДНК в опухоли. Так, изучение показателей экспрессии тимидилатсинтетазы в опухолях 89 больных КРР позволило T. Yamachika et al. (1998) считать его независимым фактором прогноза у данной категории больных. При этом показатели 10-летней выживаемости были достоверно ниже среди пациентов, в опухоли которых выявлена экспрессия фермента [84].

D. Edler et al. (2000) на основании ретроспективного многофакторного анализа и высокой степени достоверности полученных результатов по определению в 243 опухолях экспрессии тимидилатсинтетазы считают, что этот маркер может быть использован в клинике как независимый фактор прогноза локального рецидива, отдаленных метастазов, длительности безрецидивного периода и общей выживаемости больных РТК [36]. Лучший прогноз имели больные РТК с низкой экспрессией тимидилатсинтетазы в первичной опухоли. При этом исследователи

убедительно продемонстрировали, что никакие другие факторы прогноза, в том числе возраст, пол, степень дифференцировки опухоли, экспрессия p53, не могут считаться независимыми маркерами прогноза и, в частности, возврата этого заболевания.

S. Cascinu et al. (1999) выявили, что уровень экспрессии тимидилатсинтетазы при генерализованном или рецидивирующем КРР может быть маркером чувствительности опухоли к 5-ФУ [27]. Чаще наиболее высокие показатели экспрессии фермента обнаруживались в абдоминальных метастазах КРР (82%), по сравнению с метастазами опухоли в печени (47%). Авторы полагают, что это необходимо принимать во внимание при прогнозе чувствительности диссеминированных форм опухоли к 5-ФУ и индивидуально изменять стратегию химиотерапии у пациентов.

B. van Tries t et al. (2000) показали, что экспрессия двух ферментов (тимидилатсинтетазы и тимидинфосфорилазы) в опухолях нелеченых больных КРР имеет прогностическое значение не только в выборе химиотерапии 5-ФУ вместе с такими маркерами пролиферации, как p53 и Кд67, но и коррелирует с показателями безрецидивной и общей выживаемости [83]. При этом активность двух указанных ферментов изучали биохимическим методом в свежемороженых образцах опухоли и сравнивали их экспрессию с помощью иммуногистохимического метода в парафиновых срезах вместе с p53 и Ю67. Авторы выявили также значимую корреляционную связь между показателем ферментативной активности тимидин фосфорилазы и связывающей активностью 5-фтор-2'-дезоксидеоксиридин-5'-монофосфата (метаболит 5-ФУ).

По данным B. van Triest et al. (2000), с процессами ангиогенеза и пролиферации при КРР имеют тесную связь тимидилатсинтетаза и тимидин фосфорилаза, при анализе этих показателей в 32 нелеченых опухолях [83]. При этом экспрессия VEGF значительно коррелировала с активностью тимидинфосфорилазы и индексом K167 в опухоли, а также длительностью безрецидивного периода.

При изучении дигидропиримидин дегидрогеназы - первого фермента, который метабо-

лизует 5-ФУ в 5-фтор-дигидроурацил, T. Takenoue et al. (2000) обнаружили, что показатель экспрессии этого фермента в опухоли может быть использован как маркер в оценке чувствительности КРР к 5-ФУ [80]. Эти исследования подтверждает работа Y Ishikawa et al. (1998), в которой также была выявлена корреляционная связь между эффективностью капецитабина и высоким соотношением экспрессии тимидинфосфорилазы/дигидропиримидиндегидрогеназы в опухоли [51].

По данным J.A. Lagares-Garcia et al. (2001), высокая активность индуцированной синтетазы оксида азота может служить маркером более агрессивного течения КРР [56].

L.R. Gauthier et al. (2001) предложили использовать высокочувствительный и специфичный метод определения теломеразной активности в эпителиальных клетках КРР, циркулирующих в крови [41]. Активность фермента выявлена в 72% опухолей при C- и D-стадии по классификации Dukes. Авторы полагают, что данный маркер, при этом малоинвазивном методе, может быть использован в ранней диагностике, прогнозе и мониторинге больных ТРК.

I. Takemasa и соавт. (2000) обнаружили, что повышенная экспрессия CDC25B фосфатазы в клетках КРР у 77 из 181 наблюдения (43%) указывает на плохой прогноз заболевания [79]. Поэтому эти пациенты нуждаются в адъювантной терапии. Авторы полагают, что CDC25B может служить независимым прогностическим маркером и даже контролировать такие факторы, как метастазы в регионарных лимфатических узлах, диаметр первичной опухоли, степень ее дифференцировки, глубину инвазии. Более того, уровень экспрессии CDC25B убедительно указывают на возможный ранний рецидив КРР стадий Dukes' B и Dukes' C.

В последнее время появились работы, свидетельствующие о возможности использования фермента синтеза простагландинов и эйкозаноидов — циклооксигеназы-2 (COX-2), известной также как простагландин-эндопероксидсинтетаза, в качестве маркера ранней диагностики и прогноза КРР. Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о важной роли COX-2 в патогенезе КРР. Показано отсутствие

СОХ-2 в эпителии нормальной слизистой и экспрессия белка в 40% полипов и 80-90% злокачественных опухолей толстой кишки, что является подтверждением участия СОХ-2 в неопластических процессах и в прогрессии КРР [34, 74]. При исследовании тканей опухолей 76 больных КРР КМ. Sheehan et al. (1999) установили положительную корреляцию между экспрессией СОХ-2 и размером, стадией опухоли по классификации Dukes [73]. Увеличение экспрессии СОХ-2 в РТК стало основой для попыток использования ее ингибиторов, в частности нестероидных противовоспалительных препаратов, в качестве профилактических средств, предотвращающих развитие КРР и малигнизацию полипов толстой кишки [74]. В экспериментах на животных было показано, что ингибиторы СОХ-2 проявляют защитное действие при колоректальном канцерогенезе. Кроме того, эти препараты предотвращали образование новых полипов и способствовали регрессии уже существующих в толстом кишечнике. С другой стороны, данные некоторых экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что противоопухолевое действие нестероидных противовоспалительных препаратов связано также с тем, что они индуцируют апоптоз в клетках РТК и ингибируют ангиогенез в экспериментальных опухолях.

Другие маркеры. S.E. Baldus et al. (2001) показали, что уровень экспрессии MUC1 в опухолях может быть использован как маркер в оценке прогрессии и прогноза КРР [19].

T. Kanai et al. (2000) обнаружили, что интерлейкины 4 и 13, продуцирующиеся локально лимфоцитами, инфильтрирующими опухоль, могут регулировать адгезию клеток РТК путем подавления регуляции молекул адгезии [54].

K.H. Franke et al. (2000) показали, что циклинзависимый ингибитор киназы P27 (KIP1) может быть использован как маркер выявления ранних стадий КРР [38]. Однако он не может быть использован в качестве маркера ранней прогрессии этих новообразований.

N. Nabal et al. (2000) предложили использовать при оценке распространенности РТК новый маркер - ТА90-IC, который присутствует в сыворотке крови в форме циркулирующих им-

мунных комплексов [46]. Авторы сравнили уровни РЭА и ТА90 в 59 образцах крови больных распространенным КРР. Основанием для проведения исследования послужил тот факт, что, по данным многих авторов, уровни РЭА повышены только у 70% больных в распространенной стадии болезни. У 86% обследованных больных были выявлены отдаленные метастазы, хотя многие из этих пациентов клинически имели локализованную опухоль без признаков генерализации опухолевого процесса. Анализ уровней вышеуказанных маркеров показал, что концентрация ТА90-IC была увеличена в 82,9%, а РЭА - только в 70,2% больных. Комбинация обоих маркеров позволила установить распространенность опухолевого процесса в 93,5% наблюдений. Исследователи считают, что данную работу необходимо продолжить и доказать роль ТА90-IC в скрининге и мониторинге прогрессирования КРР.

Метастазы КРР в кости выявляются редко и в основном в запущенных стадиях заболевания [24]. Разработаны высокочувствительные биохимические маркеры и, в частности, метод по определению специфических продуктов деградации коллагена, экскретирующихся с мочой в процессе деструкции костного матрикса в составе коллагеновых фрагментов. Наиболее информативными из них в качестве критериев резорбции оказались пиридинолин (Пид) и дезокси-пиридинолин (Дпид), объединяемые в соответствии с их структурой в единое понятие "пиридиновые связи коллагена". Важным преимуществом этого метода является то, что жидкостная хроматография высокого разрешения дает возможность определять как свободные, так и гликозилированные и пептид связанные фракции Пид и Дпид, что соответствует их общей экскреции, наиболее полно отражающей костную резорбцию [9]. Данный метод считается одним из наиболее чувствительных в ранней диагностике костных метастазов при различных опухолях, в том числе и КРР.

Одним из потенциально важных маркеров, вовлеченных в процессы клеточной пролиферации, дифференцировки и контроля метастазирования, является белок ntn 23 [6]. Ген *ntn 23-H1* расположен на хромосоме 17q21 и кодирует белок с относительной молекулярной массой 17 кД. В.В. Делекторской и соавт. (2003)

представлены данные иммуногистохимического исследования экспрессии белкового маркера *nm 23* в ткани первичных опухолей и метастазов аденокарциномы толстой кишки. Показана тенденция к увеличению частоты выявления и уровня экспрессии маркера в ткани первичных опухолей при появлении метастазов в печень. Обсуждаются особенности экспрессии *nm 23* в метастазах опухоли в лимфатических узлах и печени, а также возможность использования этого маркера в качестве дополнительного прогностического критерия при ФТК.

В заключение необходимо отметить, что наиболее адекватным с клинической точки зрения может быть одновременное определение только небольшого числа взаимодополняющих показателей, способных охарактеризовать пролиферативную активность КРР, ее метастатический потенциал, чувствительность к различным типам центральной и локальной регуляции. Задачей исследователей, работающих в данной области, является выбор оптимального в количественном и качественном отношении сочетания молекулярных маркеров в диагностике, мониторинге и прогнозе КРР.

Литература

1. Аббасова С.Т., Щилюнский Н.Е., Липки В.М., Трапезников Н.Н. // Усп. совр. биол. 2000. Т. 120, № 3. С. 303-318.
2. Аруин - 1.И., Кояулаф Ж-з-е, Исаков Б.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М.: Трида-Х, 1998. 483 с.
3. Гарин А.М. Факты, достижения и неудачи современной онкологии. Алма-Ата: Казахстан, 1980. 170 с.
4. Гергаийн Е.С., Кузнецкий Н.Е. // Бюл. экспер. биол. 2001. Т. 131, № 1. С. 81-87.
5. Терштейн Е.С., Кузнецкий Н.Е., Трапезников Н.Н. // Вопр. биол. мед. фарм. химии. 1999. № 2. С. 3-12.
6. Дележгорская В.В., Перевоицков А.Г., Кузнецкий Н.Е. // Архив патологии. 2003. Т. 65- С. 11-15.
7. Кузнецкий Н.Е. // Клини. лаб. диагн. 1999. № 3,4. С. 25-32.
8. Кузнецкий Н.Е., Бритвин Т.А., Аббасова С.Г. и др. // Бюл. экспер. биол. мед. 2001. Т. 131, № 4. С. 430-433.
9. Любимова Н.В., Кузнецкий Н.Е., Робиж С.П. // Бюл. экспер. биол. мед. 1998. Т. 125, № 3. С. 323-328.
10. Отерубов Н.А. Маркеры злокачественных опухолей. Воронеж: Иифа, 1996. 51 с.
11. Пророков В.В., Потемкин Б.А., Терштейн Е.С. и др. // Материалы V Всерос. съезда онкологов "Высокие технологии в онкологии". Казань, 2000. С. 254-256.
12. Скворцов С.В., Кузнецкий Н.Е., Кадагубэ З.Г. и др. // Бюл. экспер. биол. 1997. Т. 123, № 5. С. 566-569.
13. Скворцов С.В., Храмченко И.М., Кузнецкий Н.Е. // Клини. лаб. диагн. 1999. № 9. С. 26.
14. Степанова В.В., Барышников А.Ю., Личиницер М.П. // Усп. совр. биол. Т. 120, № 6. С. 599-600.
15. Фильченков А.А., Стойка Р.С. Апоптоз и рак. Киев: Морион, 1999. 184 с.
16. Aaltonen L., Pentomaki P., Leach F. et al. // Science. 1993. Vol. 260. P. 812-816.
17. Atbanopoulos K., Amakolas A., Konstadoulakis M, et al. // Am. J. Gastroenterol. 2000. Vol. 95, № 4. P. 1056-1061.
18. U.Allgayer H., Wang H., Sbirosawa S, et al. // Br. J. Cancer. 1999. Vol. 80, № 12. P. 1884-1891.
19. Baldus S.E., Goergen D., Hanisch F. et al. // Int. J. Oncol. 2001. Vol. 18, № 3. P. 507-512.
20. Bates R.C., Edwards N.S., Burns G.F., Fisher D.E. // Cancer Res. 2001. Vol. 61, № 13. P. 5275-5283.
21. Bates S., Longo D. // Cancer Treat. Rev. 1985. Vol. 12. P. 163-207.
22. Poland C.R., Thibodeau S.N., Hamilton S.R, et al. // Cancer Res. 1998. Vol. 58. P. 5248-5257.
23. Bume L., Barat G., Pandis N, et al. // Cancer Genet. Cytogenet. 1998. Vol. 106. P. 66-71.
24. Bontoux D., Planchet E., Audebert I. // Bull. Acad. Natl. Med. 1998. Vol. 182, № 5. P. 997-1008.
25. Bunn N., Nielsen H.J., Homers M. et al. // APMIS. 1999. Vol. 107, № 1. P. 160-167.
26. Bruns C.J., Liu W., Davis D.W. // Cancer. 2000. Vol. 89, № 3. P. 488-499.
27. Cascinu S., Aschek C., Bami S. et al. // Clin. Cancer Res. 1999. Vol. 5. P. 1996-4999.
28. Casein S., Grattano F., Valentini M. et al. // Ann. Oncol. 2001. Vol. 12, № 2. P. 239-244.
29. Cui P., Wu E., Weiss L.M. et al. // Mol. Pathol. 2000. Vol. 13, № 9. P. 962-972.
30. Daemi N., Thomasset N., Lissifsky J.C. et al. // Int. J. Cancer. 2000. Vol. 85, № 6. P. 850-856.
31. Di Carlo A., Mariano A., D'Alessandro V. et al. // Oncol. Rep. 2001. Vol. 8, № 2. P. 387-392.
32. Diehl M., Medrano M., Mugueri J.M. et al. // Anticancer Res. 2000(b). Vol. 20, № 5C. P. 3907-3912.
33. Diehl M., Pollan M., Mugueri J.M. et al. // Cancer. 2000(a). Vol. 88, № 1. P. 35-41.
34. Eberhart C.E., Coffey R.J., Raebika A. et al. // Gastroenterology. 1994. Vol. 107. P. 1183-1188.
35. Eberhart C.E., Valdenaire O., Saintgiorgio V. et al. // Int. J. Cancer. 2000. Vol. 86, № 2. P. 182-187.
36. Edler D., Halstoria M., Johnston P.G. et al. // Clin. Cancer Res. 2000. Vol. 6. P. 1378-1384.
37. Eshelman J., Casey G., Kocbera M. et al. // Oncogene. 1998. Vol. 17. P. 719-725.
38. Franks K.H., Miklosi M., Goebell P. et al. // Urology. 2000. Vol. 56, № 4. P. 689-695.
39. Fujii T., Obara T., Tanno S. et al. // Hepatogastroenterology. 1999. Vol. 46, № 28. P. 2299-2308.
40. Fujitara T., Stalker J.M., Watanabe T, et al. // Am. J. Pathol. 1998. Vol. 153. P. 1063-1078.
41. Gauthier L.R., Granotier C., Soria J.C. et al. // Br. J. Cancer. 2001. Vol. 84, № 5- P. 631-635.

42. Gold?, Freedman S.O. // J. Exp. Med. 1965. Vol. 122. P. 467-481.
43. Grady W., Rajput A., Myerhoff L. et al. // Cancer Res. 1998. Vol. 58. P. 3101-3104.
44. Grady W.M., Marko A.S. // Curr. Opin. Gastroenterol. 2000. Vol. 16. P. 62-67.
45. Gryfe R., Swallow C., Bapat B. et al. // Curr. Probl. Cancer. 1997. Vol. 21. P. 233-300.
46. Habal N., Gupta R.K., Bilcbik A.J. et al. // Ann. Surg. Oncol. 2000. Vol. 7, № 5. P. 352-356.
47. Hamilton S.R. // Arch. Pathol. Lab. Med. 1999. Vol. 123. P. 1027-1029.
48. Harvey S.R., Sait A.S.N., Xue A.Y. et al. // Am. J. Pathol. 1999. Vol. 155, № 4. P. 1115-1120.
49. Hayashi S., Yokoyama I., Nama Y. et al. // Cancer Gene Ther. 1999. Vol. 6, № 4. P. 380-384.
50. Herman J.G., Vimar A., Pofyak K. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. P. 6870-6875.
51. Ishikawa Y., Sekiguchi F., Fukase Y. et al. // Cancer Res. 1998. Vol. 58. P. 685-690.
52. Jass J.R., Do K.-J., Simms L.A., et al. // Gut. 1998. Vol. 42. P. 673-679.
53. Jongss L.E., Nagelkerke J.F., Ensink N.G. et al. // Lab. Invest. 2001. Vol. 81, № 5. P. 681-688.
54. Kanai T., Watanabe M., Hayashi A. et al. // Br. J. Cancer. 2000. Vol. 80, № 10. P. 1717-1723.
55. Kinder K.W., Vogehtein B. // Cell. 1996. Vol. 87. P. 159-170.
56. Lagares-Garda J.A., Moore E.-A., Collier B. et al. // Am. Surg. 2001. Vol. 67, № 7. P. 709-713.
57. Lee J.C., Cfon N.H., Wang S.J. et al. // Eur. J. Cancer. 2000. Vol. 36, № 6. P. 748-753.
58. Lengauer C., Kinder K., Vogehtein B. // Nature. 1997. Vol. 386. P. 623-627.
59. Lengyel E., Wang H., Gum R. et al. // Oncogene. 1997. Vol. 14, № 21. P. 2563-2573.
60. Loeb L. // Cancer Res. 1991. Vol. 51. P. 3075-3079.
61. Loeb L., Springgate C., Battula N. // Cancer Res. 1974. Vol. 34. P. 2311-2321.
62. Martini F., Guadagni F., Lenti L. et al. // Anticancer Res. 2000. Vol. 20, № 3A. P. 1609-1614.
63. Mavligit G.M., Eitrov Z. // Am. J. Clin. Oncol. 2000. Vol. 23, № 2. P. 213-215.
64. McLeod H.L., Murray G.I. // Br. J. Cancer. 1999. Vol. 79. P. 191-203.
65. Mtierissian S.H., Kontogiannina M., Al-Sowaidi M. et al. // Ann. Surg. Oncol. 2001. Vol. 8, № 6. P. 533-537.
66. Nakata S., Ito K., Fujimori M. et al. // Int. J. Cancer. 1998. Vol. 79, № 2. P. 179-186.
67. Nucci M.R., Robinson C.R., Longs P. et al. // Hum. Pathol. 1997. Vol. 28. P. 1396-1407.
68. O'Connor P.M., Jackman J., Bae L. et al. // Cancer Res. 1997. Vol. 57. P. 4285-4300.
69. Ried T., Hesefoteyer-Haddad K., Blegen H. et al. // Genes Chromosome Cancer. 1999. Vol. 25. P. 195-204.
70. Rooney P., Murray G., Stevenson D. et al. // Br. J. Cancer. 1999. Vol. 80. P. 862-873.
71. Soft F., Bittner J.R., Kosher R. et al. // Cancer Invest. 1987. Vol. 5, № 5. P. 401-407.
72. Sato S., Tsuno N., Nagawa H. et al. // Cancer. 2000. Vol. 88, № 1. P. 42-49.
73. Sheehan K.M., Sheehan K., Q'Donogh D.P. et al. // JAMA. 1999. Vol. 282. P. 1254-1257.
74. Sheng H., Shao J., Krkland S.C. et al. // J. Clin. Invest. 1997. Vol. 99. P. 2254-2259.
75. Shiotani G., Ishida M., Noguchi N. et al. // Dig. Dis. Sci. 2000. Vol. 45, № 1. P. 122-128.
76. Sidransky D., To K., Hamilton S.R. et al. // Science. 1992. Vol. 256. P. 102-105.
77. Sketky M.M., Troy A., Du S. M.J. et al. // Clin. Cancer Res. 1997. Vol. 3. P. 1837-1840.
78. Stephens R.W., Pedersen A.N., Nielsen H.J. et al. // Clin. Chem. 1997. Vol. 43, № 10. P. 1868-1876.
79. Takemasa L., Yamamoto H., Sekimoto M. et al. // Cancer Res. 2000. Vol. 60, № 11. P. 3043-3050.
80. Takenoue T., Kitayama J., Takei Y. et al. // Ann. Oncol. 2000. Vol. 11. P. 273-279.
81. Tomlinson L., Iiyas M., Novelti M. // Cancer Metastasis Rev. 1997. Vol. 16. P. 67-79.
82. Uedo N., Isbikawa H., Narahara H. et al. // Cancer Detect. Prev. 2000. Vol. 24, № 3. P. 290-294.
83. Van Triest B., Pineda H.M., Elauwgeers J.L.G. et al. // J. Cancer Res. 2000. Vol. 6. P. 1063-1072.
84. Yamachika T., Nakanishi H., Inada K. et al. // Cancer. 1998. Vol. 82, № 1. P. 70-77.
85. Yonemura Y., Ninomiya L., Yamaguchi A. et al. // Cancer Res. 1991. Vol. 51. P. 1034-1038.

Поступила 2.02.04