

Киселёв Л.П., Савицкая Т.В., Алейникова О.В.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

Kisialeu L., Savitskaia T., Aleinikova O.

Belarussian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus

Маркеры ангиогенеза и антиангиогенная терапия у пациентов с локализованными формами саркомы Юинга

Angiogenesis markers and antiangiogenic therapy
for patients with localized Ewing's sarcoma

Резюме

При локализованных формах опухолей семейства саркомы Юинга (СЮ) рецидив развивается более чем у трети пациентов. Прогнозирование таких случаев возможно посредством понимания биологии процесса формирования опухолевой сосудистой сети – ангиогенеза (АГ). Ранее мы установили, что уровень маркеров АГ (экспрессии мРНК гена *TFPI2* (ингибитор путей тканевого фактора) и соотношения изоформ фактора роста сосудов *VEGFA165/VEGFA189*) в ткани опухоли перед началом лечения позволяют прогнозировать клинический исход заболевания у пациентов с СЮ.

В представленном исследовании уровни маркеров АГ определялись в проспективном режиме, и для пациентов с неблагоприятным прогнозом стандартный терапевтический план был интенсифицирован посредством использования препарата бевацизумаб (ингибитор VEGF). В исследование включено 49 пациентов детского возраста с локализованными формами СЮ. Показана возможность определения около половины локализованных форм СЮ в группу благоприятного прогноза на основании уровня маркеров АГ. Констатируется, что применение антиангиогенной терапии позволяет уменьшить количество рецидивов (КЧР 27,7% vs 72,7%) в группе с прогнозируемым неблагоприятным исходом.

Ключевые слова: саркома Юинга, прогностические маркеры, ангиогенез, диагностика и лечение.

Abstract

About one-third of patients with localized Ewing's sarcoma (ES) develop relapse during or immediately after standard treatment. Previously we have established the ability to predict poor outcome based on mRNA expression levels of both *TFPI2* (tissue factor pathway inhibitor 2) and *VEGFA165/VEGFA189* (vascular endothelial growth factor isoforms) ratio in pretreatment tumor tissue. In this study, the level of angiogenesis (AG) markers was determined in prospective mode. VEGF-blockade strategy (through bevacizumab) was used to enhance the therapeutic effects for patients with poor prognosis. 49 patients with localized forms ES included in the study. About half of localized ES have a favorable

prognosis based on AG markers. Application of anti-angiogenic therapy can reduce the amount of relapses (KCR 27.7% vs 72.7%) in the group with predicted poor outcome.

Keywords: angiogenesis, pediatric patients with Ewing's sarcoma, diagnosis and management, prognostic markers.

ВВЕДЕНИЕ

Саркома Юинга (СЮ) – вторая по частоте встречаемости опухоль костной ткани у детей. Мягкотканый источник возникновения составляет 25–30% случаев. Все эти саркомы являются высокоагрессивными новообразованиями с высоким потенциалом развития и метастазирования [1–4]. Стандартный план системной химиотерапии малоэффективен для большинства метастатических и трети локализованных форм новообразований [5–6]. Пол, возраст, размер опухоли, уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ), центральная локализация характеризуются широким диапазоном параметров, и степень их влияния на клинический исход часто пересматривается. В современных базовых клинических протоколах все пациенты с локализованными формами СЮ получают индукционную химиотерапию по идентичным планам, независимо от перечисленных выше критериев [7–8]. Понимание биологии неопластического процесса предоставляет возможность прогнозирования пациентов с неблагоприятным исходом заболевания перед началом системной терапии. Ангиогенез (АГ) – процесс формирования опухолью собственной сосудистой сети, является условием развития и распространения новообразования [9–10]. Ранее мы установили, что уровень маркеров АГ (экспрессии мРНК гена *TFPI2* (ингибитор путей тканевого фактора) и соотношения изоформ фактора роста сосудов *VEGFA165/VEGFA189*) в ткани опухоли перед началом лечения позволяет дифференцировать пациентов с локализованной СЮ на группы благоприятного и неблагоприятного исхода заболевания [11]. В представленном исследовании уровни маркеров АГ определялись в проспективном режиме, и для пациентов с неблагоприятным прогнозом стандартный терапевтический план был интенсифицирован посредством использования препарата бевацизумаб (ингибитор VEGF).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 49 пациентов с локализованными опухолями семейства саркомы Юинга, которые проходили диагностический комплекс и получали лечение в Республиканском научно-практическом центре детской онкологии, гематологии и иммунологии (РНПЦ ДОГИ), Республика Беларусь [12]. Исследовался материал первичной опухоли, полученный в результате диагностического оперативного вмешательства (биопсии) до начала специального лечения. Пациенты, получавшие противоопухолевое лечение до взятия образца ткани были исключены из исследования. Критерием включения пациента в исследование было гистологическое, иммуногистохимическое и молекулярно-биологическое подтверждение диагноза.

В группу 1 (с 2004 по 2009 г.) включены 20 пациентов, для которых ретроспективно были изучены уровни экспрессии мРНК гена *TFPI2* и соотношения изоформ *VEGFA165/VEGFA189* и определена молекулярная комбинация неблагоприятного прогноза (МКНП) заболевания. В качестве МКНП нами ранее был определен уровень экспрессии мРНК гена *TFPI2* $\leq 0,8$ и соотношение изоформ *VEGFA165/VEGFA189* $\leq 1,0$ в ткани опухоли перед началом терапии [11]. В группу 2 (с 2011 по 2015 г.) включены 29 пациентов, которым уровни экспрессии мРНК гена *TFPI2* и соотношения изоформ *VEGFA165/VEGFA189* определялись в проспективном режиме

при инициальной постановке диагноза. При наличии МКНП стандартная терапия была усилена посредством назначения препарата бевацизумаб в дозе 7,5 мг/кг в день 1 каждого блока химиотерапии (n=15). Для пациентов с молекулярной комбинацией благоприятного прогноза терапия была стандартной.

Пациентам проводилось программное системное лечение и осуществлялся локальный контроль (операция, операция + лучевая терапия, только лучевая терапия). Режим химиотерапии группы 1 предусматривал использование винкристина, доксорубицина, ифосфамида, циклофосфамида, этопозид, актиномицина D, бусульфана, мелфалана [11]. Режим химиотерапии группы 2 включал четырехкомпонентные блоки индукции (винкрестин, доксорубин, ифосфамид и этопозид) [13]; консолидирующая терапия была трехкомпонентной (винкрестин, ифосфамид, актиномицин D). Длительность бессобытийной выживаемости (БСВ), общей выживаемости (ОВ) и кумулятивной частоты рецидива (КЧР) исчислялась от времени постановки инициального диагноза. Образцы тканей были получены непосредственно во время операции, немедленно доставлены и заморожены в жидком азоте. Использовался гомогенизатор Retsch (XX, Германия). Для приготовления РНК и обратной транскриптазы – полимеразной цепной реакции в реальном времени (Реал-тайм ПЦР), тотальная РНК выделялась с использованием RNeasy Mini Kit (Qiagen, XX, Germany) согласно инструкции производителя. Количественные показатели концентрации РНК оценивались посредством спектрофотометрии. Тотальную РНК (1,5 мкг) из ткани конвертировали в первую цепь ДНК с использованием случайного праймера (0,3 мкг) и обратной транскриптазы 200 U мышиного вируса лейкемии (Moloney murine leukemia virus, M-MLV; Promega, XX, USA).

В оригинальных образцах были исследованы 3 гена: VEGFA165, VEGFA189 и TFPI-2. В качестве внутреннего контрольного гена использовалась глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH). Количественное определение генов осуществлялось посредством использования метода флуоресценции на основе реального времени (Taqman).

ПЦР в реальном времени для генов VEGFA и TFPI-2 проводилась с использованием коммерческих систем (TaqMan Gene Expression Assays; Applied Biosystems, Foster City, CA, ID Hs00900054 мл и Hs00197918 мл соответственно). Праймеры и зонды для количественной оценки VEGF изоформ в ПЦР в реальном времени были использованы, как описано в публикации Gustafsson et al. [15]. Реакция проводилась в 20 мкл реакционной смеси с окончательным разведением 1× в (Taqman PCR universalmaster mix, Applied Biosystems) в соответствии с протоколом производителя и с помощью оборудования Icycler (Bio-Rad, Hercules, CA) в режиме реального времени. Относительные величины иРНК генов в образцах были рассчитаны по показателям стандартных кривых, полученных путем амплификации серийного разведения обратно транскрибированной тотальной РНК. Значения исследованных показателей были представлены в виде относительных величин.

Статистический анализ данных проводился с использованием программы R-statistics версия 3.2.0, R Foundation for Statistical Computing, лицензия GNU GPL. Оценка статистической значимости различий между сравниваемыми количественными показателями проводилась критерием U теста Манна – Уитни. Сравнение в группах по индивидуальным параметрам проводилось с помощью χ^2 теста. Для оценки выживаемости пациентов применялся метод Kaplan – Meier. Различия в выживаемости оценивались с использованием log-rank теста. Кумулятивная частота возникновения событий рассчитывалась методом конкурирующих рисков, различия кумулятивных частот оценивались с использованием теста Gray. Все различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспрессии мРНК генов TFPI-2 и соотношения VEGFA165/VEGFA189 в ткани опухоли в зависимости от кинического исхода заболевания пациентов группы 1 представлены на рис. 1.

Как представлено на рис. 1, у 8 из 9 (89%) пациентов группы, у которых развился ранний рецидив заболевания, значение уровня экспрессии мРНК гена TFPI-2 было менее 0,8. В то же время у тех же пациентов значение соотношения изоформ VEGFA165/VEGFA189 было менее 1,0. Данная комбинация уровней экспрессии исследуемых онкомаркеров была обозначена как молекулярная комбинация неблагоприятного прогноза (МКНП). Также в выделенную зону были определены 3 пациента с локальными формами СЮ, находящиеся в длительной ремиссии. Не определился в локализованную зону только один пациент с ранним рецидивом заболевания, у которого были установлены максимальные уровни как экспрессии TFPI-2, так и соотношения VEGFA165/VEGFA189. Остальные пациенты локализовались вне выделенной условной зоны, ограниченной на основании определенных значений. В данную группу вошли 8 из 11 (73%) пациентов с длительной ремиссией и 1 из 9 (11%) пациентов с рецидивом.

Пятилетняя БСВ всей когорты пациентов группы 1 составила 55,3%, ОВ – 60,1%. Далее мы определили долгосрочные показатели выживаемости у пациентов в зависимости от распределения в группы благоприятного и неблагоприятного исхода заболевания на основании установленной МКНП. БСВ пациентов группы 1 и МКБП составила 89,4%, в то время как у пациентов с МКНП она была 27,2% ($P<0,05$). Пятилетняя ОВ пациентов с локализованными формами СЮ и МКБП составила 89,4%, в то время как у пациентов с МКНП она была 36,3% ($P<0,05$). Более подробная информация о пациентах группы 1 представлена в публикации [11].

Пациентам группы 2 уровень экспрессии мРНК генов TFPI-2 и соотношения VEGFA165/VEGFA189 в ткани опухоли определялся в проспективном режиме при инициальной диагностике.

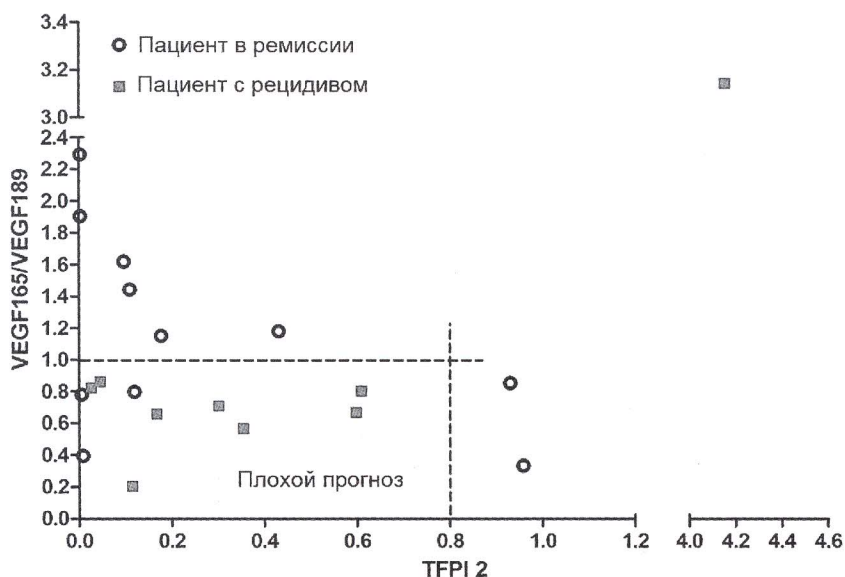


Рис. 1. Экспрессия мРНК гена TFPI-2 и соотношения изоформ VEGFA165/VEGFA189 у пациентов группы 1 в зависимости от клинического исхода заболевания

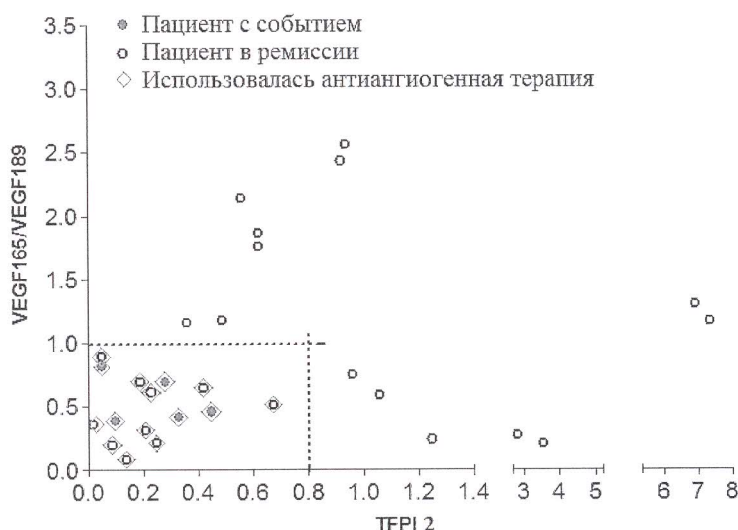


Рис. 2. Экспрессия мРНК гена TFPI-2 и соотношения изоформ VEGFA165/VEGFA189 у пациентов группы 2 в зависимости от клинического исхода заболевания

Результаты экспрессии мРНК генов TFPI-2 и соотношения VEGFA165/VEGFA189 в ткани опухоли проспективной группы пациентов с локализованными формами СЮ представлена на рис. 2.

Как представлено на рис. 2, 14 из 29 (48,2%) пациентов были локализованы вне области МКНП; у них констатирован благоприятный исход заболевания (все пациенты живы без событий) после проведения стандартной системной терапии. Перед началом системной терапии 15 из 29 (51,8%) пациентов были локализованы в область МКНП; для них лечение было интенсифицировано посредством использования антиангиогенной терапии. Отрицательные события и неблагоприятный исход заболевания (4 рецидива, 1 токсическая смерть) констатированы только у пациентов, локализованных в область МКНП. На момент анализа 1 пациент с рецидивом жив и находится во второй ремиссии.

Проведено сравнение показателей КЧР пациентов группы 1 с прогнозируемым неблагоприятным исходом заболевания и без использования антиангиогенной терапии и пациентов группы 2 с прогнозируемым неблагоприятным исходом и с использованием антиангиогенной терапии.

Показатели КЧР пациентов в сравниваемых группах за 5-летний период наблюдения представлены на рис. 3.

Как представлено на рис. 3, КЧР пациентов с МКНП, но без использования антиангиогенной терапии (группа 1) за 5-летний период наблюдения составила 72,7%. У пациентов с МКНП и с использованием антиангиогенной терапии (группа 2) она была 27,7% ($P < 0,05$).

Была оценена экспрессия мРНК генов TFPI-2 и соотношения VEGFA165/VEGFA189 в объединенной когорте (группа 1 и группа 2) пациентов с локализованными формами СЮ.

Результаты экспрессии мРНК генов TFPI-2 и соотношения VEGFA165/VEGFA189 в объединенной когорте (группа 1 и группа 2) пациентов с локализованными формами СЮ представлены на рис. 4.

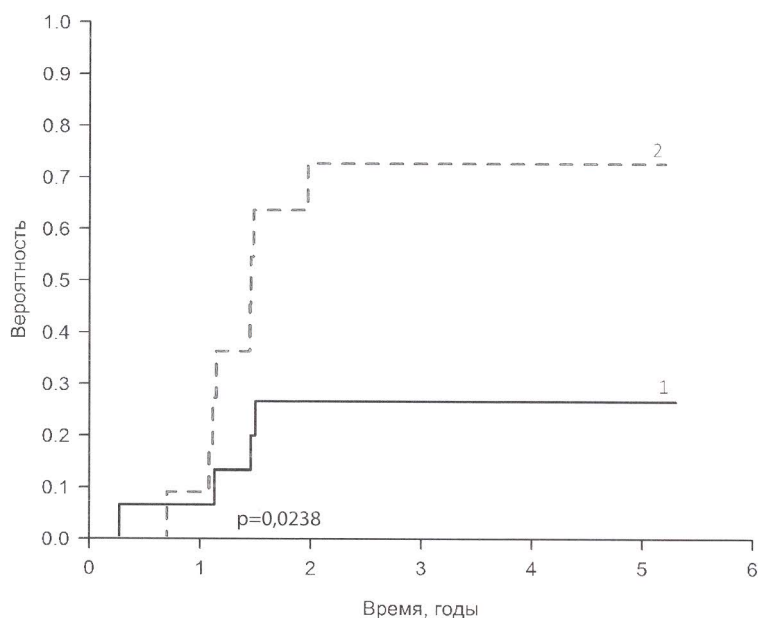


Рис. 3. КЧР пациентов с неблагоприятным прогнозом заболевания в зависимости от использования антиангиогенной терапии. 1 – пациенты с МКНП и с использованием антиангиогенной терапии: n=15, 4 рецидива (26,7±11,9%). 2 – пациенты с МКНП, но без использования антиангиогенной терапии: n=11, 8 рецидивов (72,7±14,9%)

Как представлено на рис. 4, уровень экспрессии мРНК генов TFPI-2 и соотношения изоформ VEGFA165/VEGFA189 в ткани опухоли были оценены у 49 пациентов с локализованными формами опухолей семейства СЮ: 20 пациентов группы 1, 29 пациентов группы 2 с назначением антиангиогенной терапии при прогнозировании неблагоприятного клинического исхода. В когорту с благоприятным исходом заболевания, определенным на основании уровня

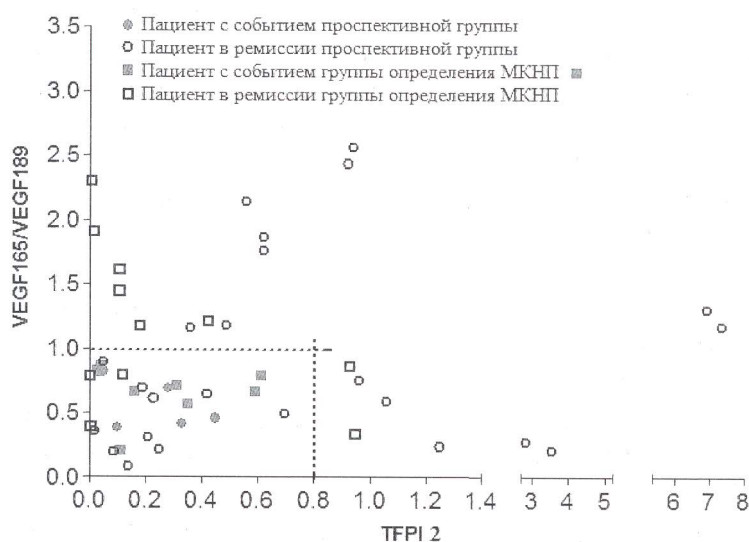


Рис. 4. Экспрессия мРНК гена TFPI-2 и соотношения изоформ VEGFA165/VEGFA189 у пациентов группы 1 и группы 2 в зависимости от клинического исхода заболевания

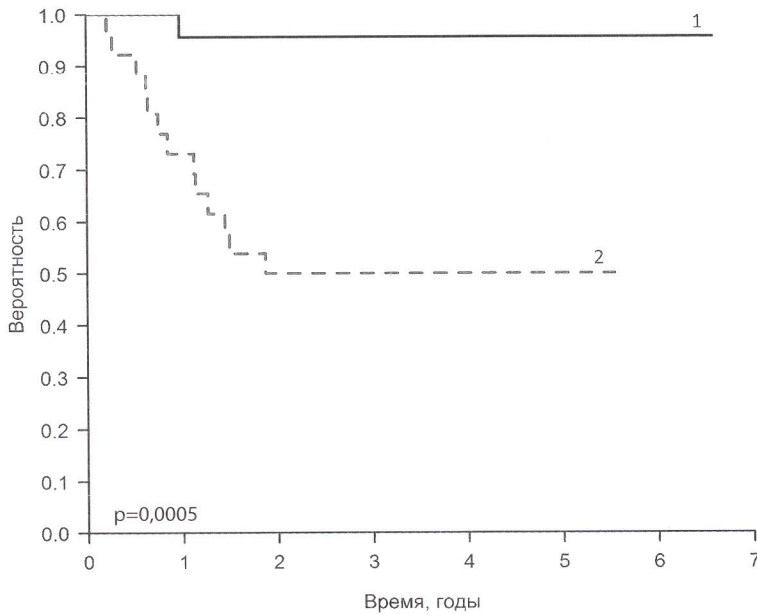


Рис. 5. БСВ пациентов объединенной когорты в зависимости от наличия МКНП. 1 – пациенты без МКНП: $n=23$, 22 без события ($95,7 \pm 4,3\%$); 2 – пациенты с МКНП: $n=26$, 13 без события ($50,0 \pm 9,8\%$)

экспрессии маркеров ангиогенеза, вошло 23/49 (46,9%) пациентов (9 – из группы 1, 14 – из группы 2). Когорту с неблагоприятным исходом заболевания, локализованных в область МКНП, составили 26/49 (53,1%): 11 – из группы 1, 15 – из группы 2.

Показатели БСВ, ОВ и КЧР были определены для всех пациентов с локализованными формами опухолей семейства СЮ и известным уровнем маркеров ангиогенеза.

Показатели БСВ объединенной когорты (группа 1 и группа 2) пациентов с локализованными формами опухолей семейства СЮ в зависимости от наличия молекулярной комбинации благоприятного или неблагоприятного исхода представлены на рис. 5.

Как представлено на рис. 5, показатель 5-летней БСВ всех пациентов исследования с локализованными формами СЮ без наличия МКНП составил 95,7%, у пациентов с наличием МКНП он был 50,0% ($P < 0,05$).

Показатели ОВ объединенной когорты пациентов с локализованными формами опухолей семейства СЮ (все пациенты, у которых были определены маркеры ангиогенеза в ткани опухоли при инициальной диагностике) в зависимости от наличия молекулярной комбинации благоприятного или неблагоприятного исхода представлены на рис. 6.

Как представлено на рис. 6, показатель 5-летней ОВ всех пациентов исследования с локализованными формами СЮ без наличия МКНП составил 95,7%, у пациентов с наличием МКНП он был 55,9% ($P < 0,05$).

Как представлено на рис. 7, показатель КЧР за 5-летний период наблюдения всех пациентов исследования с локализованными формами СЮ без наличия МКНП составил 4,35%, у пациентов с наличием МКНП он был 46,2% ($P < 0,05$).

Таким образом, представленная работа сообщает о возможности персональной интенсификации терапии пациентам с локализованными формами СЮ.

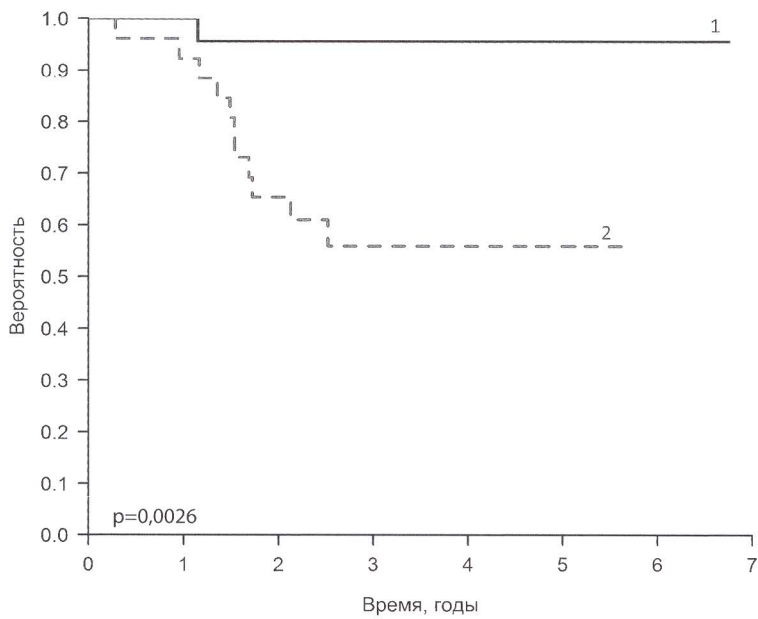


Рис. 6. ОВ пациентов объединенной когорты в зависимости от наличия МКНП. 1 – пациенты без МКНП: $n=23$, 22 живы ($95,7\pm4,3\%$); 2 – пациенты с МКНП: $n=26$, 15 живы ($55,9\pm10,1\%$)

Известно, что 30–40% пациентов с локализованными формами СЮ имеют химиорезистентность новообразования и развивают ранний рецидив заболевания. Ранее мы определили маркеры ангиогенеза, которые позволяют на этапе инициальной диагностики прогнозировать случаи с неблагоприятным ответом опухоли на системную терапию [11]. В настоящем исследовании представлены

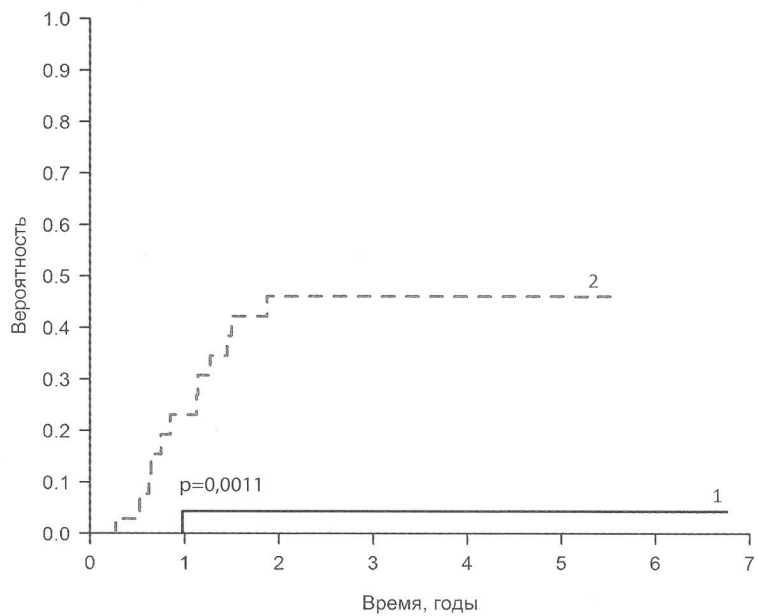


Рис. 7. КЧР пациентов объединенной когорты в зависимости от наличия МКНП. 1 – пациенты без МКНП: $n=23$, 1 рецидив ($4,35\pm4,35\%$); 2 – пациенты с МКНП: $n=26$, 12 рецидивов ($46,2\pm10,1\%$)

результаты использования этого теста в проспективном режиме, а также проведен анализ результатов использования VEGF-блокады для пациентов с неблагоприятным (на основании уровня маркеров ангиогенеза) прогнозом заболевания.

Целевые (таргетные) агенты, ингибирующие рост опухолевых сосудов, используются при широком спектре онкологических нозологий для усиления антинеопластического воздействия [16–18]. Что касается СЮ, североамериканские исследователи из Children's Oncology Group (COG) впервые использовали метрономную антиангиогенную терапию: винбластин и целекоксиб совместно с базовой схемой [16, 17]. В настоящий момент в Европейском Союзе и Соединенных Штатах Америки проводятся несколько исследований эффективности блокады АГ при СЮ [17, 18]. В одном из них (с 2007 г.) американские исследователи предложили использовать бевацизумаб в режиме рандомизации вместе со стандартной химиотерапевтической схемой для пациентов, рефрактерных к индукционной полихимиотерапии (№ протокола NCT00516295) [17, 18]. Кооперативная мультицентровая студия, в 2008 г. стартовавшая в странах Западной Европы (Франция, Нидерланды, Италия, Великобритания), также основной своей целью заявляет оценку эффективности применения ингибитора роста сосудов опухоли – бевацизумаба, но уже в первую линию лечения, для детей от 2 до 17 лет с первично-метастатическими формами СЮ (номер протокола NCT00643565) [17, 18]. В нашем исследовании бевацизумаб дополнил стандартную цитостатическую терапию пациентам с локализованными формами СЮ, у которых был спрогнозирован высокий риск возврата заболевания на основании уровней маркеров ангиогенеза в опухолевой ткани перед началом лечения. В группе с неблагоприятным прогнозом и использованием антиангиогенной терапии количество рецидивов было значимо меньше (КЧР=27,7%), чем у пациентов без использования блокады ангиогенеза (КЧР=72,7%).

Примерно для половины пациентов с локализованной СЮ на основании уровня экспрессии маркеров АГ прогнозируется благоприятный исход заболевания (5-летняя выживаемость 95,7%).

Таким образом, продемонстрировано, что антиангиогенная терапия может быть эффективна при персональном назначении пациентам с прогнозируемым (на основании уровня маркеров АГ в ткани опухоли) неблагоприятным исходом заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уровни экспрессии маркеров АГ в ткани опухоли позволяют спрогнозировать благоприятный исход примерно для половины пациентов с локализованной СЮ.

Антиангиогенная терапия демонстрирует эффективность для пациентов с локализованными формами СЮ при прогнозируемом (на основании уровня маркеров АГ) неблагоприятном исходе заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aleinikova O., Potapnev M., Syckevich O., Petrovich S., Ismail-zade R., Strongin Y. (2000) Dostizhenia detskoj onkologii i hematologii v respublike Belarus' [Achievements for Pediatric Oncology and Hematology in the Republic of Belarus]. *Aktualnye voprosy detskoj onkologii i hematologii: Materialy VIII mejdunarodnogo simpoziuma*. Minsk, pp. 3–8.
2. Sukonko O., Antonenkova Nat. (2011) Organizacionno-metodicheskaja pomoshh', okazyvaemaya gosudarstvennym uchrezhdeniem RNPC OMR im. N.N. Aleksandrova organizacijam zdrazvoohranenija v Respublike Belarus' [Organizational and methodological assistance provided by a public institution RSPC OMR named Centre of MPAs them. N.N. Alexandrova health organizations in the Republic of Belarus]. *Onkologicheskij zhurnal*, vol. 20, pp. 42–45.

3. Demidchik Yu., Pisarenko A., Fridman M., Baragina Z., Man'kovskaya S., Papok V. (2008) Neoperiruemiy rak shhitovidnoy zhelezy: e'ffektivnost' diagnostiki i vyzhivaemost' [Thyroid cancer: diagnostic performance and survival]. *Onkologicheskij zhurnal*, vol. 8, pp. 9–21.
4. Javrid E., Antonenkova N., Prohorova V., Lappo S. (2011) Rol molekuliarnykh chasov v patogeneze i terapii zlokachestvennykh novoobrazovaniy' [Role of molecular hours in pathogenesis and therapy of malignant tumors]. *Meditsinskaya panorama*, vol. 7, pp. 19–23.
5. Padhye B., McCowage G. (2011) Chemotherapy regimens in newly diagnosed and recurrent Ewing sarcoma in children and young adults. *CancerForum*, pp. 128–134.
6. Granowetter L., Womer R., Devidas M., Krailo M., Wang C., Bernstein M. (2009) Dose-intensified compared with standard chemotherapy for nonmetastatic Ewing sarcoma family of tumours: a Children's Oncology Group study. *J Clin Oncol.*, vol. 27, pp. 2536–41.
7. Bhavna Padhye and Geoffrey McCowage (2010) Chemotherapy regimens in newly diagnosed and recurrent ewing sarcoma in children and young adults. *CancerForum*, vol. 34, no 3, pp. 34: 3.
8. Paulussen M., Craft A.W., Lewis I., Hackshaw A., Douglas C., Dunst J. (2008) Results of the EICESS-92 Study: two randomized trials of Ewing's sarcoma treatment – cyclophosphamide compared with ifosfamide in standard-risk patients and assessment of benefit of etoposide added to standard treatment in high-risk patients. *J Clin Oncol.*, vol. 26, pp. 4385–93.
9. Scotlandi K., Remondini D., Castellani G., Manara M.C., Nardi F., Cantiani L. (2009) Overcoming resistance to conventional drugs in Ewing sarcoma and identification of molecular predictors of outcome. *J Clin Oncol.*, vol. 27, pp. 2209–2216.
10. Ordonez J.L., Osuna D., Herrero D., De A' lava E., Madoz-G' J. urpide (2009) Advances in Ewing's sarcoma research: where are we now and what lies ahead? *Cancer Research*, vol. 69, no 18, pp. 7140–7150.
11. Kiselyov L.P., Savitskaya T.V., Lipai N.V., Aleinikova O.V. (2016) TFPI2, VEGFA165 i VEGFA189 kak nezavisimie faktori prognoza lokalizovannykh form sarkomi Yuinga []. *Onkologicheskii zhurnal*, vol. 10, pp. 93–100.
12. Petrovich S., Aleinikova O., Shumikhina T. (2002) Epidemiological aspects of childhood onco-hematological morbidity in the Republic of Belarus. *Vopr Onkol.*, vol. 48, no 3, pp. 301–305.
13. Juergens C., Weston C., Lewis I., Whelan J., Paulussen M., Oberlin O. (2006) Safety assessment of intensive induction with vincristine, ifosfamide, doxorubicin and etoposide (VIDE) in the treatment of Ewing tumours in the EURO-E.W.I.N.G. 99 clinical trial. *Pediatr Blood Cancer*, vol. 47, pp. 22–29.
14. Reddy K., Cao Y., Zhou Z., Yu L., Jia S.F., Kleinerman E.S. (2008) VEGF165 expression in the tumor microenvironment influences the differentiation of bone marrow-derived pericytes that contribute to the Ewing's sarcoma vasculature. *Angiogenesis*, vol. 11, pp. 257–267.
15. Schaefer K.L., Eisenacher M., Braun Y., Brachwitz K., Wai D.H., Dirksen U. (2008) Microarray analysis of Ewing's sarcoma family of tumours reveals characteristic gene expression signatures associated with metastasis and resistance to chemotherapy. *Eur J Cancer*, vol. 44, pp. 699–709.
16. Glade Bender J.L., Adamson P.C., Reid J.M., Xu L., Baruchel S., Shaked Y. (2008) Phase I trial and pharmacokinetic study of bevacizumab in pediatric patients with refractory solid tumors: a Children's Oncology Group study. *Journal of Clinical Oncology*, vol. 26, no 3, pp. 399–405.
17. Subbiah V., Anderson P., Lazar A., Burdett E., Raymond K., Ludwig J. (2009) Ewing's sarcoma: standard and experimental treatment options. *Current Treatment Options in Oncology*, vol. 10 (1–2), pp. 126–140.
18. DuBois S., Marina N., Glade-Bender J. (2010) Angiogenesis and Vascular Targeting in Ewing Sarcoma. *Cancer*, vol. 1, pp. 749–757.

Поступила/Received: 06.03.2017

Контакты/Contacts: leonslight@mail.ru