
Киселев Л.П.

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

Kisialeu L.

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

Саркома Юинга: перспективные биомаркеры и современные возможности персонализации терапии

Ewing's sarcoma: tumor biomarkers and current possibility of treatment individualization

Резюме

Возможность персонализации лечения является актуальным направлением современных исследований для широкого спектра злокачественных новообразований и при опухолях семейства саркомы Юинга (СЮ) в частности. В настоящем сообщении представлен объединенный анализ наиболее изученных биологических характеристик опухоли. Выделены перспективные маркеры, и определены возможности прогнозирования клинического исхода заболевания на их основании. Обсуждена роль биологических факторов в коррекции терапии опухолей семейства СЮ. **Ключевые слова:** саркома Юинга, прогноз заболевания, биологические маркеры, персонализация лечения.

Abstract

Personalized medicine is actual direction for a wide variety of malignancies and Ewing's sarcoma family tumors (ES) in particular. In this report presented a combined analysis of the most studied ES biological characteristics. Highlighted promising markers and identified opportunities of clinical outcome predicting. Estimated biological factors value for the ES tumor therapy correction.

Keywords: Ewing sarcoma, prognostic, biomarkers, personalized medicine.

ВВЕДЕНИЕ

Современные подходы в методологической оценке злокачественных заболеваний дают новые возможности для системного анализа онкопатологии в целом и новообразований костной ткани в частности [1–3]. Впервые описанная Джеймсом Юингом в 1921 г. как эндотелиома кости, саркома Юинга представлена фенотипом низкодифференцированных мелких округлых голубых клеток [4]. У детей и подростков заболевание обнаруживается в основном в костях, однако для взрослых пациентов на первое место выходят мягкотканые локализации [5]. Исторически отдельно выделялась опухоль Аскина, примитивная периферическая

нейроэктодермальная опухоль (пПНЭО) или мягкотканая саркома Юинга, однако на основании общих генетических поломок Всемирная организация здравоохранения объединяет все эти нозологии и рассматривает их как опухоли семейства саркомы Юинга (СЮ) [6]. На протяжении последних десятилетий лечебные и диагностические опции для пациентов с СЮ исследуются посредством мультицентровых протоколов [7]. В Соединенных Штатах Америки (США) 2 протокола находятся в 3-й фазе клинических испытаний. Результаты, представленные Детской онкологической группой (COG, Children's Oncology Group) для пациентов с неметастатическими формами СЮ, свидетельствуют о 65–70% бессобытийной выживаемости при использовании индукции с двухнедельными межблоковыми интервалами и последующим локальным контролем, подразумевающим хирургическое удаление и/или лучевую терапию [6]. Однако около 30% пациентов имеют метастазы на момент постановки диагноза, и для них показатели выживаемости остаются драматически низкими на протяжении последних десятилетий, несмотря на использование максимально агрессивных подходов в терапии [7, 8]. Помимо наличия метастазов имеют место другие клинические маркеры, ассоциирующиеся с неблагоприятным прогнозом. Большой размер новообразования, недостаточная степень некроза опухоли после индукционной химиотерапии, центральная локализация новообразования, более старший возраст пациента могут свидетельствовать о худшем исходе заболевания. Однако ни один из перечисленных показателей не значим при наличии метастатического поражения. На основании этого Северо-Американские мультицентровые трайлы делят пациентов на терапевтические группы только в зависимости от наличия или отсутствия метастазов на момент постановки диагноза. В Европейских протоколах используется аналогичный подход, и индукционная системная терапия у пациентов без метастазов не отличается. Авторы трайлов свидетельствуют, что на сегодняшний день отсутствует четкое понимание того, какие локализованные формы СЮ не ответят на лечение и для каких метастатических форм терапия может оказаться эффективной [6, 8, 9]. Соответственно, значимое клиническое преимущество может дать возможность прогнозирования пациентов с неблагоприятным исходом для использования новых агентов и терапевтических режимов для них. Поскольку новые агенты постоянно вводятся в практику, очень важным является определение когорт пациентов, для которых терапевтическая коррекция будет максимально рациональной. В этой связи исследование биологии опухоли представляется наиболее актуальным направлением на сегодняшний день. Спектр наиболее изученных биологических маркеров СЮ представлен в настоящем обзоре.

Биомаркеры СЮ

Сегодняшняя эра индивидуализации терапии подразумевает поиск биомаркеров с максимально четким пониманием их влияния на клинический исход заболевания. Национальный институт здоровья США определяет биомаркеры как индикаторы нормальных и патологических биологических процессов, которые могут быть объективно измерены и оказывать влияние на принятие клинических решений [10]. Биомаркеры подразделяются на два подтипа: прогностические и предиктивные. Большинство изученных для СЮ биомаркеров являются прогностическими. Они дают информацию о клиническом исходе заболевания при проведении стандартной терапии [10]. Как обсуждалось выше, наличие метастазов на момент диагностики является наиболее информативным прогностическим фактором при СЮ. На основании этого фактора современные протоколы усиливают терапию и/или используют новые агенты в попытке улучшить исход заболевания для пациентов с распространенными формами опухолевого процесса. Предиктивные биомаркеры обеспечивают информацию о вероятности ответа на конкретную терапевтическую

опцию или терапию новым агентом. Таким образом, предиктивные биомаркеры обеспечивают более индивидуальный подход к лечению, но на сегодняшний день такой тип маркеров не определен для опухолей СЮ [11].

Возможности молекулярной диагностики и опухолевый банкинг значительно увеличили количество исследований по поиску биомаркеров. Однако противоречивые результаты по изучению роли одного и того же фактора в значительной степени осложняют этот процесс. Наряду с этими неблагоприятными моментами представляются разные методологические подходы, плохой дизайн исследования и малые размеры опухолевых образцов [7]. Для систематизации подобных исследований Национальным институтом рака США в 2005 г. были разработаны, а в 2012 г. дополнены рекомендации для изучения опухолевых маркеров (Reporting Recommendations for Tumor Marker Prognostic Studies (REMARK)) [11]. Основными требованиями являются: понятные и согласованные терапевтические опции для всех пациентов, использование воспроизводимой методологии, четкий биостатистический план.

Прогностические биомаркеры для СЮ

Результаты поиска прогностических биомаркеров СЮ можно подразделить на четыре основных направления: тип транслокации гена EWSR1, белки клеточного цикла, количество копий ДНК и минимальная резидуальная болезнь.

Тип транслокации гена EWSR1. Генетическая основа опухолей СЮ – хромосомная транслокация, включающая ген EWSR1 и один из нескольких генов, определенных как относящиеся к семейству СЮ (ETS) [12]. Приблизительно 85% транслокаций представляют связку 5' кодона гена EWSR1 22-й хромосомы и 3' кодона гена FLI1 на 11-й хромосоме. Наиболее частый вариант – соединение 7-го экзона EWSR1 с 6-м экзоном FLI1, также известным как транслокация типа 1. Однако известно о нескольких менее частых типах транслокации между этими генами. Около 10% специфических молекулярных поломок представлены участками, альтернативными 3' кодону гена FLI1.

Взаимосвязь между типом молекулярной транслокации и клиническим исходом заболевания была изучена в конце 90-х годов [13]. По результатам анализа опухолевых образцов от 99 пациентов был констатирован значимо лучший уровень общей выживаемости при наличии транслокации типа 1. Отличия были констатированы как в общей когорте, так и у пациентов с локализованной формой заболевания. Схожие данные были получены при ретроспективной оценке 85 опухолевых образцов пациентов Европейского трайла (European Cooperative ES Studies) [14]. В попытке подтвердить результаты этого ретроспективного анализа силами COG и Euro-Ewing было проведено проспективное исследование у пациентов, пролеченных идентично с 1999 по 2007 г. Оба исследования не подтвердили влияния типа мутации на клинический исход заболевания. 578 пациентов, включенных в EURO-E.W.I.N.G.-99, не показали отличий в выживаемости при разных типах транслокации, так же как и 119 пациентов исследования COG [15, 16].

На сегодняшний день констатируется, что более 90% опухолей СЮ имеют транслокацию, связанную с геном EWSR1, и тип транслокации не рассматривается в качестве прогностического маркера и не влияет на стратификацию терапии.

Белки клеточного цикла. Механизм клеточного цикла и его многочисленные протеиновые компоненты очень часто трансформируются при наличии онкологического процесса. В случае СЮ генетические изменения, связанные с pRb (протеин ретинобластомы, Retinoblastoma protein)-зависимым механизмом

регуляции клеточного цикла были описаны включая CDKN2A (циклин-зависимый ингибитор киназ, Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A) и RB1. Kovar et al. впервые описал делецию CDKN2A в 30% опухолей ($n=8/27$) и 52% ($n=12/23$) клеточных линий СЮ; несколько ретроспективных исследований продемонстрировали ассоциацию между нарушениями CDKN2A и клиническим исходом СЮ [17]. Позднее делеция CDKN2A была обнаружена Wei et al. в 18% ($n=7/39$), Tsuchia et al. в 17% ($n=4/24$) и Maitra et al. в 20% ($n=4/20$) случаев у пациентов с СЮ [18–20]. Во всех исследованиях генетическая поломка коррелировала с худшей выживаемостью и наличием метастазов на момент постановки диагноза при однофакторном и мультифакторном анализе. Метаанализ прогностического значения поломки CDKN2A при СЮ был осуществлен на шести отдельных исследованиях ($n=188$). В противовес предыдущим результатам не была идентифицирована отрицательная прогностическая роль делеции CDKN2A или гиперэкспрессии белка. Поскольку мнение о негативном характере этой поломки достаточно устойчиво, было сделано заключение о необходимости проспективного исследования [20].

Потенциальная прогностическая роль гена опухолевого супрессора TP53 (Tumor protein 53) также изначально была изучена в ретроспективных исследованиях. Его гиперэкспрессия была определена в 14% опухолей ($n=7/52$) и ассоциировалась с распространенностью заболевания, худшим патоморфозом опухоли и меньшими показателями общей выживаемости [21]. Результаты не коррелировали с такими факторами, как локализация опухоли и вид локального лечения. В последующих исследованиях мутация TP53 была изучена de Alava et al. и Huang et al. и констатировано ее наличие в 11% ($n=6/55$) и 13,3% ($n=8/60$) случаев соответственно [22, 23]. Мутация гена TP53 и/или делеция CDKN2A статистически значимо ассоциировались с худшим ответом на химиотерапию ($p<0,0001$), и при мультивариантном анализе статус по TP53 и/или делеции CDKN2A были определены как наиболее значимые прогностический факторы ($p<0,0001$).

Суммируя представленные данные этих ретроспективных исследований, можно рассматривать TP53 и CDKN2A в качестве биомаркеров СЮ с негативным прогнозом. На сегодняшний день COG проводит изучение этих маркеров в более чем 150 проспективно собранных опухолях у пациентов, получавших лечение по программе AEWS 0031. Если анализ проспективной штудии подтвердит данные ретроспективных исследований, то эти белки-регуляторы клеточного цикла будут уверенными кандидатами для включения в клинические трайлы в качестве маркеров, предсказывающих биологическое поведение опухоли и ее ответ на терапию.

Изменения количества копий. Геномная нестабильность и последующее нарушение количества копий (Copy Number Aberrations, CNAs) достаточно хорошо изучено и задокументировано при СЮ [24]. Данные представлены в таблице.

Наиболее часто была описана трисомия 8-й и 12-й хромосомы, а также участки увеличения (gain) генетического материала хромосомы 1q или потери (loss) генетического материала хромосомы 16q. Технологии оценки нарушения количества копий совершенствовались за последнее время, что дало возможность оценивать aberrации и их корреляцию с клиническим исходом. Однако ретроспективные исследования используют, как правило, различные подходы для выявления CNAs на различном количестве опухолевых образцов, и их объединенный анализ является затруднительным. Проспективный анализ нарушения количества копий и его влияния на результаты лечения при СЮ не проводился.

Таким образом, независимое изучение как малых, так и больших когорт пациентов идентифицировали индивидуальные и общие генетические нарушения как предполагаемые прогностические маркеры при СЮ. Прогнозируется, что дальнейшее совершенствование платформ секвенирования позволит изучить большее количество

Геномная нестабильность и нарушение количества копий у пациентов с СЮ

Локализация	Всего пациентов, N	Пациентов с абберацией, N	% пациентов с абберацией	***БСВ (%)	p	Автор
1q21-q22 gain*	20	5	25	78 vs. 50	0,57	[25]
6p21.1 gain	28	3	11	64 vs. 0	0,004	[26]
8 gain	21	10	48	90 vs. 60	0,1528	[27]
8 gain	40	15	38	100 vs. 26	0,0059	[28]
12 gain	28	3	11	59 vs. 33	0,36	[26]
12 gain	16	6	38	94 vs. 50	0,0751	[27]
16q loss	40	4	10	74 vs. 50	0,11	[27]

Примечания:

* (gain) – увеличение генетического материала на участке хромосомы;

** (loss) – уменьшение количества материала на участке хромосомы;

*** – бессобытийная выживаемость, пациенты без изучаемой поломки vs. пациентов с обнаруженной поломкой.

структурных изменений в опухоли и предоставит больше данных для анализа их взаимосвязи с клиническими исходами заболевания. Наряду с этим дискутируется возможность проспективного изучения геномной нестабильности у пациентов с наличием рефрактерной / рецидивной СЮ.

Минимальная резидуальная болезнь. Оценка минимальной резидуальной болезни (МРД) сегодня является краеугольным камнем в протоколах терапии острых лейкозов у детей [29]. Стандартизованные методологии определения и тайминг МРД включены в Европейские и Североамериканские протоколы терапии лимфобластного лейкоза и используются как прогностический биомаркер для стратификации пациентов на группы риска.

Обратно-транскриптазная полимеразная цепная реакция

Попытки выработки методологии определения и влияния МРД на клинический исход СЮ были связаны в первую очередь с использованием обратно-транскриптазной полимеразной цепной реакции (РТ-ПЦР) в реальном времени и проточной цитометрией. Посредством РТ-ПЦР исследовалась кровь и костный мозг пациентов с СЮ для определения минимальной метастатической болезни при первичной диагностике и минимальной персистирующей (резидуальной болезни) после окончания лечения. После экспериментов было определено, что чувствительность данного метода составляет 1 опухолевая клетка на 10⁶ нормальных. Наиболее представительное исследование Французского Общества детских онкологов (French Society of Pediatric Oncology, SFOP) тестировало уровень транскриптов EWSR1-FLI1 и EWSR1-ERG в костном мозге и периферической крови у 172 пациентов, 140 из которых получали лечение по идентичной программе [30]. РТ-ПЦР позитивный костный мозг был определен у 27% обследованных пациентов (n=36/131) и 19% пациентов (n=18/92) без классического метастатического поражения на момент постановки диагноза. Циркулирующие транскрипты были обнаружены у 20% пациентов при первичной диагностике и более часто наблюдались в случаях с большей опухолевой нагрузкой. При локализованных формах заболевания наличие РТ-ПЦР позитивного костного мозга и периферической крови коррелировало с худшим исходом заболевания. В противовес этим результатам исследование образцов крови от 26 пациентов не выявило отличия в безрецидивной заболеваемости при наличии транскрипта [31]. Однако эта работа показала, что циркуляция транскрипта после окончания лечения увеличивает риск возврата болезни. Zoubek et al. исследовал образцы костного мозга у 35 первичных пациентов с СЮ. Транскрипт был обнаружен в 30% случаев (n=36/131) при локализованных формах, в 50% (n=3/6) при

изолированных метастазах в легкие и у всех пациентов (100%) с метастатическим поражением костей [32]. Исследование не представило сравнительную характеристику показателей выживаемости в зависимости от наличия транскрипта, хотя связь циркулирующих опухолевых клеток с распространенностью новообразования была очевидной.

Для ответа на вопрос о прогностическом значении циркулирующих транскриптов при СЮ трайл EURO-E.W.I.N.G.99 более 10 лет осуществляет проспективный набор образцов костного мозга. Поскольку это единственное проспективное исследование таких масштабов, его результаты будут определяющими для решения об использовании МРБ в качестве биомаркера при опухолях семейства СЮ. Американские ученые COG высказывают достаточно скептическое мнение о возможностях использования МРБ для коррекции терапевтических опций [6]. Сомнения базируются на совместных наблюдениях, показывающих, что идентичность воспроизводимости анализа в различных лабораториях часто затруднена в связи с определенным спектром технологических навыков, необходимых для последовательного выделения РНК с целью достоверной и надежной РТ-ПЦР. Также необходимо учитывать, что РТ-ПЦР анализ требует точной локализации точки разрыва. С увеличением количества институтов COG, в которых выполняется закрытая биопсия, а для подтверждения наличия молекулярной транслокации используется ФИШ анализ (fluorescence in situ hybridization, FISH), практическая необходимость в выделении РНК стала меньше, поскольку обоснованием для ее выполнения могут служить только редкие поломки, не связанные с геном EWSR1. Таким образом, результаты проспективных исследований, а также унификация технологических процедур нужны для четкой оценки роли МРБ в клинической практике СЮ.

Проточная цитометрия

В последнее время метод проточной цитометрии используется для определения МРБ при СЮ. Основной мишенью для поиска опухолевых клеток является гликопротеин CD99, презентируемый на их поверхности. Используется избирательная стратегия для идентификации комбинации CD99+/CD45-, которая характеризует опухолевую структуру и позволяет выделить одну патологическую клетку на фоне 5×10^5 мононуклеаров периферической крови. Подобная стратегия была использована Ash et al., где клетки СЮ были идентифицированы как CD99+/CD90+/CD45- при изучении аспиратов костного мозга от 46 пациентов (35 с локализованными формами процесса) [33]. Во всех образцах пациентов с СЮ были обнаружены опухолевые клетки с концентрацией от 0,001 до 0,4%, притом что в 10 контрольных аспиратах без онкопатологии их обнаружено не было. Более того, высокий уровень экспрессии CD56+ свидетельствовал о худшем клиническом ответе. Эти инициальные исследования показали возможные перспективы использования метода проточной цитометрии. Немаловажным фактором является требуемое более простое технологическое и лабораторное обеспечение, что, несомненно, способствует большей унификации этого способа диагностики МРБ. Планируется тестирование данного метода в проспективном трайле диагностики и лечения СЮ.

Другие исследования

Наряду с описанными выше, существует ряд исследований биомаркеров, которые могут обладать прогностическим значением для СЮ. При изучении активности теломеразы в 26 образцах крови у пациентов после окончания специального лечения выявлен худший клинический исход при ее повышении [34]. В двух исследованиях

показана взаимосвязь высокого уровня экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (выполнялся иммуногистохимический анализ) и с худшими показателями общей выживаемости [35, 36]. Yabe et al. иммуногистохимически определяли уровень фактора связывания папилломавируса человека (papillomavirus binding factor, PBF) в 20 образцах первичной опухоли СЮ. Высокий уровень экспрессии был определен как степень +++ и коррелировал с уменьшением количества положительных исходов заболевания [37]. Также с помощью иммуногистохимического анализа изучалась экспрессия нуклеофосмина (nucleophosmin, NPM), белка, участвующего в процессе апоптоза, у 34 пациентов с СЮ. Больше число случаев неблагоприятных клинических исходов ассоциировалось с экспрессией этого фактора. Метод РТ-ПЦР был использован для оценки уровня микросомальной глутатион S-трансферазы (microsomal glutathione S-transferase 1, MGST1) в 42 образцах первичных опухолей. Повышение уровня бессобытийной выживаемости было связано с низкой экспрессией данного маркера, также как и данные, представленные Luo et al. при анализе глутатион S-трансферазы M4 (glutathione S-transferase mu 4, GSTM4) в ткани опухоли у 44 пациентов с СЮ: повышенный уровень экспрессии данного маркера ассоциировался с плохим ответом на химиотерапию и худшим клиническим исходом [38]. Berghuis et al. была изучена степень инфильтрации Т-лимфоцитами 20 опухолевых образцов. Иммуногистохимическим методом в новообразовании определялись CD9+ позитивные клетки. Их большая концентрация была связана с лучшими показателями общей выживаемости [39]. Макрофагальная инфильтрация опухоли также была исследована в когорте из 41 случая СЮ. Высокий уровень презентации CD68+ клеток в опухолевом субстрате коррелировал с большим числом худших исходов заболевания. РТ-ПЦР анализ предшественников молекулы группы miR-34 (группы малых некодирующих РНК) осуществлялся в 49 образцах опухолевой ткани и показал взаимосвязь экспрессии изучаемого маркера и увеличения показателей как бессобытийной, так и общей выживаемости [40].

Можно суммировать представленные данные и заключить, что в последнее десятилетие имеет место тенденция к активному поиску новых прогностических маркеров СЮ. Различные маркеры исследуются как при использовании иммуногистохимического метода, так и посредством молекулярно-биологических подходов, в основном РТ-ПЦР. Стандартно осуществимые техники исследования могут способствовать объединению усилий нескольких исследовательских центров при условии проспективного набора в группы сравнения, а также лечения пациентов по унифицированным стандартам.

Предиктивные биомаркеры как основание для таргетной терапии СЮ

Ряд биологических мишеней и потенциально эффективных новых агентов терапии исследуется для пациентов с СЮ. В качестве примера одного из них можно рассматривать представителя группы тирозин-киназ, рецептор 1 инсулиноподобного фактора роста (Insulin Growth Factor Receptor 1, IGF-1R). IGF-1R презентируется в большом количестве на клетках СЮ, и многие исследования свидетельствуют о его значении для функционирования опухолевой модели СЮ. Инициальное использование анти-IGF-1R терапии привело к значительному терапевтическому эффекту в нескольких случаях СЮ, однако более поздние исследования с большей терапевтической группой констатировали положительный результат только для 10% ранее интенсивно пролеченных пациентов с последующим прогрессированием заболевания [41]. К сожалению, массовое изучение опухолевой ткани после применения таргетной терапии для последовательной оценки эффективности ее воздействия на белки-мишени является дорогим и зачастую трудновыполнимым. Таким образом, имело место отсутствие выраженного клинического эффекта, но не

получен ответ на следующий вопрос: в какой степени были блокированы рецепторы мишени? И если они были блокированы в достаточной степени, а значимый клинический эффект не достигнут, есть ли клинический смысл в использовании таргетной терапии против конкретно данного рецептора? Тем не менее, на сегодняшний день тестирование антител к фактору IGF-1R проводится на этапе 2 испытательной фазы для пациентов с метастатической и рефрактерной СЮ.

Возможность предсказать эффективность использования нового терапевтического агента для конкретного пациента повышает вероятность успеха для него и значительно укрепляет позиции персональной терапии в целом. Многообещающим примером преимущества использования биомаркеров в клинической практике может служить улучшение показателей выживаемости пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Активация мутации гена рецептора эпидермального фактора роста (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR) определяется в меньшинстве случаев при этом заболевании, но именно для этих селективных пациентов использование прямой блокады EGFR оказалось эффективным [42]. Аналогичным образом активация мутации в генах PDGFRA и KIT в гастроинтестинальных стромальных опухолях является предиктивным маркером для назначения иматиниба. Такой биомаркер не определен в настоящий момент для таргетной терапии IGF-1R при СЮ, хотя недавние исследования показывают, что экспрессия и активация инсулиновых рецепторов и нуклеарная локализация фосфорилированного IGF-1R могут быть эффективным предиктором ответа опухоли [41]. Эти результаты также подтверждают необходимость новых проспективных трайлов и указывают на упущения трайлов, уже проведенных.

Результаты, показывающие, что только небольшая часть пациентов с рецидивной СЮ ответила на анти IGF-1R монотерапию, свидетельствуют об острой необходимости в предиктивных маркерах для данной патологии. Поскольку имеется значительный прогресс в определении потенциальных предсказательных маркеров, очень важно, чтобы одновременно был изучен прогностический потенциал максимального их количества. Это позволит выделить пациентов, которые получают или не получают эффект от использования новых агентов лечения.

Еще одной потенциальной возможностью, которая находится сейчас на доклинических испытаниях, является ингибирование PARP1 (poly (ADP-ribose) polymerase promoter), который является ключевым ферментом, вовлеченным в процесс репарации ДНК. Белки, продуцируемые СЮ, взаимодействуют с PARP1, и опухолевые модели *in vivo* и *in vitro* очень чувствительны к их блокаде отдельно таргетным ингибитором, а также во взаимодействии с темозоломидом. Кроме этого, при оценке селективной восприимчивости более 100 клеточных опухолевых линий СЮ показала восприимчивость к ингибиторам PARP1 [43]. На основании этих многообещающих доклинических исследований эффективность ингибиторов PARP1 изучается в настоящее время в трайле для взрослых пациентов [44]. И поскольку наряду с этим эффективность ингибиторов PARP1 тестируется при ряде нозологий взрослых пациентов, потенциальные биомаркеры процесса репарации ДНК могут быть рассмотрены в качестве компонентов для тестирования при детской онкопатологии. Также анализируется возможность определения активности PARP1 в образцах периферической крови в качестве потенциальной замены процесса биопсии опухоли [45]. Поскольку этот вариант может быть особенно полезен для получения данных о биомаркерах, не прибегая к биопсии опухоли, проведение такого трайла у педиатрических пациентов весьма вероятно.

Основы канцерогенеза гласят, что если опухоль представлена больше чем сотней клеток, для дальнейшего развития ей необходимо формирование собственной сосудистой сети, так же как и развитие последней строго коррелирует со

способностью и эффективностью метастазирования. В условиях быстрого роста опухоли и снижения содержания кислорода в злокачественных клетках, регуляторы ангиогенеза – чувствительные к гипоксии факторы транскрипции HIF-1 α и HIF-2 α (факторы, индуцирующие гипоксию, hypoxia-inducible factors) – повышают транскрипцию генов, обеспечивающих адаптацию клеток к гипоксии, и стимулируют продукцию цитокинов – активаторов ангиогенеза [46]. При этом главной функцией VEGF является обеспечение выживаемости, индуцирование пролиферации и усиление миграции и инвазии эндотелиальных клеток посредством тирозинкиназных рецепторов. Экспрессия VEGF усиливает неоангиогенез и рост опухолей, способствует метастазированию, и, соответственно, высокий уровень фактора сочетается с плохим прогнозом при СЮ [46]. В клинических исследованиях было показано, что моноклональные антитела против фактора роста эндотелия сосудов обладают цитостатическим и цитотоксическим эффектом при многих солидных опухолях, что выражалось в регрессии опухоли, замедлении опухолевого роста или увеличении времени до прогрессирования. В этой связи таргетные препараты, направленные на подавление роста опухолевых сосудов, вызывают несомненный интерес как вариант усиления антинеопластического воздействия [47]. Как было отмечено, исследователи из COG для пациентов с распространенными формами СЮ использовали метрономную антиангиогенную терапию: винбластин и целекосиб совместно с базовой схемой. Также онкологами из США с 2007 г. осуществляется набор пациентов с рецидивными или рефрактерными формами заболевания в возрасте от 1 до 21 года включительно. Исследовательское плечо рандомизации предусматривает назначение бевацизумаба вместе со стандартной химиотерапевтической схемой [46]. Кооперативная мультицентровая студия, в 2008 г. стартовавшая в странах Западной Европы (Франция, Нидерланды, Италия, Великобритания), основной своей целью заявляет оценку эффективности применения ингибитора роста сосудов опухоли – бевацизумаба, в качестве дополнения к стандартным схемам химиотерапии, но уже в первую линию лечения для детей от 2 до 17 лет с первично-метастатическими формами СЮ [48]. Эти исследования сопровождаются проспективным сбором опухолевых образцов для попытки идентификации маркеров ангиогенеза в качестве предиктивных факторов антиангиогенной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последнее время проведена серия исследований прогностических биомаркеров при СЮ. Наиболее изучены из них протеины клеточного цикла, нарушения количества геномного материала и минимальная резидуальная болезнь. Все они показали возможность влияния на клинический исход заболевания в нескольких ретроспективных исследованиях и на сегодняшний день тестируются в когортах пациентов с идентичным терапевтическим планом. Проспективные многоцентровые трайлы являются идеальной концепцией для таких исследований, поскольку обеспечивают большие группы наблюдений с проспективным набором материала. Большое внимание также уделяется поиску биомаркеров, которые можно определить и поступательно отслеживать в крови пациента.

Последние десятилетия показали, что стандартные подходы в системной терапии СЮ достигли пределов своей токсичности и эффективности. Но наряду с определенными успехами в лечении локализованных форм СЮ, показатели выживаемости пациентов с наличием метастазов на момент постановки диагноза остаются неудовлетворительными. На сегодняшний день отсутствует четкое понимание того, какие локализованные формы СЮ не ответят на лечение и для каких метастатических форм терапия может оказаться эффективной. Новые

терапевтические агенты необходимы для дальнейших достижений в курации данной нозологии. Убедительный опыт использования предиктивных маркеров для индивидуальной коррекции и улучшения результатов лечения при ряде новообразований свидетельствует о перспективности данного подхода. Отсутствие таких четких прогностических критериев при СЮ делает актуальным дальнейшие исследования в данном направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Petrovich S., Alejnikova O. (2004) Osobennosti zaboлеваemosti zlokachestvennymi novoobrazovaniyami detej pervogo goda zhizni v Respublike Belarus' [The incidence of malignant neoplasms in children of the first year of life in the Republic of Belarus]. *Mediko-biologicheskie aspekty avarii na Chernobyl'skoj AE'S*, vol. 1, pp. 3–11.
2. Sukonko O., Antonenkova N. (2011) Organizacionno-metodicheskaya pomoshh', okazyvaemaya gosudarstvennym uchrezhdeniem RNPC OMR im. N.N. Aleksandrova organizatsiyam zdrazvoohraneniya v Respublike Belarus' [Organizational and methodological assistance provided by a public institution RSPC OMR named. N.N. Aleksandrova 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) Neoperiruemyj rak shhitovidnoj zhelezy: e'ffektivnost' diagnostiki i vyzhivaemost' [Thyroid cancer: diagnostic performance and survival]. *Onkologicheskij zhurnal*, vol. 8, pp. 9–21.
4. Ewing J. (1972). Classics in oncology. Diffuse endothelioma of bone. James Ewing. Proceedings of the New York Pathological Society. *CA Cancer J. Clin.*, vol. 22, pp. 95–98.
5. Fletcher C., Bridge J., Hogendoorn P., Mertens F. (2013) "Classification of tumours pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone" in *World Health Organization, 4th Edn*. Lyon: IARC Press, pp. 306–309.
6. Neerav S., Joshua D., Schiffman D. R., Davis I.J., Womer R.B., Lessnick S.L., Lawlor E.R. and The COG Ewing Sarcoma Biology Committee. (2013) Biomarkers in Ewing sarcoma: the promise and challenge of personalized medicine. A report from the Children's Oncology Group. *Frontiers in oncology*, vol. 3, pp. 1–13.
7. Martin R.C. 2nd, Brennan M.F. (2003) Adult soft tissue Ewing sarcoma or primitive neuroectodermal tumors: predictors of survival? *Arch. Surg.*, vol. 138, pp. 281–285.
8. Lee J., Hoang B.H., Ziogas A., Zell J.A. (2010) Analysis of prognostic factors in Ewing sarcoma using a population-based cancer registry. *Cancer*, vol. 116, pp. 1964–1973.
9. 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.
10. La Thangue N.B., Kerr D.J. (2011) Predictive biomarkers: a paradigm shift towards personalized cancer medicine. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, vol. 8, pp. 587–596.
11. Altman D.G., Mc Shane L.M., Sauerbrei W., Taube S.E. (2012) Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies (REMARK): explanation and elaboration. *BMC Med.*, vol. 10, p. 51.
12. Pinto A., Dickman P., Parham D. (2011) Pathobiologic markers of the Ewing sarcoma family of tumors: state of the art and prediction of behaviour. *Sarcoma*, 856190.

13. Van Maldegem A.M., Hogendoorn P.C., Hassan A.B. (2012) The clinical use of biomarkers as prognostic factors in Ewing sarcoma. *Clin. Sarcoma Res.*, vol. 2, p. 7.
14. Wagner L.M., Smolarek T.A., Sumegi J., Marmer D. (2012) Assessment of minimal residual disease in Ewing sarcoma. *Sarcoma*, 780129.
15. Le Deley M.C., Delattre O., Schaefer K.L., Burchill S.A., Koehler G., Hogendoorn P.C. (2010) Impact of EWS-ETS fusion type on disease progression in Ewing's sarcoma/peripheral primitive neuroectodermal tumor: prospective results from the cooperative Euro- E.W.I.N.G. 99 trial. *J. Clin. Oncol.*, vol. 28, pp. 1982–1988.
16. Van Doorninck J.A., Ji L., Schaub B., Shimada H., Wing M.R., Krailo M.D. (2010). Current treatment protocols have eliminated the prognostic advantage of type1 fusions in Ewing sarcoma: a report from the Children's Oncology Group. *J. Clin. Oncol.*, vol. 28, pp. 1989–1994.
17. Kovar H., Jug G., Aryee D.N., Zoubek A., Ambros P., Gruber B. (1997) Among genes involved in the RB dependent cell cycle regulatory cascade, the p16 tumor suppressor gene is frequently lost in the Ewing family of tumors. *Oncogene*, vol. 15, pp. 2225–2232.
18. Wei G., Antonescu C.R., De Alava E., Leung D., Huvos A.G., Meyers P.A. (2000) Prognostic impact of INK4A deletion in Ewing sarcoma. *Cancer*, vol. 89, pp. 793–799.
19. Tsuchiya T., Sekine K., Hinohara S., Namiki T., Nobori T., Kaneko Y. (2000) Analysis of the p16INK4, p14ARF, p15, TP53 and MDM2 genes and their prognostic implications in osteosarcoma and Ewing sarcoma. *Cancer Genet. Cytogenet.*, vol. 120, pp. 91–98.
20. Maitra A., Roberts H., Weinberg A.G., Geradts J. (2001) Aberrant expression of tumor suppressor proteins in the Ewing family of tumors. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 125, pp. 1207–1212.
21. Honoki K., Stojanovski E., Mcevoy M., Fujii H., Tsujiuchi T., Kido A. (2007) Prognostic significance of p16 INK4a alteration for Ewing sarcoma: a meta-analysis. *Cancer*, vol. 110, pp. 1351–1360.
22. De Alava E., Antonescu C.R., Panizo A., Leung D., Meyers P.A., Huvos A.G. (2000) Prognostic impact of P53 status in Ewing sarcoma. *Cancer*, vol. 89, pp. 783–792.
23. Huang H.Y., Illei P.B., Zhao Z., Mazumdar M., Huvos A.G., Healey J.H. (2005) Ewing sarcomas with p53 mutation or p16/p14 ARF homozygous deletion: a highly lethal subset associated with poor chemoresponse. *J. Clin. Oncol.*, vol. 23, pp. 548–558.
24. Jahromi M.S., Jones K.B., Schiffman J.D. (2011) Copy number alterations and methylation in Ewing's sarcoma. *Sarcoma*, 362173.
25. Armengol G., Tarkkanen M., Virolainen M., Forus A., Valle J., Bohling T. (1997) Recurrent gains of 1q, 8 and 12 in the Ewing family of tumours by comparative genomic hybridization. *Br. J. Cancer*, vol. 75, pp. 1403–1409.
26. Tarkkanen M., Kiuru-Kuhlefelt S., Blomqvist C., Armengol G., Bohling T., Ekfors T. (1999) Clinical correlations of genetic changes by comparative genomic hybridization in Ewing sarcoma and related tumors. *Cancer Genet. Cytogenet.*, vol. 114, pp. 35–41.
27. Zielenska M., Zhang Z.M., Ng K., Marrano P., Bayani J., Ramirez O.C. (2001) Acquisition of secondary structural chromosomal changes in pediatric Ewing sarcoma is a probable prognostic factor for tumor response and clinical outcome. *Cancer*, vol. 91, pp. 2156–2164.
28. Jahromi M.S., Putnam A.R., Druzgal C., Wright J., Spraker-Perlman H., Kinsey M. (2012) Molecular inversion probe analysis detects novel copy number alterations in Ewing sarcoma. *Cancer Genet.*, vol. 205, pp. 391–404.

29. Borowitz M.J., Devidas M., Hunger S.P., Bowman W.P., Carroll A.J., Carroll W.L. (2008) Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood*, vol. 111, pp. 5477–5485.
30. Schleiermacher G., Peter M., Oberlin O., Philip T., Rubie H., Mechinaud F. (2003) Increased risk of systemic relapses associated with bone marrow micrometastasis and circulating tumor cells in localized Ewing tumor. *J. Clin. Oncol.*, vol. 21, pp. 85–91.
31. Avigad S., Cohen I.J., Zilberstein J., Liberzon E., Goshen Y., Ash S. (2004) The predictive potential of molecular detection in the nonmetastatic Ewing family of tumors. *Cancer*, vol. 100, pp. 1053–1058.
32. Zoubek A., Ladenstein R., Windhager R., Amann G., Fischmeister G., Kager L. (1998) Predictive potential of testing for bone marrow involvement in Ewing tumor patients by RT-PCR: a preliminary evaluation. *Int. J. Cancer*, vol. 79, pp. 56–60.
33. Ash S., Luria D., Cohen I.J., Goshen Y., Toledano H., Issakov J. (2011) Excellent prognosis in a subset of patients with Ewing sarcoma identified at diagnosis by CD56 using flow cytometry. *Clin. Cancer Res.*, vol. 17, pp. 2900–2907.
34. Ohali A., Avigad S., Cohen I.J., Meller I., Kollender Y., Issakov J. (2003) Association between telomerase activity and outcome in patients with non-metastatic Ewing family of tumors. *J. Clin. Oncol.*, vol. 21, pp. 3836–3843.
35. Fuchs B., Inwards C.Y., Janknecht R. (2004) Vascular endothelial growth factor expression is up-regulated by EWS-ETS oncoproteins and Sp1 and may represent an independent predictor of survival in Ewing's sarcoma. *Clin. Cancer Res.*, vol. 10, pp. 1344–1353.
36. Kreuter M., Paulussen M., Boeckeler J., Gerss J., Buerger H., Liebscher C. (2006). Clinical significance of vascular endothelial growth factor A expression in Ewing's sarcoma. *Eur. J. Cancer*, vol. 42, pp. 1904–1911.
37. Yabe H., Tsukahara T., Kawaguchi S., Wada T., Sato N., Morioka H. (2008) Overexpression of papillomavirus binding factor in Ewing's sarcoma family of tumors conferring poor prognosis. *Oncol. Rep.*, vol. 19, pp. 129–134.
38. Luo W., Gangwal K., Sankar S., Boucher K.M., Thomas D., Lessnick S.L. (2009) GSTM4 is a microsatellite-containing EWS/FLI target involved in Ewing's sarcoma oncogenesis and therapeutic resistance. *Oncogene*, vol. 28, pp. 4126–4132.
39. Berghuis D., Santos S.J., Baelde H.J., Taminiau A.H., Egeler R.M., Schilham M.W. (2011) Proinflammatory chemokine-chemokine receptor interactions within the Ewing sarcoma microenvironment determine CD8(C) T-lymphocyte infiltration and affect tumour progression. *J. Pathol.*, vol. 223, pp. 347–357.
40. Fujiwara T., Fukushi J., Yamamoto S., Matsumoto Y., Setsu N., Oda Y. (2011) Macrophage infiltration predicts a poor prognosis for human Ewing sarcoma. *Am. J. Pathol.*, vol. 179, pp. 1157–1170.
41. Ho A.L., Schwartz G.K. (2011) Targeting of insulin-like growth factor type1 receptor in Ewing sarcoma: unfulfilled promise or a promising beginning? *J. Clin. Oncol.*, vol. 29, pp. 4581–4583.
42. Garnett M.J., Edelman E.J., Heidorn S.J., Greenman C.D., Dastur A., Lau K.W. (2012) Systematic identification of genomic markers of drug sensitivity in cancer cells. *Nature*, vol. 483, pp. 570–575.
43. Wang X., Weaver D.T. (2011) The ups and downs of DNA repair biomarkers for PARP

- inhibitor therapies. *Am. J. Cancer Res.*, vol. 1, pp. 301–327.
44. Ji J., Kinders R.J., Zhang Y., Rubinstein L., Kummar S., Parchment R.E. (2011) Modeling pharmacodynamic response to the poly(ADP-Ribose) polymerase inhibitor ABT-888 in human peripheral blood mononuclear cells. *PLoS ONE*, vol. 6: e26152.
45. Anderson P., Kopp L., Anderson N., Cornelius K., Herzog C., Hughes D. (2008) Novel bone cancer drugs: investigational agents and control paradigms for primary bone sarcomas (Ewing's sarcoma and osteosarcoma). *Expert Opin Investig Drugs*, vol. 17, pp. 1703–1715.
46. Ordonez J.L., Osuna D., Herrero D., De A'lava E., J. Madoz-G. (2009) Advances in Ewing's sarcoma research: where are we now and what lies ahead? *Cancer Research*, vol. 69, pp. 7140–7150.
47. Subbiah V., Anderson P., Lazar A.J., Burdett E., Raymond K., Ludwig J.A. (2009) Ewing's sarcoma: standard and experimental treatment options. *Current Treatment Options in Oncology*, vol. 10, pp. 126–140.
48. Padhye B., McCowage G. (2010) Chemotherapy regimens in newly diagnosed and recurrent ewing sarcoma in children and young adults. *Cancer Forum*, vol. 34, p. 3.

Поступила / Received: 14.03.2016

Контакты / Contacts: leonslight@mail.ru