

## Оглядові статті

УДК. 616.831—006:484:616—006

### Молекулярные механизмы онкогенеза глиом головного мозга

Зозуля Ю.А., Сенько Л.Н.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова АМН Украины, г. Киев, Украина

**Ключевые слова:** опухоли мозга, глиомы, молекулярные мишени, апоптоз.

Быстро возрастающие успехи в молекулярной биологии, генетике и биохимии продолжают увеличивать список новых клеточных мишеней для действия агентов противоопухолевой терапии. Целью представленного обзора было проанализировать и обобщить в ограниченных рамках статьи эффективные новые селективные молекулярные структуры для химиотерапии злокачественных опухолей мозга, особенно внутримозговых глиом, на основании новых знаний молекулярной биологии опухолей, а также определить пути повышения эффективности существующих специфических активных агентов. Такие исследования формируют основу для развития новой стратегии лечения глиом и создания лекарств, которые в недалеком будущем войдут в комплексное лечение пациентов с глиальными опухолями.

Известно, что тканевый гомеостаз в многоклеточном организме регулируется путем взаимодействия между его различными клетками, в каждой из которых заложена определенная генетическая программа, обуславливающая ее естественную гибель (апоптоз) под влиянием различных стимулов. Полагают [22, 33], что именно апоптоз является одной из своеобразных альтернатив пролиферации клеток и, следовательно, может противодействовать онкогенезу. Таким образом, рост опухоли может быть обусловлен нарушением баланса между пролиферацией клеток и их программированной гибелью, причем оба эти процесса регулируются цитокинами [5].

ОНКОГЕНЕЗ представляет собой длительный и многостадийный процесс, состоящий из совокупности событий, которые в экспериментальных моделях разделяют на стадии *инициации, промоции и прогрессии*. Хотя концепция многостадийности онкогенеза была разработана исходя из результатов опытов с использованием лабораторных животных, считается, что у чело-

века опухолевый процесс развивается подобным образом [49]. Согласно существующим представлениям, неопластическое перерождение ткани может происходить в результате генетических изменений в одной клетке [23], которая в результате митотического деления дает начало клону клеток, имеющих трансформированный фенотип. Эти клетки претерпевают множественные изменения, прежде чем стать опухолевыми, и каждая из стадий онкогенеза характеризуется определенными фенотипическими, генотипическими и биохимическими особенностями.

*Инициация* онкогенеза — это процесс, в ходе которого химические, физические и биологические агенты изменяют определенные элементы генома клетки-мишени. Для того чтобы изменения, произошедшие во время инициации онкогенеза, закрепились, необходимо, чтобы осуществилась репликация ДНК клетки [31]. Мутации определенных генов приводят к изменению функций кодируемых ими белков, что в свою очередь может изменить свойства клеток, содержащих мутации. Структурные изменения генетического материала во время инициации опухолевого процесса в первую очередь затрагивают гены, ответственные за основные жизненно важные функции клеток. Для возникновения рака недостаточно единичной мутации, а необходимы изменения в нескольких (не менее двух) генах, один из которых обеспечивает иммортализацию (бессмертие) клеток, а другой — развитие злокачественного фенотипа. Активация протоонкогенов и инактивация генов-супрессоров опухолевого роста вызывает специфические изменения в характере пролиферации, дифференцировке и апоптозе иницированных клеток, а резистентность к апоптозу у таких клеток способствует их повышенной выживаемости [6].

*Промоция* онкогенеза — это стадия, которая характеризуется увеличением популяции иници-

ированных клеток и дальнейшими изменениями в их геноме под влиянием промоторов канцерогенеза, причем последние могут быть как генотоксическими канцерогенами, так и эндогенными факторами (например, стимуляция гормонами). Так формируется и увеличивается популяция клеток с геномными повреждениями, предшествующими их злокачественному перерождению. При этом возрастает вероятность вторичной мутации в какой-нибудь из клеток в этой популяции, поскольку делящиеся клетки более чувствительны к действию мутагенов [7]. Главная особенность стадии промоции — ее обратимость и наличие концентрационного порога в действии промоторов [6].

**Прогрессия** онкогенеза — это активная стадия опухолевого процесса, когда пролиферация клона трансформированных клеток приводит к образованию опухоли. Характерные признаки: усиление скорости роста клеток на фоне снижения дифференцировочного потенциала этих клеток, проявление инвазивных свойств и способности к метастазированию, нестабильность генома и хромосомные абберации (изменение числа наборов хромосом или числа отдельных хромосом, перестройки хромосом). Фенотипически измененные опухолевые клетки с повышенной способностью к пролиферации и полной дифференцировке и/или апоптозной гибели обладают преимуществами перед нормальными клетками для роста и выживаемости в одинаковых условиях. Для стадии прогрессии характерны глубинные нарушения уже между опухолью и организмом.

По мере углубления представлений о процессах онкогенеза становится ясно, что не существует какого-либо одного гена или цитокина (члена суперсемейства биорегуляторов пролиферации и дифференцировки клеток в тканях и органах), ответственного за трансформацию нормальной клетки в злокачественную. В сложный и многоступенчатый процесс непластической трансформации вовлекаются множественные механизмы, включающие нарушение экспрессии нескольких клеточных генов, аномальную продукцию цитокинов, гиперэкспрессию их рецепторов, искажение в передаче регуляторных сигналов от специфических рецепторов плазматической мембраны к ядру клетки и ряд других [5]. Необходимо несколько повреждений, чтобы нарушить множественные независимые механизмы, регулирующие рост и дифференцировку клетки и индуцировать процесс опухолевой трансформации, поскольку в нормальной клетке имеются множествен-

ные независимые механизмы, регулирующие ее рост и дифференцировку.

В последние два десятилетия выявлено значительное число генов, участвующих в злокачественной трансформации клеток и опухолевой прогрессии. Среди них протоонкогены, гены-супрессоры опухолевого роста и гены, обеспечивающие стабилизацию структуры ДНК. Все эти изменения связаны как с генно-регуляторными механизмами клетки, ассоциированными с репарацией генома, так и с генно-структурными механизмами с нерепарируемыми нарушениями структуры генома.

Поиск новых онкогенов, антионкогенов, а также опухолеспецифических маркеров необходим для лучшего понимания молекулярных механизмов инициации, промоции и прогрессии опухолевого роста. Выявленные с помощью классических методов немногим более 100 онкогенов и 10 супрессорных генов представляют собой незначительную долю генов, участвующих в возникновении и развитии различных типов опухолей человека. Индивидуальные гены могут иметь как измененную структуру в геномной ДНК, так и/или измененную экспрессию, причем, онкогенной может быть как пониженная, так и повышенная экспрессия опухоляссоциированных генов. Примером может быть пониженная экспрессия p107, и суперэкспрессия гена рецептора эпидермального фактора роста (РЭФР) и гена рецептора эстрогена, приводящая к изменению путей трансдукции сигнала и экспрессии модулируемых ими генов [10].

Очевидно, в опухолевых клетках намного больше генов с измененной экспрессией, чем генов с измененной структурой. Все опухолеспецифические гены проявляются по их измененной экспрессии, приводящей в итоге к опухолевому фенотипу клеток. В связи с этим в последние годы получила развитие экспрессионная генетика, использующая различные методические приемы для скрининга дифференциальной экспрессии выделенных mРНК генов в опухолевых клетках относительно их нормальных аналогов [1, 2, 51]. Так было выявлено несколько новых супрессорных генов опухолей головного мозга, в частности потенциальные супрессоры глиальных опухолей головного мозга человека — белок C4-2 [54] и супрессорный ген RIG, который не экспрессируется в первичной глиобластоме или культивируемых клетках глиомы в отличие от клеток нормального мозга [39] и новые маркеры опухолевого роста в разных типах опухолей, в том числе

— в глиальных опухолях головного мозга человека [1, 2, 55, 56].

Нарушение функций ключевых генов, белковые продукты которых в нормальных клетках, выступая чаще всего факторами роста, рецепторами факторов роста, транскрипционными факторами, участвуют в контроле клеточного цикла, трансдукции сигналов, ангиогенезе и ряде других процессов, вызывают нарушение координации широкого спектра регуляторных процессов в метаболизме клеток и могут индуцировать процессы опухолевой трансдукции. Причем одни гены мутированы в опухолевых клетках, в то время как другие со сходной функцией — нет, но нарушение функций последних в различных регуляторных каскадах связано с измененным уровнем трансдукции в опухолевых клетках. Предполагается [1, 2], что немутированные аллели могут быть использованы для создания систем молекулярного тестирования кандидатов терапевтических агентов для возврата к норме их измененной экспрессии и, как следствия, для супрессии опухолевого процесса.

Изменение структуры и функции как уже известных онкогенов и генов-супрессоров, так и вновь выявленных или гиперэкспрессированных генов в опухолях головного мозга [3, 17, 19, 40, 44, 45, 54—57] связаны с ключевыми биохимическими событиями в жизни клеток, которые регулируют и определяют дальнейшую судьбу и пути гибели клеток. Пока еще сложно свести в рамках небольшой статьи в единую систему отдельные звенья молекулярных механизмов пролиферации клеток, апоптоза и ангиогенеза ввиду разнообразия факторов, влияющих на эти процессы, однако переплетающиеся механизмы регулирования пролиферации, ангиогенеза и апоптоза считаются плодотворной предпосылкой на пути создания противоопухолевых средств нового типа, поскольку центральными механизмами в выживании и пролиферации опухолевых клеток являются потеря контроля над пролиферацией, активация ангиогенеза и развитие устойчивости к апоптозу.

Потеря контроля клетки над генетической стабильностью играет главную роль в развитии злокачественных новообразований. Измененный механизм регуляции клеточного цикла позволяет соматической клетке преодолеть физиологическую дифференцировку и старение, а затем развиваются дальнейшие генетические нарушения и клетки приобретают инвазивный и злокачественный фенотип [16].

Получены многочисленные данные, указывающие на то, что продукты генов p53, Rb, транскрипционных факторов семейства E2F являются ключевыми для биохимических событий, контролирующими стабильность генома. Обнаружено, что в ответ на повреждение структуры ДНК и другие стрессовые для клетки воздействия быстро повышается продукция p53, что может вызывать либо остановку клеточного цикла, либо апоптоз [32, 38], а неспособность белка гена p53 дикого типа транслоцироваться в ядро клетки препятствует функционированию гена в качестве супрессора [44]. Вероятно, именно эта роль белка p53 в качестве «охранника генома» может объяснить то обстоятельство, что ген p53 наиболее часто изменен в опухолях человека [24]. Мутации этого гена наиболее ранние генетические аномалии в опухолях мозга и в процессе злокачественной трансформации астроцитом (глиобластом) и имеют место в 40—60% астроцитарных глиом [40, 60]. Экспериментально доказано, что мутации или потеря гена p53 способствуют генетической нестабильности, росту и злокачественной трансформации астроцитов [64]. Согласно многочисленным литературным данным мутации гена p53 способствуют формированию терапевтически резистентных форм опухолей, поскольку они препятствуют индуцированной гибели клеток путем апоптоза. Тем не менее, не всегда экспрессия мутантного гена p53 коррелирует с прогнозом в анапластических астроцитомах [14] и сроками выживаемости больных с глиобластомой [4]. Необходимо отметить, что несмотря на многочисленные доказательства роли белка p53 в апоптозе, выявлен ряд других генов, активация которых наблюдается во время p53-опосредованного апоптоза. Кроме того, пока еще непонятно каким образом проапоптотическое действие белка p53 может реализоваться независимо от транскрипционной активности этого белка или почему в одних случаях p53 вызывает апоптоз, тогда как в других происходит только остановка клеточного цикла.

Известно, что при прохождении клетки по циклу в нескольких критических временных точках после проверки правильности реализации генетической программы в ответ на действие как внутриклеточных, так и внеклеточных стимулов клетка может либо завершить митоз, либо остановить клеточный цикл для репарации повреждений, либо включить механизмы апоптоза. Процесс клеточного деления происходит в результате циклической и регулируемой во времени активации специ-

фических ферментов, которые фосфорилируют (и таким образом регулируют) белки, необходимые для прохождения митоза. Эти ферменты, называемые циклинзависимыми киназами (CDK), активируются при связывании с белковым кофактором — циклином, что способствует продвижению клеток по фазам цикла, и ингибируются специфическими белками (CDK-ингибиторами или CDI), что препятствует реализации клеточного цикла. Накопилось много сведений о том, что гены, которые контролируют клеточный цикл в норме, в опухолях человека изменены. Кроме хорошо известных генов-супрессоров опухолей p53 и Rb (ретинобластомы), это ген CDK (CDK 4), ген циклина (CCND 1) и ген CDI (p16INK4A), специфически подавляющий активность двух киназ cdk4 и cdk6 [16]. Белки, кодируемые этими генами, являются маркерами прогрессии клеточного цикла и их экспрессия анализируется при изучении измененного клеточного цикла в опухолях и при изучении лекарственной устойчивости. Анализ экспрессии гена p16INK4A в различных типах нормальных и опухолевых клеток показывает, что его усиленная экспрессия приводит к повышению фосфорилирования белка ретинобластомы и остановке пролиферации клеток, а инактивация вызывает неопластический рост. Поэтому мутации и перестройки вышеуказанного гена могут стать причиной развития ряда опухолей — в первую очередь глиом, меланом, лейкозов, карцином [57].

В девяти линиях малигнизированных клеток астроцитомы человека выявлено, что повышение пролиферации этих клеток связано с усиленной экспрессией циклинов, CDK и пониженной экспрессией CDKI [17]. В глиомах обнаружен и достаточно высокий процент (70%) гомозиготных делеций p16 с геном MTAР (5'-дезоксис-5'-метилтиоаденозинфосфорилазы [46]. Предполагается существование общих путей действия генов-супрессоров на рост клеток и апоптоз [48].

Показано, что глюкокортикоидные гормоны, индуцирующие апоптоз, после связывания с соответствующими специфическими рецепторами клеток-мишеней действуют на уровне регуляции экспрессии генов, продукты которых ответственны не только за пролиферацию, но и за апоптоз. Этими продуктами являются с-Мус, циклин D<sub>3</sub> и одна из его каталитических субъединиц - cdk 4, а также белки pRb и E2F [35].

Теломераза — клеточный фермент, обеспечивающий восстановление длины теломерного участка хромосомной ДНК, в большинстве кле-

ток нормальных тканей отсутствует. В клетках злокачественных опухолей ген теломеразы активен. Однако несмотря на то что экспрессия теломеразы является одним из характерных маркеров злокачественности клеток, сама по себе она не служит причиной возникновения рака, поскольку клетки, трансформированные геном теломеразы, сохраняют нормальный фенотип. Поэтому ингибиторы теломеразы предполагается использовать для ограничения числа циклов деления опухолевых клеток [9]. Показано, что клетки глиобластомы после обработки антисмысловыми олигонуклеотидами (АСОН), мишенью которых служит мРНК теломеразы, приобретают чувствительность к действию цисплатина, который индуцирует апоптоз [37].

При изучении регуляторных механизмов роста и прогрессии глиом человека основной акцент делается на изучение модуляций основных факторов роста и экспрессии их рецепторов, особенно при прогрессии астроцитом в глиобластомы. К настоящему времени уже существует более полное понимание механизмов действия рецепторов многих факторов роста и контролируемых ими разнообразных сигнальных механизмов, связанных с генетическими ошибками сигнальных белков, что вызывает неконтролируемую пролиферацию клеток.

Большинство пептидных факторов роста проявляют митогенные свойства и могут служить факторами выживания трансформированных клеток. Однако эти пептиды выполняют и ряд других функций. Например, контролируют подвижность и инвазивность трансформированных клеток, ангиогенез и фенотип. Различные факторы роста, включая эпидермальный фактор роста (ЭФР), основной фактор роста фибробластов (ФРФ), трансформирующий фактор роста - альфа (ТФР-альфа) и фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС), описаны для глиальных опухолей человека. Эти факторы участвуют в контроле различных механизмов диффузной инфильтрационной инвазии, неоваскуляризации и пролиферации глиальных опухолей и могут действовать в аутокринных и/или паракринных метаболических петлях, определяя туморогенез астроцитарных опухолей [21, 27, 29].

Одним из наиболее изученных цитокинов является ЭФР. Обнаружено целое семейство эпидермальных факторов роста и их рецепторов, которые играют важную роль в регуляции жизнедеятельности нормальных и опухолевых клеток. Среди опухолей астроцитарного ряда экспрессия

рецептора эпидермального фактора роста (РЭФР) является доминантной в наиболее злокачественных глиомах человека — глиобластомах. В доброкачественных и анапластических астроцитомах она встречается редко. Обнаружено несколько белков в значительной мере гомологичных по структуре РЭФР (или Erb B1) — Erb B2, Erb B3 и Erb B4, причем, ген *c-erb B2* (или *neu*) впервые был выявлен в геноме клеток глиобластомы, индуцированной у крыс этилнитрозомочевинной [53], а затем уже обнаружен и в геноме человека [34].

РЭФР — это трансмембранный клеточный рецептор, синтез которого кодируется геном *c-erb B1*. Установлено, что в ряде опухолей человека в результате амплификации этого гена многократно возрастает синтез вышеупомянутого рецепторного белка. РЭФР состоит из трех основных функционально различных доменов: лигандсвязывающего, трансмембранного и цитоплазматического, обладающего эндогенной протеинкиназной активностью и катализирующего фосфорилирование белков плазматической мембраны, включая и сам рецептор, и белков цитозоля, в основном по остаткам тирозина. Последнему домену отводится важная роль в передаче регуляторного сигнала внутри клеток-мишеней [61]. При амплификации гена *c-erb B1* клетка становится более восприимчивой к воздействию ростовых факторов и реагирует на ростстимулирующие субстанции, которые продуцируются интрацеллюлярно. Такой механизм клеточной саморегуляции, известный как аутокринная петля регуляторного роста, выводит процесс роста опухолевых клеток из под влияния контролирующих систем организма и многими исследователями он рассматривается в качестве промотора канцерогенеза в солидных опухолях человека различной локализации и гистогенеза. В одной клетке-мишени может одновременно активироваться несколько аутокринных петель, гетерогенных по составу лигандов и их рецепторов [5]. ЭФР-подобные цитокины могут стимулировать пролиферацию трансформированных клеток также с помощью паракринного механизма, например, в случае их синтеза нормальными клетками, соседствующими с опухолевым очагом. Учитывая то, что предшественники цитокинов семейства ЭФР локализованы в плазматической мембране клеток, следует иметь в виду и их способность стимулировать пролиферацию сопредельных клеток по юкстакринному механизму, т.е. когда сигнальная молекула фактора роста, обладая физиологической активностью еще находясь в составе плаз-

матической мембраны, может взаимодействовать с клеткой-мишенью [5, 42].

На основании анализа данных литературы последних лет предполагается, что опухолевые клетки, продуцируя ЭФР-подобные цитокины, направленные на ингибирование апоптоза, способствуют развитию устойчивости к запрограммированной гибели клеток и увеличению восприимчивости к влиянию ростовых факторов, т.е. феномен аутокринной регуляторной петли формирует терапевтически резистентные формы опухолей, к которым относятся глиобластомы с экспрессированным РЭФР. Комбинированное лечение этих новообразований мозга с использованием традиционной адьювантной терапии лишь ненадолго продлевает послеоперационную выживаемость [52].

В злокачественных глиомах изменена экспрессия двух изоформ рецептора ФРФ, а именно, экспрессирована I изоформа РФРФ и ингибирована II изоформа этого рецептора в сравнении с нормальными клетками мозга. Идентификация этих белков в клетках глиомы предполагает, что связывание этих белков с доменом рецептора, локализованного на внешней стороне мембраны, может способствовать активации внутриклеточной тирозинкиназы и фосфорилированию тирозина [45]. Таким образом, это еще один механизм аутокринного пути стимуляции роста и инвазии глиом эндогенными агентами, который нужно учитывать при подборе лекарств для ингибирования активности киназ. Так [43], антипролиферативная активность 5'-метилтиоаденозина (МТА) коррелирует с ингибированием фосфорилирования тирозинкиназы, стимулируемой ФРФ-бета. Не исключено, что указанный ингибитор может тормозить транслокацию фактора к ядру, задерживая таким образом синтез ДНК и рост глиомы человека.

Сосудистая патология является ключевой в прогрессии глиобластом, которая обычно характеризуется повышенной проницаемостью сосудов для компонентов плазмы крови и гиперкоагуляцией [29]. К цитокинам, обладающим выраженным ангиогенным действием, относят ФРЭС, основной и кислый ФРФ, инсулиноподобный фактор роста I, фактор роста гепатоцитов, ангиопоэтин, плацентарный фактор роста (ПФР), связываемый гепарином ЭФР, ТФР-бета [27]. Предполагается, что если рецептор ЭФР входит в аутокринную петлю регуляторного роста в глиомах, то ФРЭС — доминантный ангиогенный фактор роста, секретируемый клетками глиомы. Фактор

роста эндотелия сосудов/фактор проницаемости сосудов (ФРЭС/ФПС) — специфический митоген эндотелия, который структурно относится к факторам роста тромбоцитов (ФРТ). Этот белковый фактор обнаружен не только в линиях клеток глиом человека, но и в тканях глиобластомы человека. Он обладает как цитоплазматической, так и мембранной локализацией. Секреция ФРЭС стимулируется в результате конвергенции активированных сигнальных путей ЭФР, ФРТ-ВВ, или основного ФРФ. Терапевтическая стратегия должна учитывать роль ФРЭС/ФПС в усилении васкуляризации глиом [59]. Следует отметить, что такие факторы роста как ЭФР, ФРТ, ФРФ и ТФР, участвуя в аутокринных и/или паракринных механизмах туморогенеза астроцитарных опухолей, определяют потенциал малигнизации внутримозговых опухолей мозга, в то время как ФРЭС, опосредуя эффекты сосудистой патологии, сам не способствует росту опухоли, а отражает взаимосвязь неоваскуляризации и прогрессии глиобластом [29]. Поэтому количественное определение ФРЭС обычно используют для определения активизации ангиогенеза в опухолях, проводя мониторинг при лечении антиангиогенными средствами [58].

Существует множество данных о том, что опухолевый рост зависит от ангиогенеза, который играет ключевую роль в прогрессии опухоли, а неоваскуляризация необходима для реализации механизмов инвазивирования и метастазирования [18]. В опухолях головного мозга ангиогенная активность реализуется путем экспрессии ряда факторов, среди которых доминантным является ФРЭС/ФПС [29, 59]. При этом выяснилось, что первичные опухоли обладают специфическими регуляторами/ингибиторами ангиогенеза, такими, например, как ангиостатин (фрагмент плазминогена), эндостатин (фрагмент коллагена XVIII) [36, 47]. Высокий инвазивный потенциал глиомных клеток и сопровождающая его активная неоваскуляризация опухоли позволяют предполагать о взаимосвязи этих процессов, что служит основанием для поиска и разработки антиангиогенных и противоинвазивных средств для лечения злокачественных опухолей мозга.

Изменения внеклеточного матрикса и базальной мембраны в настоящее время рассматривается в качестве важнейших звеньев инвазии опухолевых клеток, в том числе глиомных. Инвазивный потенциал опухолевой клетки определяется ее способностью активно мигрировать и вызывать частичную деградацию соединительной ткани. Миграция клеток осуществляется за счет их

динамического взаимодействия друг с другом и с внеклеточным матриксом. Трансмембранные белки интегрины связывают внеклеточный матрикс с цитоскелетом путем образования специфических белковых комплексов. Лигандами интегринов служат белки внеклеточного матрикса (ламелин, фибронектин), а цитоплазматические участки интегринов соединены с актиновыми филаментами цитоскелета с помощью таких белков, как талин, тензин, актинин-альфа. Таким образом, интегрины опосредуют двунаправленную передачу регуляторных сигналов из клетки в клетку [12].

С цитоплазматическими доменами интегринов может взаимодействовать протеинкиназа ИЛК (integrin-linked kinase), активность которой стимулируется после прикрепления клеток к внеклеточному матриксу [63]. Показано, что во всех клетках медуллобластомы ИЛК экспрессирована. Это предполагает использование антител против этой протеинкиназы для специфической идентификации опухолей нейроэктодермального происхождения [11].

Другой класс трансмембранных белков, участвующих в образовании контактов между цитоскелетными структурами клеток — кадгерины. Они связываются с микрофиламентами, микротрубочками и промежуточными филаментами с помощью специальных адапторных белков. При снижении экспрессии кадгеринов значительно ослабляется межклеточная адгезия и адгезия к белкам внутриклеточного матрикса, что определяет способность опухолевых клеток к инвазии. Некоторые авторы [41] рассматривают восстановление нормального функционирования кадгериновых комплексов в качестве главной задачи противоинвазивной терапии онкологических больных.

Способность опухолевых клеток при инвазии в окружающие ткани вызывать частичную деградацию соединительнотканых структур реализуется за счет активности ряда протеиназ: цистеиновых, сериновых, аспарагиновых и металлопротеиназ. Последние относятся к семейству, включающему следующие эндопептидазы: коллагеназу, желатиназу и стромилизину [13]. При различных злокачественных опухолях повышенный уровень матриксных металлопротеиназ обычно связывают с плохим прогнозом. Активность протеиназ регулируется специфическими эндогенными ингибиторами, например, тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМР) или ингибиторами активатора плазминогена (РАИ).

При инвазии и миграции опухолевых клеток отмечено координированное действие интегринов не только с металлопротеиназами, но и с активатором плазминогена урокиназного типа (URA), который является сериновой протеиназой. Сообщено [20] об эффективности лечебного действия при злокачественной глиоме антисмысловых олигонуклеотидов к урокиназе. Ряд новых синтетических ингибиторов TIMP, проявляющих антиопухолевую активность, и исследование механизмов регуляции протеолиза внеклеточного матрикса могут открывать новые мишени для противоопухолевых средств. Кроме того, следует принять во внимание, что различные TIMP способны ингибировать ангиогенез [15].

В последнее время сделано немало важных открытий, касающихся молекулярных основ функционирования эндотелия сосудов, который рассматривается как очень важная система регуляции сосудистого тонуса, свертывания и функционального состояния циркулирующих в ней клеток, включая фагоциты и иммунокомпетентные элементы. Оксид азота (NO) — сигнальная молекула, которая модулирует такие сосудистые функции, как вазодилатацию, проницаемость, адгезию тромбоцитов и др. [25, 26, 30, 65]. В солидных опухолях, сопровождающихся усиленным ростом микрососудов, плотность которых коррелирует с прогрессией опухолей, выявлена высокая экспрессия NO-синтазы (NOS) — фермента, катализирующего биосинтез NO [28]. Высокая активность всех трех изоформ NOS обнаружены в опухолях головного мозга глиальной природы [8, 62]. Прогрессия этих опухолей ассоциирована как со степенью анаплазии, так и с ангиогенезом и повышенной проницаемостью сосудов опухоли, что свидетельствует в пользу гипотезы о прямом участии гиперпродукции NO в васкуляризации опухолей мозга. Поэтому не исключено, что фармакологическое ингибирование гиперпродукции NO для подавления роста опухолей может затрагивать и механизмы, связанные с неоангиогенезом. Высокая экспрессия NOS у пациентов со злокачественными глиомами открывает новые мишени для перспективного воздействия с целью ингибирования прогрессии глиом.

Можно предполагать, что современные знания молекулярных механизмов роста новообразований головного мозга уже в ближайшем будущем будут шире использоваться как при разработках новых препаратов, так и в комбинации с традиционно используемыми лекарствами при комплексном лечении. Продолжение обсуждае-

мой проблемы в следующем обзоре «Перспективы разработки новых способов молекулярной диагностики и лечения глиом».

### Список литературы

1. *Дмитренко В.В.* Идентификация новых опухолеспецифических молекулярных маркеров методами экспрессионной генетики // Эксперим. онкология. — 1999. — 21. — С.97—103.
2. *Зміни експресії генів в астроцитних пухлинах головного мозку людини* / Дмитренко В.В., Шостак К.О., Гарифулін О.М., Зозуля Ю.П., Кавсан В.М. // Эксперим. онкология. — 1998. — 20. — С.191—7.
3. *Зозуля Ю.А., Гридина Н.Я.* Молекулярная генетика глиом и перспективы молекулярной нейробиологии // Вопр. нейрохирургии. — 1998. — 4. — С.45—51.
4. *Прогностическое значение онкоассоциированных белков и апоптоза в глиобластомах больших полушарий головного мозга* / Коршунов А.Т., Галанов А.В., Сычева Р.В., Пронин И.Н. // Вопр. нейрохирургии. — 1999. — 1. — С.3—7.
5. *Фильченков А.А.* Цитокины суперсемейства ЭФР и онкогенез. Эксперим. онкология. — 1998. — 20(2). — С.83—108.
6. *Фильченков А.А., Стойка Р.С.* Апоптоз и рак / Под ред. АИ Быкореза. — К.: Морион, 1999. — С.182.
7. *Ames B.N., Gold L.S.* Chemical carcinogenesis: too many rodent carcinogenes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1990. — 87. — P. 7772—7776.
8. *Bakshi A., Nag T.C., Wadhwa S. et al.* The expression of nitric oxide synthase in human brain tumours and peritumoral areas // J. Neurol. Sci. — 1998. — 155. — P.196—203.
9. *Bodnar A.G., Ouellette M., Frolkis M. et al.* Extension of life span by introduction of telomerase into normal human cells // Science. — 1998. — 279. — P.349—352.
10. *Castro G.C., Ravina M., Castro V., Salido E.C.* Expression of epidermal growth factor receptor (protooncogene c-erb B-1) and estrogen receptor in human breast carcinoma. An immunocytochemical study of 70 cases // Arch. Gynecol. Obstet. — 1993. — 252. — С.169—177.
11. *Chung D.H., Lee J.I., Kook M.C. et al.* ILK (beta-1-integrin-linked protein kinase): a novel immunohistochemical marker for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumour // Virchows Arch. — 1998. — 443. — P.113—117.

12. Clark E.A., Brugge J.S. Integrins and signal transduction pathways the road taken // *Science*.— 1995.— 268.— P.233—9.
13. Cockett M.J., Murphy G., Birch M.L. et al. Matrix metalloproteinases and metastatic cancer // *Biochem. Soc. Symp.*— 1998.— 63.— P.295—313.
14. Danks R.A., Chopra G., Gonzales M.F. et al. Aberrant p53 expression does not correlate with the prognosis in anaplastic astrocytoma // *Neurosurgery*.— 1995.— 37.— P.246—54.
15. De Clerck Y.A., Shimada H., Taylor S.M., Langley K.E. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumor progression // *Ann. NY Acad. Sci.*— 1994.— 732.— P.222—32.
16. Della Ragione F., Borriello A., Giordani J., Iolascon A. Cell division cycle alteration in human malignancies // *Cancer J.*— 1997.— 10.— P.151—156.
17. Dirks P.B., Hubbard S.L., Murakami K., Rutka J.T. Cyclin and cyclin-dependent kinase expression in human astrocytoma cells lines // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*— 1997.— 56.— P.291—300.
18. Dvorak H.F., Brown L.F., Detmar M., Dvorak A.M. Vascular permeability factor/vascular hyperpermeability, and angiogenesis // *Am. J. Pathol.*— 1995.— 146.— P.1029—39.
19. El-Obeid A., Bongcam-Rudloff E., Sorby M. Cell scattering and migration induced by autocrine transforming growth factor alpha in human glioma cell in vitro // *Cancer Res.*— 1997.— 57.— P.5598—604.
20. Engelhard H., Narang C., Homer R., Duncan H. Urokinase antisense oligodeoxynucleotides as a novel therapeutic agent for malignant glioma; In vitro and in vivo studies of uptake effects and toxicity // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*— 1996.— 227.— P.400—5.
21. Finn P.E., Bjerkvig R., Pilkington G.I. The role of growth factors in the malignant and invasive progression of intrinsic brain tumours // *Anticancer Res.*— 1997.— 17.— P.4163—72.
22. Green D.R., McGahon A., Martin S.M. Regulation apoptosis by oncogenes // *J. Cell. Biochem.*— 1996.— 60.— P.33—8.
23. Harvey P., Warn A., Dobbin S. et al. Expression of HGF/SF in mesothelioma cell lines and it's effects on cell motility, proliferation and morphology // *Brit. J. Cancer.*— 1998.— 77.— P.1052—9.
24. Hollstein M., Rice K., Greenblatt M.S. et al. Database of p53 gene somatic mutation in human tumors and cell lines // *Nucl. Acids. Res.*— 1994.— 22.— P.3551—5.
25. Iadecola C., Zhang F., Casey R. et al. Inducible nitric oxide synthase gene expression in vascular cell after transient focal cerebral ischemia // *Stroke*.— 1996.— 27.— P.1373—80.
26. Iadecola C. Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury // *Trends Neurosci.*— 1997.— 20.— P.132—9.
27. Isner J.M., Asahara T. Therapeutic angiogenesis // *Front Biosci.*— 1998.— 3.— P.49—69.
28. Jenkins D.C., Charles I.G., Thomsen L.L. et al. Role of nitric oxide in tumor growth // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1995.— 92.— P.4392—6.
29. Jensen R.L. Growth factor-mediated angiogenesis in the malignant progression of glial tumors: a review // *Surg. Neurol.*— 1998.— 49.— P.189—195.
30. Kajita Y., Takayasu M., Dietrich H.H., Dacey R.G. Possible Role of Nitric Oxide in Autoregulatory Response in Rat Intracerebral Arterioles // *Neurosurgery*.— 1998.— 42.— P.834—42.
31. Kakunaga T. The role of cell division in the malignant transformation of mouse cell treated with 3-methylcholantrene // *Cancer Res.*— 1975.— 35.— P.1637—42.
32. Kashtan M.B., Onyekwere O., Sidransky D. et al. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage // *Cancer Res.*— 1991.— 51.— P.6304—11.
33. Kerr F.R., Winterfold C.M., Harmon B.V. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy // *Cancer*.— 1994.— 73.— P.2013—26.
34. King G.R., Kraus M.H., Aaronson S.A. Amplification of novel v-erb B-related gene in a human mamary carcinoma // *Science*.— 1985.— 229.— P. 974—6.
35. King K.L., Cildowski J.A. Cell cycle and apoptosis // *Annu. Rev. Biochem.*— 1998.— 60.— P.601—17.
36. Kirsch M., Strasser J., Allende R. et al. Angiostatin suppresses malignant glioma growth in vivo // *Cancer Res.*— 1998.— 58.— P.4654—59.
37. Kondo V., Kondo S., Tanaka Y. et al. Inhibition of telomerase increases the susceptibility of human malignant glioblastoma cells to cisplatin-induced apoptosis // *Oncogene*.— 1998.— 1.— P.2243—8.
38. Levine A.J. P53, the cellular gatekeeper for growth and division // *Cell*.— 1997.— 88.— P.323—31.
39. Ligon A.H., Pershouse M.A., Jasser S.A. et al.



- Identification of a novel gene product RIG, that is down-regulated in human glioblastoma // *Oncogene*.— 1997.— 14.— P.1075—81.
40. *Maass J.D., Gottschlich S., Goerogh T., et al.* Head and neck cancer and p53-immunogenicity: 8<sup>th</sup> Hamburger Symp: Tumor Markers // *Anticancer Res.*— 1997.— 17.— P.2873—74.
41. *Mareel M., Berx G., Van Roy F., Bracke M.* Cadherin/catenin complex: a target for antiinvasive therapy? // *J. Cell. Biochem.*— 1996.— 61.— P.524—30.
42. *Massague J., Pandiella A.* Membrane-anchored growth factors // *Annu Rev. Biochem.*— 1993.— 62.— P.515—41.
43. *Miyaji K., Tani E., Nakano A., et al.* Inhibition by fibroblast by 5'-methylthioadenosine of cell growth and tyrosine kinase activity stimulated by fibroblast growth factor receptor in human gliomas // *J. Neurosurgery.*— 1995.— 83.— P.690—7.
44. *Moll U.M., La Quaglia M., Benard J., Riou G.* Wild-type p53 protein undergoes cytoplasmic sequestration in undifferentiated neuroblastomas but not in differentiated tumors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1995.— 92.— P. 4407—11.
45. *Morrison R.S., Yamaguchi F., Bruner J.* Fibroblast growth factor receptor gene expression and immunoreactivity are elevated in human glioblastoma multiforme // *Cancer Res.*— 1994.— 54.— P.2794—99.
46. *Nobori T., Takabayashi K., Tran Ph., Orvis L.* Genomic cloning of methylthioadenosine phosphorylase: A purine metabolic enzyme deficient in multiple different cancer // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1996.— 93.— P. 6203—8.
47. *O'Reily M.S., Boehm T., Shing Y.* Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth // *Cell.*— 1997.— 88.— P.227—85.
48. *Pietenpol J.A., Lengauer Ch.J., Kinzler K.W., Vogelstein B.* Mammalian cells resistant to tumor suppressor genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1996.— 93.— P.8390—94.
49. *Pitot H.C., Beer D., Hendrich S.* Multistage carcinogenesis: the phenomenon underlying the theories / *Estabrook RW, Lindenlaub EL, eds. Theories of Carcinogenesis.*— Washington: Hemisphere Publ., 1987.— P.159—91.
50. *Phylchenkov A., Kudryavets Yu.* Transforming growth factor-alpha and lymphoid malignancies: a possible pathological paracrine role // *Eur. Cytokine News.*— 1996.— 7.— P.592.
51. *Sager R.* Expression genetics in cancer: shifting to focus from DNA to RNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1997.— 94.— P.952—5.
52. *Salzman M., Scholtz H., Kaplan R.S., Kulik S.* Long-Term Survival in Patients with Malignant Astrocytoma // *Neurosurgery.*— 1994.— 34.— P.213—20.
53. *Schechter A.L., Stern D.F., Vaidyanathan L.* The neu oncogene: a erb-B-related gene encoding a 185,000-Mr tumor antigen // *Nature.*— 1984.— 312.— P.513—6.
54. *Sehgal A., Keener C., Boynton A.L. et al.* Characterization of C4-2 as a tumor-suppressor gene in human braon tumors // *J. Surg. Oncol.*— 1997.— 64.— P.102—8.
55. *Sehgal A., Boynton A.L., Young R.F. et al.* Cell adhesion molecule Nr-Cam in over-expressed in human brain tumors // *Int. J. Cancer.*— 1998.— 76.— P.451—8.
56. *Sehgal A., Boynton A.L., Young R.F. et al.* Applification of the differential hybridization of Atlas Human expression arrays technique in the identification of differentially expressed genes in human glioblastoma multiforme tumor tissue // *J. Surg. Oncol.*— 1998.— 67.— P.234—41.
57. *Shapiro G.I., Rollins B.J.* p16INR4A as a human tumor suppressor // *Biochem. et Biophys. acta Rev. Cancer.*— 1996.— 1242.— P.165—69.
58. *Toi M., Kondo Sh., Suzuki H. et al.* Quantitative analysis of vascular endothelial growth factor in primary breast cancer // *Cancer.*— 1996.— 77.— P.1101—6.
59. *Tsai J.C., Galdman C.K., Gillespie G.V.* Vascular endothelial growth factor in human glioma cell lines: Induced secretion by EGF, PDGF-BB and EFGF // *J. Neurosurgery.*— 1995.— 82.— P.864—73.
60. *Van Meir E.G., Roemer K., Diserens A.C. et al.* Single cell monitoring of growth arrest and morphological changes induced by transfer of wild-type p53 alleles to glioblastoma cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*— 1995.— 92.— P.1008—12.
61. *Van der Geer P., Hunter T., Lindberg R.A.* Receptor protein-tyrosine kinases and their signal transduction pathways // *Annu Rev. Cell. Biol.*— 1994.— 10.— P.251—337.
62. *Whittle J.R., Collins F., Kelly P.A. et al.* Nitric oxide synthase is expressed in experemental malignant glioma and influences tumor malignant glioma and influences tumour blood flow // *Acta Neurochir (Wien).*— 1996.— P.870—6.

63. *Wu C., Keightley S. Y., Loung-Hagesteijn C. et al.* Integrin-linked protein kinase regulates fibronectin matrix assembly, E-cadherin expression, and tumorigenicity // *J. Biol. Chem.*— 1998.— 273.— P.528—36.
64. *Yahanda A. M., Bruner J. M., Donehower L. A., Morrison R. S.* Astrocytes derived from p53 deficient mice provide a multistep in vitro model for development of malignant gliomas // *Mol. Cell. Biol.*— 1995.— 15.— P.4249—59.
65. *Zimmerman M., Seifert V.* Endothelial and Subarachnoid Hemorrhage: An overview // *Neurosurgery.*— 1998.— 43.— P.863—76.

### **Молекулярні механізми онкогенезу гліом головного мозку**

*Зозуля Ю.П., Сенько Л.М.*

Завдяки успіхам молекулярної біології, генетики та біохімії значно збільшується перелік нових клітинних мішеней для дії агентів протипухлинної терапії. Метою огляду було проаналізувати вже відомі молекулярні механізми онкогенезу гліом та нові молекулярні структури для ефектної дії як вже відомих, так і нових специфічних агентів хіміотерапії. Такі розробки створюють фундамент для розробок нової стратегії лікування гліом і створення нових лікувальних засобів.

### **Molecular Mechanisms of Oncogenesis Gliomas Brain**

*Zozulya Yu. A., Senko L. N.*

The increasingly rapid pace of discovery in molecular biology, biochemistry and genetics continues to produce many new targets for cancer therapy. The aim of the present review was to focus our attention on effective, selective molecular targets for new chemotherapy of malignant brain tumors, peculiarly intracerebral glioma, and to apply new molecular knowledge to enhance the effectiveness and specificity of existing active agents. Such finding form the basis for the development of drugs for the complex care of glioma patients.