

БЕЛКИ ТЕПЛОВОГО ШОКА В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ПРОГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Назаралиева Э. Т.¹, Федоров В. С.², Забродская Ю. М.¹, Ким А. В.³,
Джаналиев Б. Р.⁴, Шевцов М. А.^{2,3}, Самочерных К. А.¹

Контактная информация:

Назаралиева Элеонора Тууганбаевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: neleonora@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 28.11.2022
и принята к печати 11.01.2023.

¹ Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А. Л. Поленова — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии Российской академии наук», Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург, Россия

⁴ Кыргызская государственная медицинская академия имени И. К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызстан

Резюме

В настоящем обзоре представлены литературные данные об эпидемиологии злокачественных опухолей центральной нервной системы, определено значение молекулярной диагностики и экспрессии белков теплового шока в туморогенезе. Особое внимание уделяется описанию молекулярных шаперонов в качестве диагностических и прогностических маркеров, а также перспективам использования шаперонов в персонализированной терапии опухолей центральной нервной системы. Поиск литературы, как отечественной, так и зарубежной, опубликованной в период с 1988 по 2022 годы, осуществлялся на платформах баз данных Medline (через PubMed) и Scopus, Cochrane Library, The Lancet Public Health Journal. Поиск материала проводился по ключевым словам и терминам, включающим «белки теплового шока», «опухоли центральной нервной системы», «опухоли головного мозга», «молекулярная диагностика», «экспрессия молекулярных шаперонов», HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40, small HSPs.

Молекулярные шапероны из-за их важной роли в физиологических процессах в клетке высоко экспрессируются в опухолях головного мозга, а уровень экспрессии HSPs сильно коррелирует со степенью злокачественности, инвазивным потенциалом, а также устойчивостью к радиохимиотерапии. Для некоторых представителей HSPs (то есть HSP10, HSPB1, DNAJC10, HSPA7, HSP90) выявлена прямая корреляция между уровнем экспрессии белка (на основе анализа ИHC) и плохим общим прогнозом выживаемости для пациентов с глиальными опухолями. Это указывает на прогностические значения этих маркеров, которые в будущем могут быть включены в диагностическую панель при исследовании образца опухоли.

Ключевые слова: белки теплового шока, молекулярная диагностика, молекулярные шапероны, опухоли головного мозга, опухоли центральной нервной системы, терапия.

Для цитирования: Назаралиева Э.Т., Федоров В.С., Забродская Ю.М., Ким А.В., Джаналиев Б.Р., Шевцов М.А., Самочерных К.А. Белки теплового шока в качестве диагностических и прогностических маркеров при злокачественных опухолях центральной нервной системы. Трансляционная медицина. 2022;9(6):5-15. DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-5-15

HEAT SHOCK PROTEINS AS DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MARKERS IN MALIGNANT TUMORS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Eleonora T. Nazaralieva¹, Vyacheslav S. Fedorov²,
Yulia M. Zabrodskaya¹, Alexander V. Kim³, Bolot R. Djanaliev⁴,
Maxim A. Shevtsov^{2,3}, Konstantin A. Samochernych¹

Corresponding author:

Eleonora T. Nazaralieva,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: neleonora@yandex.ru

¹ Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery,
Saint Petersburg, Russia

² Institute of Cytology of the Russian Academy of Science,
Saint Petersburg, Russia

³ Almazov National Medical Research Centre, World-Class Research
Centre for Personalized Medicine, Saint Petersburg, Russia

⁴ I. K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, Bishkek, Kyrgyzstan

Received 28 November 2022; accepted
11 January 2023.

Abstract

This review overview current epidemiology data of malignant tumors of the central nervous system, and determines the significance of molecular diagnostics and expression of heat shock proteins in tumorigenesis. Particular attention is paid to the description of molecular chaperones as diagnostic and prognostic markers, as well as the prospects for chaperones using in personalized therapy the central nervous system tumors. The search for literature was carried out on the database platforms Medline (via PubMed) and Scopus, Cochrane Library, The Lancet Public Health Journal published between 1988 and 2022. The material was searched for keywords and terms, including “heat shock proteins”, “tumors of the central nervous system”, “brain tumors”, “molecular diagnostics”, “expression of molecular chaperones”, Hsp110, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40, small HSPs. Molecular chaperones, due to their important role in physiological processes in the cell, are highly expressed in brain tumors, and the expression level of HSPs strongly correlates with the degree of malignancy, invasive potential, and resistance to radiochemotherapy. For some HSPs (i.e. HSP10, HSPB1, DNAJC10, HSPA7, HSP90) a direct correlation has been found between the level of protein expression (based on IHC analysis) and a poor overall survival prognosis for patients with glial tumors. This indicates the prognostic value of these markers, which in the future may be included in the diagnostic panel when examining a tumor sample.

Key words: brain tumors, heat shock proteins, molecular chaperones, molecular diagnostics, therapy, tumors of the central nervous system.

For citation: Nazaralieva ET, Fedorov BC, Zabrodskaya YuM, Kim AV, Djanaliev BR, Shevtsov MA, Samochernych KA. Heat shock proteins as diagnostic and prognostic markers in malignant tumors of the central nervous system. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2022;9(6):5-15. (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-6-5-15

Список сокращений: АКТ — аберрантная активация, АТФ — аденозинтрифосфорная кислота, ИГХ — иммуногистохимическое исследование, МБ — медуллобластома, ОБ — общая выживаемость, ПТМ — посттрансляционная модификация, РНК — рибонуклеиновая кислота, ЦНС — центральная нервная система, АDR — адриамицин, HSP (heat shock proteins) — белок теплового шока, PI3K/AKT/mTOR — ферменты фосфоинозитид-3-киназа (PI3K), киназы АКТ и mTOR, TMZ — темозоломид, TTF — тиреоидный транскрипционный фактор.

Злокачественные опухоли головного мозга отличаются агрессивным течением, высоким уровнем смертности и низким качеством жизни пациентов. Как правило, лечение злокачественных опухолей головного мозга включает хирургическую резекцию с последующей лучевой терапией, химиотерапию темозоломидом (TMZ) и паллиативную помощь. Однако вероятность успеха этой схемы лечения остается низкой; выживаемость не превышает 15 месяцев (Stupp и др., 2009 г. [1]). Добавление к стандартной терапии электрических полей для лечения опухолей (TTF) привело к улучшению общей выживаемости (20,9 месяца) (Stupp и др. [1], JAMA, 2015 г. [2]). Одна из многообещающих стратегий лечения могла бы быть основана на применении таргетной терапии. Помимо широко используемых целей в сигнальных путях при глиобластоме (например, TP53, рецепторы тирозинкиназы, путь PI3K/AKT/mTOR и т. д.), белки теплового шока представляют собой особо значимый источник информации для разработки новых терапевтических подходов.

Белки теплового шока (англ.: heat shock proteins, HSPs) относятся к семейству высококонсервативных белков, которые участвуют в регуляции протеостаза у архей, прокариотических и эукариотических организмов [3]. Главная функция шаперонов состоит в восстановлении правильной нативной третичной или четвертичной структуры белков, а также в образовании и диссоциации белковых комплексов. Шапероны классифицируют в соответствии с их молекулярной массой: шесть подсемейств — HSP104, HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 — и малые шапероны (sHSP) — (20–27 кДа) HSP (HSPB) [4–7]. В клетке шапероны регулируют укладку полипептидных цепей и конформационные переходы в молекулах различных белков. Такая активность позволяет шаперонам контролировать биосинтез, созревание и деградацию белков, участвовать в транспорте белков через мембраны, сборке белковых олигомеров,

обеспечивать конформационно-зависимые функции различных ферментов, рецепторов, факторов транскрипции и т. д. [5, 8–10].

По характеру синтеза HSP подразделяются на конститутивные и индуцибельные. Конститутивные HSP синтезируются в клетке постоянно, и для их активации не требуется воздействия на клетку повреждающего фактора.

Все группы шаперонов способны различать нативные и неправильно собранные белки и формировать комплексы с белками, содержащими открытые гидрофобные участки. Часть шаперонов (holdases) способна лишь пассивно образовывать комплексы с неправильно собранными белками и удерживать их в таком положении, защищая тем самым от агрегации. Другая часть шаперонов (unfoldases) активно способствует диссоциации агрегата и рефолдингу белковой макромолекулы.

Особый интерес вызывает роль HSP и других молекулярных шаперонов в ходе клеточной передачи сигналов в онкогенезе. Так, HSP90 представляет собой молекулярный шаперон, играющий важную роль в поддержании функциональной стабильности и жизнеспособности клеток [11]. Стоит отметить, что при подавлении HSP90 под воздействием различных ингибиторов происходит активация транскрипционного фактора HSF-1, что, в свою очередь, способствует компенсаторному синтезу белков HSP70 и HSP40, а также других шаперонов, которые участвуют в дезагрегации и деградации протеинов [12]. Среди прочих функций HSP90 было показано, что шаперон также поддерживает функциональную стабильность нейрональных белков в астроцитах и глиальных клетках [13].

Шапероны семейства HSP70 высококонсервативны во всех организмах, от бактерий до человека, и характеризуются способностью поддерживать комплекс «белок-субстрат» посредством ван-дер-ваальсового притяжения между гидрофобными участками в полипептидной цепи субстрата. Шаперонная функция обеспечивается за счет гидролиза АТФ, в результате которой стабильная денатурированная форма «белка-субстрата» с низкой свободной энергией превращается в результате раскручивания полипептидной цепи (активность шаперона — unfoldase) в «открытый» конформер с высокой свободной энергией, который затем может спонтанно перейти в состояние нативного конформера с низкой свободной энергией [14]. Многие клеточные сигнальные события опосредованы посттрансляционной химической модификацией белков, которая может изменить их конформацию и активность, хотя пока неизвестно,

зависят ли эти изменения, вызванные посттрансляционными модификациями (ПТМ), от HSP и их взаимодействия. Высказываются предположения, что белки HSP70 и HSP90 могут взаимодействовать на уровне клеточной передачи сигналов, связывающих РТМс с механизмом фолдинга (то есть укладки) белков [15].

Малые белки-шапероны sHSP (13–43 kDa) также широко представлены в эукариотических и прокариотических организмах. В бактериях *E. coli* малые белки-шапероны IbpA и IbpB (14 и 16 кДа соответственно) принадлежат семейству АТФ-независимых шаперонов (holding-шапероны) и впервые были обнаружены в «телах включения» [16]. Гены *ibpAB* формируют оперон с промотором, «узнаваемым» субъединицей РНК-полимеразы σ_{32} , транскрипция которого индуцируется при тепловом шоке. Белки IbpA и IbpB, как и все малые шапероны sHSP, состоят из центральной области, высокоомологичной α -кристаллинам позвоночных, фланкированной N- и C-терминальными последовательностями [17].

Стоит отметить, что помимо описанной регуляции протеостаза HSP также участвуют в процессах апоптоза. Так, в исследовании Комаровой Е. Ю. и соавторов было показано, что при воздействии на клетки лейкемии человека U937 противоопухолевыми препаратами, индуцирующими апоптоз (этопозид, адриамицин (ADR)), белок HSP70 связывался с неактивными каспазами -3 и -7, подавляя дальнейший каскад апоптотической гибели клеток [18].

Учитывая протективную роль HSP, не удивительно, что при различных стрессорных воздействиях (например, гипоксия, гипертермия, ионизирующее излучение, действие ряда химиопрепаратов и т. д.) наблюдается повышение экспрессии шаперонов [19].

Синтез HSP в первую очередь является результатом активности фактора транскрипции — фактора теплового шока 1 (англ.: Heat shock factor 1, HSF1), который при протеотоксическом стрессе приводит к транскрипции всей когорты генов HSP [20].

Так, исследования показали, что при различных значительных и гематологических новообразованиях (например, рак легкого, рак молочной железы, рак желудка, лейкемия) наблюдается повышение экспрессии представителей различных семейств HSP [21]. Отчасти это объясняется воздействием на опухолевые клетки различных стрессорных факторов микроокружения, включая гипоксию, низкие значения pH, геномную нестабильность, нехватку питательных веществ. Стоит

особо подчеркнуть, что в силу своих шаперонных свойств HSP также участвуют в регуляции сигнальных путей.

Молекулярные шапероны в качестве диагностических и прогностических маркеров в опухолях ЦНС

Как и любые злокачественные новообразования, опухоли центральной нервной системы в силу воздействия стрессорного микроокружения также отличаются повышенной экспрессией HSP [22].

Ранее активно изучалась экспрессия малых шаперонов (в особенности альфа-В кристаллина и HSP27) при различных патологиях ЦНС, включая новообразования. Например, в ранних работах Kato и соавторов (1992 г.) приводятся результаты сравнительного иммуногистохимического исследования экспрессии кристаллина альфа-В, убиквитина и белка HSP27 в «баллонных» нейронах при различных заболеваниях, а также экспрессии HSP27 при стрессорных воздействиях на клетки (тепловой шок) (*grp* 27) в различных опухолях головного мозга человека. Так, белок *grp* 27 был обнаружен в метастазах опухоли молочной железы ($n = 5$) и в 5(21) случаях менингиом. Белок также идентифицирован в 5(11) глиобластомах и 2(5) аденомах гипофиза. Для сравнения, положительное окрашивание наблюдалось только у 1(15) астроцитом и 1(7) медуллобластом, а при тестировании олигодендроглиом, шванном и ганглиоглиом экспрессия белка не отмечалась. Эти наблюдения указывают на тот факт, что *grp* 27 может экспрессироваться некоторыми первичными внутричерепными опухолями [23].

В свою очередь, в работе Aoyama и коллег показано, что альфа-В-кристаллин представляет собой белок теплового шока, который специфическим образом накапливается в ответ на экспрессию онкогенов *c-Ha-ras* и *v-mos*. Авторы полагают, что повышенные уровни мРНК или белка альфа-В-кристаллина связаны с патологическими состояниями головного мозга, ввиду чего была исследована экспрессия альфа-В-кристаллина в нормальном человеческом мозге и опухолях головного мозга с помощью иммуноблотинга. Стоит отметить, что альфа-В-кристаллин умеренно экспрессируется в мозге взрослого человека, но не плода. Повышенные уровни экспрессии альфа-В-кристаллина наблюдаются в глиальных опухолях, таких как астроцитоме, мультиформная глиобластома и олигодендроглиоме. Альфа-В-кристаллин в этих опухолях преимущественно не фосфорилирован. Высокое количество накопленного альфа-В-кристаллина в астроцитарных опухолях

главным образом обнаруживается на более агрессивных стадиях. Так, мультиформная глиобlastома характеризуется тем, что высокая экспрессия альфа-В-кристаллина наблюдается только в половине проанализированных образцов, тогда как в другой части он не присутствует. Отсюда можно заключить, что альфа-В-кристаллин может быть полезным маркером для изучения патогенеза различных опухолей головного мозга человека [24].

В работе Nitotsumatsu и соавторов представлен сравнительный иммуногистохимический анализ 198 опухолей головного мозга человека для изучения экспрессии HSP27 и альфа-В-кристаллина [25]. Отмечено, что положительное окрашивание HSP27 часто наблюдалось при шванномах, краниофарингиомах, эпидермоидных кистах и метастатических опухолях головного мозга. Иммунопозитивность HSP27 была относительно низкой в опухолях, происходящих из нейроэпителия, а также в менингиомах; однако статистически значимо то, что более высокий процент HSP27-позитивных клеток был отмечен в анапластических опухолях, таких как глиобlastомы, анапластические олигодендроглиомы, анапластические эпендимомы и анапластические менингиомы ($P < 0,005$). И наоборот, уменьшение иммуноэкспрессии альфа-В-кристаллина часто наблюдалось среди астроцитарных опухолей, шванном, гемангиобlastом и хордом. Таким образом, экспрессия HSP27 и альфа-В-кристаллина различалась в зависимости от гистологического типа опухоли. Кроме того, иммунопозитивность по белку HSP27, который, как считалось, играет роль не только в лекарственной устойчивости, но и в регуляции клеточной пролиферации, зависела от степени анаплазии опухолей [25].

Отдельный интерес представляет исследование Rozsgai и коллег, в котором установлено, что малые белки теплового шока обладают антиапоптотической активностью и играют важную роль в развитии опухолей. Так, небольшой белок теплового шока, HSP16.2, проявляет повышенную экспрессию в нейроэктодермальных опухолях. В данном исследовании эта экспрессия была верифицирована при различных типах опухолей головного мозга ($n = 91$) и соотнесена с гистологической степенью опухоли. В соответствии с интенсивностью иммунореактивности HSP16.2 присваивались низкие (+), умеренные (++) , высокие (+++) или нулевые (-) баллы. Было выявлено, что опухоли головного мозга низкой степени злокачественности (1–2 степени) демонстрировали низкую цитоплазматическую иммунореактивность HSP16.2, опухоли 3 степени показывали умеренное цитоплазматическое окра-

шивание, в то время как опухоли высокой степени злокачественности (4 степень) имели интенсивное цитоплазматическое окрашивание HSP16.2. Также была выявлена положительная корреляция между уровнем экспрессии HSP16.2 и уровнем анаплазии в различных образцах злокачественной ткани. Таким образом, экспрессия HSP16.2 прямо коррелирует с гистологической степенью анаплазии опухоли головного мозга, и поэтому HSP16.2 может выступать в качестве маркера [26].

В исследовании Alexiou и соавторов было показано, что нодулярная медуллобlastома имела значительно более низкую экспрессию HSP27 (pSer15) ($p = 0,039$), при этом отмечался высокий уровень экспрессии HSP60 ($p = 0,021$) по сравнению с классической МБ. Крупноклеточная МБ имела значительно более высокую экспрессию HSP70 ($p = 0,028$), чем классическая МБ. При анализе всех МБ были выявлены достоверная отрицательная корреляция между HSP27 (pSer15) и индексом Ki-67 ($r = -0,475$, $p = 0,016$); значительная положительная корреляция между экспрессией HSP70 и индексом Ki-67 ($r = 0,407$, $p = 0,043$); и значительная положительная корреляция между экспрессией HSP70 и индексом bcl-2 ($r = 0,491$, $p = 0,023$) [27].

В более раннем исследовании Hauser и соавторов иммуногистохимически оценивалась экспрессия HSP27, HSP70 и HSP90 в медуллобlastомах ($n = 65$) и связь экспрессии шаперонов с различными прогностическими параметрами. По результатам исследования было показано, что экспрессия значительно различалась в опухолевых образцах. Так, было выделено две подгруппы в зависимости от экспрессии шаперонов: 1-я группа с менее чем 10 % экспрессии белков в образце и 2-я группа с 70 % присутствием указанных шаперонов. Уровень экспрессии любого из семейств HSP не был значимо связан с известными прогностическими факторами (возраст пациента, степень резекции, наличие метастазов) и гистологическим подтипом. По окончании периода наблюдения (около 4 лет) также не наблюдалось существенной разницы в выживаемости в зависимости от экспрессии HSP27, HSP70 или HSP90. Тем не менее, авторы отмечали зависимость уровня шаперонов от степени анаплазии опухоли [28]. В другом исследовании, Rappa и соавторов, было обнаружено, что уровень экспрессии HSP60 был значительно выше, чем уровень HSP70 в нейроэпителиальных опухолях, в то время как уровни обеих молекул не отличались друг от друга в менингеальных новообразованиях слишком явно [29]. Стоит отметить, что шаперон HSP60 преимущественно локализовался в цитоплазме (по данным ИГХ), тогда как HSP70

присутствовал как в цитоплазме, так и в ядре опухолевых клеток.

Несмотря на существенный прогресс в лечении многих видов рака, глиобластома остается разрушительным заболеванием с неблагоприятным прогнозом. В этой связи интерес представляют результаты исследования Lobinger и коллег, в котором были определены биомаркеры, связанные с шаперонами и иммунитетом, для улучшения прогнозирования исхода глиобластомы [30]. Авторы полагают, что в зависимости от своей внутри- или внеклеточной локализации основной индуцируемый стрессом белок теплового шока 70 (HSP70) выполняет разные задачи. Так, будучи локализованным в цитозоле, HSP70 подавляет проапоптотические сигнальные пути и тем самым защищает опухолевые клетки от запрограммированной клеточной гибели. Доказано, что внеклеточный HSP70 вместе с провоспалительными цитокинами стимулирует экспрессию активирующих рецепторов NK-клеток. Поэтому внутри-, внеклеточный и связанный с мембраной уровень HSP70 оценивали в глиомах вместе с активацией рецепторов NK-клеток. Было обнаружено, что все глиальные опухоли несут на своей поверхности HSP70, а глиомы высокой степени злокачественности (GIV) чаще демонстрируют гиперэкспрессию HSP70 в ядре и цитозоле. Значительно повышенные внеклеточные уровни HSP70 выявляют в глиобластомах с большими участками некроза. Общая выживаемость (ОВ) более благоприятна у пациентов с низким уровнем HSP70 в сыворотке, что указывает на то, что высокая экспрессия HSP70 связана с неблагоприятным прогнозом [30]. В свою очередь, в исследовании Kato и соавторов HSP70 представлен на плазматической мембране всех глиом в качестве потенциальной мишени для NK-клеток, при этом сильная ядерная и цитозольная экспрессия HSP70 связана с глиомами высокой степени злокачественности. Авторами были предоставлены доказательства того, что низкие уровни HSP70 и повышенная доля активированных CD94+/CD69+ NK-клеток, способных распознавать опухолевые клетки, несущие на поверхности мембраны mHsp70 (Multhoff и др., 1999 г. [31]), что может способствовать более благоприятному клиническому исходу у пациентов с глиобластомой. Однако из-за относительно небольшого числа пациентов с глиомами низкой степени злокачественности результаты должны быть подтверждены на примере более крупных групп пациентов.

В другом исследовании был произведен анализ экспрессии белка SRP60 в серии из 158 опухолей головного мозга человека. Приблизительно половина мультиформных глиобластом (17/31), метастазов рака молочной железы (6/10) и метастазов рака лег-

ких (5/11), а также около одной трети астроцитом (5/13) и менингиом (8/11), содержали опухолевые клетки, экспрессирующие *srp 60*. Положительная реакция на *srp 60* также наблюдалась при некоторых медуллобластомах (2/16), примитивных нейроэктодермальных опухолях (PNET) (2/11), шванномах (2/21) и аденомах гипофиза (2/7), но при олигодендроглиомах и эпендимомах положительных реакций не отмечалось. По сравнению с *srp 60*-отрицательными опухолями, *srp 60*-положительные опухоли ко-экспрессировали один или несколько связанных со стрессом белков, среди которых *srp 90*, *srp 72*, *srp 27*, альфа-В-кристаллин и убиквитин встречались с большей частотой; высокая корреляция между *srp 60* и другими пятью *srps* (0,88–0,97, $p < 0,01$, коэффициент корреляции Пирсона) наблюдалась в *srp 60*-положительных опухолях. Напротив, коэффициент корреляции в *srp 60*-негативных опухолях был незначительным (-0,26–0,71). Экспрессия ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA) чаще наблюдалась в глиобластомах, астроцитомах, медуллобластомах, PNET и метастазах карциномы молочной железы и легких, которые экспрессировали *srp 60* по сравнению с *srp60*-опухолями. Таким образом, выявлено, что первичные и метастатические опухоли головного мозга экспрессируют *srp 60*, при этом в некоторых опухолевых клетках наблюдается ко-экспрессия шаперона с другими пятью белками [32].

Экспрессия другого представителя семейства HSP70, GRP75 (морталин), присутствующего в митохондриях, была повышена в астроцитомах. При этом степень экспрессии коррелировала со злокачественностью новообразования. Так, Takano и соавторы провели иммуногистохимические исследования морталина в нормальных и опухолевых срезах головного мозга человека [33]. В нормальных срезах мозга незначительная экспрессия наблюдалась в основном в нейронах, в то время как при исследовании астроцитарных опухолей (астроцитомы низкой степени злокачественности, анапластическая астроцитома и глиобластома) было показано увеличение количества морталин-позитивных клеток. Другие типы опухолей головного мозга, такие как менингиомы, невриномы, аденомы гипофиза и метастазы, также показали повышенные уровни экспрессии морталина по сравнению с таковыми в нормальной ткани головного мозга. Как известно, морталин имеет различное внутриклеточное распределение в нормальных и трансформированных клетках, что, вероятно, обусловлено участием белка в туморогенезе, однако необходимы дальнейшие исследования.

В работе Babi и коллег (2022 г.) описываются диагностические и прогностические значения экс-

прессии HSP при злокачественных новообразованиях центральной нервной системы (ЦНС), а также новые подходы к лечению для модуляции уровней шаперонов посредством применения ингибиторов (в виде монотерапии или в сочетании с другими методами лечения). В частности, для нескольких белков (например, HSP10, HSPB1, DNAJC10, HSPA7, HSP90) была продемонстрирована прямая корреляция между уровнем экспрессии белка и плохим прогнозом общей выживаемости пациентов, что дает возможность использовать их в качестве прогностических маркеров в нейроонкологии [34].

Иммуногистохимический анализ, проведенный Fan и соавторами, показал, например, не только высокую экспрессию HSP10 в ткани астроцитомы, но и позволил установить его статус как независимого фактора, связанного с плохим прогнозом, с учетом степени опухоли, пройденным курсом лечения, размером опухоли, возрастом, полом и белками с-PARP. Отсюда следует, что высокая экспрессия HSP10 приводит к ингибированию апоптоза в опухолевых клетках и, как следствие, к плохой выживаемости пациентов (рис. 1) [35].

Кстати, задолго до этого исследования было выявлено, что опухоли могут экспрессировать морталин. Увеличение количества морталин-позитивных

клеток при злокачественном прогрессировании опухолей головного мозга и его корреляция с Ki-67-позитивными клетками также свидетельствовали об участии непанцитозольного морталина(ов) в злокачественной трансформации клеток *in vivo* [33].

В работе Alexiou и соавторов описано исследование экспрессии HSP в опухолях головного мозга. Одновременное определение HSP27, HSP40, HSP60, HSP70, HSP90a, общего количества Akt и фосфо-Akt в 19 образцах опухолей головного мозга проводилось с использованием мультиплексного матричного анализа. Экспрессия HSP27 (pSer82), HSP27 (pSer15), HSP40, HSP60, HSP70, HSP90a, total-Akt и фосфо-Akt наблюдалась как в глиомах, так и в менингиомах. Значительно более высокие уровни HSP70 и тенденция к более высоким уровням HSP40 были обнаружены в менингиомах по сравнению с глиомами. Выявлена значительная корреляция между экспрессией HSP27 (pSer82) и HSP27 (pSer15), а также между HSP90a и общей АКТ и фосфо-АКТ. Также наблюдалась значительная корреляция между HSP27 и общим уровнем АКТ [36].

Уникальной особенностью некоторых опухолей, не относящихся к ЦНС, является сверхэкспрессия белка теплового шока 70 (HSP70, HSPA1A) в ци-

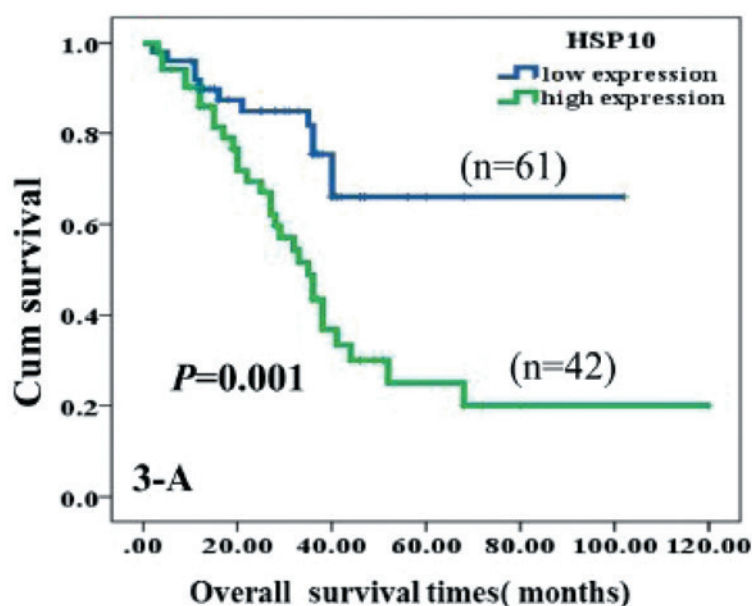


Рис. 1. Разделение кривых Каплана-Мейера на высокую и низкую экспрессию в соответствии с экспрессией белка HSP10. Высокая экспрессия HSP10 в значительной степени коррелировала с плохим прогнозом у пациентов с астроцитомой ($P = 0,001$, двусторонний)

Figure 1. Separation of Kaplan-Meier curves into high and low expression according to HSP10 protein expression. High expression of HSP10 was significantly correlated with poor prognosis in patients with astrocytoma ($P = 0.001$, bilateral)

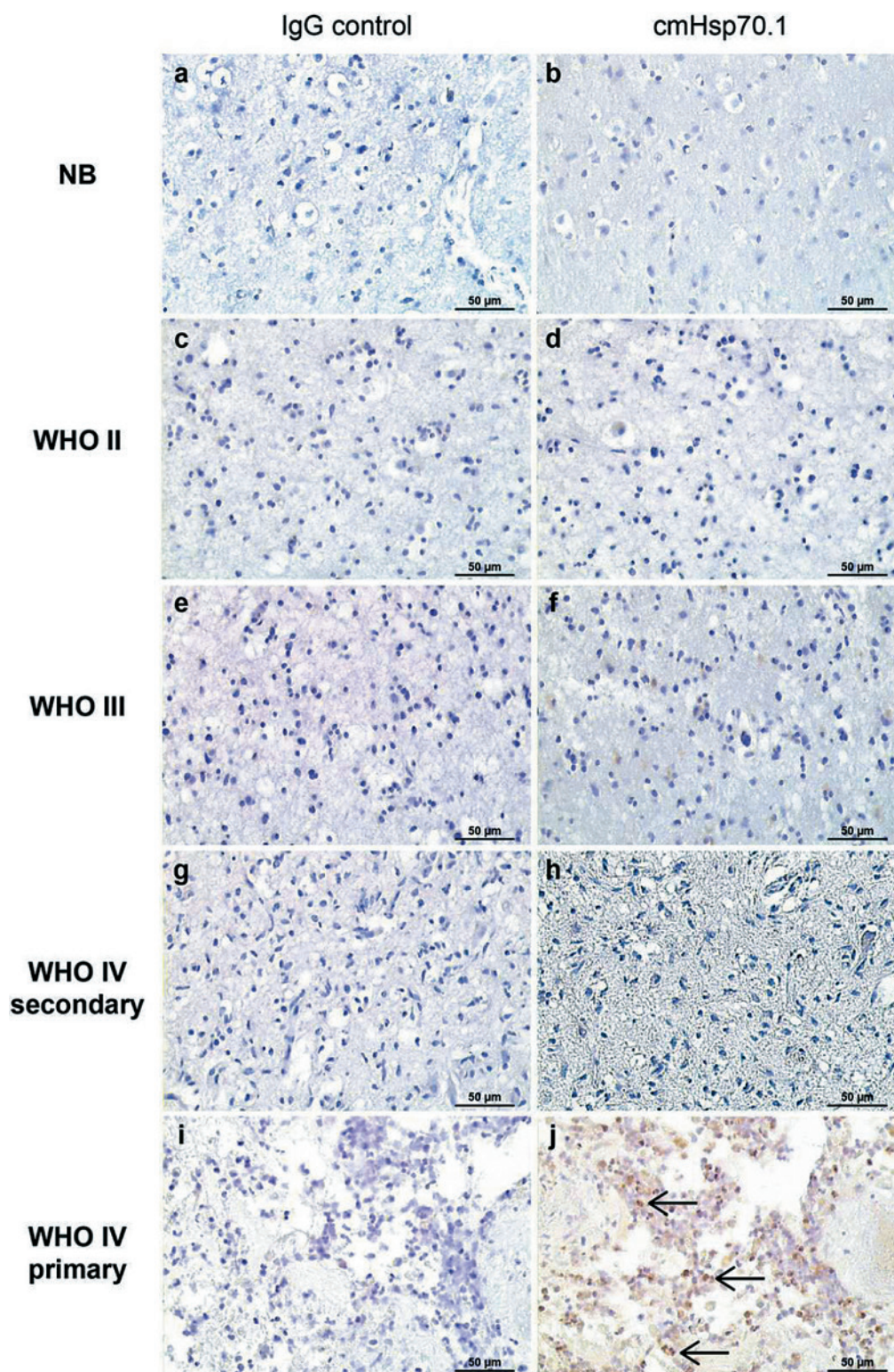


Рис. 2. Экспрессия мембранного HSP70. Экспрессия мембранного HSP70 в неопуховом головном мозге (b), диффузной астроцитоме (d), анапластической астроцитоме (f), вторичной ГБМ (h) и первичной ГБМ (j) и соответствующих отрицательных тестах (a, c, e, g, i) по определению ИHC. Увеличение: x20. Масштабная линейка 50 мкм. Источник: [37]

Figure 2. Membrane HSP70 expression. Membrane HSP70 expression in non-tumor brain (b), diffuse astrocytoma (d), anaplastic astrocytoma (f), secondary GBM (h) and primary GBM (j) and corresponding negative tests (a, c, e, g, i) as defined by the IHC. Magnification: x20. Scale bar 50 µm. Reference: [37]

тозоле, а также его локализация на поверхности плазматической мембраны. Хотя в глиомах уровни цитозольного HSP70 не связаны с гистологической классификацией, роль связанного с мембраной и высвобождаемого во внеклеточное пространство HSP70 до сих пор полностью не известна. Так, Thorsteinsdottir и коллеги проанализировали уровни мембранно-связанного HSP70 в первичных и вторичных глиомах (биопсийный материал) и в изолированных субпопуляциях клеток (эндотелиальные клетки, CD133-положительные клетки, первичные опухолевые культуры) с помощью иммуногистохимии и проточной цитометрии [37]. Внеклеточный HSP70 определялся с помощью коммерческого сэндвич-ИФА HSP70 (R&D) в образцах плазмы пациентов с глиобластомой и здоровых добровольцев. Была обнаружена сверхэкспрессия HSP70 в первичных глиобластомах по сравнению с низкодифференцированными, анапластическими или вторичными глиомами. При проточной цитометрии значительная экспрессия HSP70 на плазматической мембране наблюдалась только в первичных, но не во вторичных глиобластомах. В гетерогенной опухолевой массе стволовые CD133-положительные клетки и клетки первичной глиобластомы продемонстрировали высокую плотность экспрессии HSP70 в мембране, тогда как эндотелиальные клетки, выделенные из тканей глиобластомы, показали только слабую картину окрашивания. Также в образцах плазмы секретируемый белок HSP70 был значительно повышен у лиц с первичными глиобластомами по сравнению с пациентами со вторичными глиобластомами и глиобластомами низкой степени злокачественности. Иными словами, было показано, что цитозольный, связанный с мембраной и внеклеточный HSP70 преимущественно гиперэкспрессируется в первичных глиобластомах (рис. 2) [37].

Таким образом, преимущественно во всех новообразованиях ЦНС наблюдается повышенная экспрессия основных представителей семейств HSP (по сравнению со здоровой тканью головного мозга), причем уровень экспрессии коррелирует со степенью злокачественности опухоли. И, кроме того, экспрессия HSP коррелирует со снижением общей выживаемости пациентов. Отсюда можно сделать вывод о том, что экспрессия HSP выступает причиной первичной резистентности злокачественных глиом человека к цитотоксической радиохимиотерапии.

Заключение

Молекулярные шапероны из-за их важной роли в физиологических процессах в клетке высоко

экспрессируются в опухолях головного мозга, а уровень экспрессии HSPs сильно коррелирует со степенью злокачественности, инвазивным потенциалом, а также устойчивостью к радиохимиотерапии. Для некоторых представителей HSPs (то есть HSP10, HSPB1, DNAJC10, HSPA7, HSP90) выявлена прямая корреляция между уровнем экспрессии белка (на основе анализа ИHC) и плохим общим прогнозом выживаемости для пациентов с глиальными опухолями. Это указывает на прогностические значения этих маркеров, которые в будущем могут быть включены в диагностическую панель при исследовании образца опухоли. Одним из ограничений является отсутствие стандартизированных протоколов для обнаружения HSP, когда в основном используются ИГХ-анализ (для оценки цитозольной и ядерной экспрессии HSP) и проточная цитометрия (для обнаружения форм HSP, связанных с плазматической мембраной). Более того, до сих пор нет согласия между исследователями относительно того, следует ли отдельно оценивать цитозольную и ядерную экспрессию HSP на парафиновых срезах ИHC и их прогностическую и диагностическую ценность. В большинстве исследований сообщается об экспрессии HSPs без такого различия. Однако, как было показано ранее, при различных стрессовых состояниях HSPs действительно мигрируют в ядро клетки (хотя об их функции в ядре ничего не известно). Предположительно, в срезах опухоли эти два паттерна экспрессии HSPs должны оцениваться независимо.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Благодарности / Acknowledgments

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и Российской академии наук (соглашение № 075-15-2022-301 от 20.04.2022). / The study was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation and the Russian Academy of Sciences (Agreement No. 075-15-2022-301 от 20.04.2022).

Список литературы / References

1. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009; 10(5):459–466. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7.

2. Stupp R, Taillibert S, Kanner AA, et al. Maintenance Therapy With Tumor-Treating Fields Plus Temozolomide vs Temozolomide Alone for Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2015; 314(23):2535–2543. DOI: 10.1001/jama.2015.16669.
3. Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet*. 1988; 22:631–677. DOI: 10.1146/annurev.ge.22.120188.003215.
4. Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, et al. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones*. 2009; 14(1):105–111. DOI: 10.1007/s12192-008-0068-7.
5. Dahiya V, Buchner J. Functional principles and regulation of molecular chaperones. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2019; 114:1–60. DOI: 10.1016/bs.apcsb.2018.10.001.
6. Shevtsov M, Huile G, Multhoff G. Membrane heat shock protein 70: a theranostic target for cancer therapy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018; 373(1738):20160526. DOI: 10.1098/rstb.2016.0526.
7. Wu J, Liu T, Rios Z, et al. Heat Shock Proteins and Cancer. *Trends Pharmacol Sci*. 2017; 38(3):226–256. DOI: 10.1016/j.tips.2016.11.009.
8. Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*. 2011; 475(7356):324–332. DOI: 10.1038/nature10317.
9. Calderwood SK. Heat shock proteins and cancer: intracellular chaperones or extracellular signalling ligands? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018; 373(1738):20160524. DOI: 10.1098/rstb.2016.0524.
10. Srivastava P. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 2002; 2(3):185–194. DOI: 10.1038/nri749.
11. Workman P, Burrows F, Neckers L, et al. Drugging the cancer chaperone HSP90: combinatorial therapeutic exploitation of oncogene addiction and tumor stress. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1113:202–216. DOI: 10.1196/annals.1391.012.
12. Brown IR. Heat shock proteins and protection of the nervous system. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1113:147–158. DOI: 10.1196/annals.1391.032.
13. Waza M, Adachi H, Katsuno M, et al. Modulation of Hsp90 function in neurodegenerative disorders: a molecular-targeted therapy against disease-causing protein. *J Mol Med (Berl)*. 2006; 84(8):635–646. DOI: 10.1007/s00109-006-0066-0.
14. Sharma SK, De los Rios P, Christen P, et al. The kinetic parameters and energy cost of the Hsp70 chaperone as a polypeptide unfoldase. *Nat Chem Biol*. 2010; 6(12):914–920. DOI: 10.1038/nchembio.455.
15. Lang BJ, Prince TL, Okusha Y, et al. Heat shock proteins in cell signaling and cancer. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2022; 1869(3):119187. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2021.119187.
16. Allen SP, Polazzi JO, Gierse JK, et al. Two novel heat shock genes encoding proteins produced in response to heterologous protein expression in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1992; 174(21):6938–6947. DOI: 10.1128/jb.174.21.6938-6947.1992.
17. Haslbeck M, Franzmann T, Weinfurtner D, et al. Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins. *Nat Struct Mol Biol*. 2005; 12(10):842–846. DOI: 10.1038/nsmb993.
18. Komarova EY, Afanasyeva EA, Bulatova MM, et al. Downstream caspases are novel targets for the antiapoptotic activity of the molecular chaperone hsp70. *Cell Stress Chaperones*. 2004; 9(3):265–275. DOI: 10.1379/csc-27r1.1.
19. Walter S, Buchner J. Molecular chaperones — cellular machines for protein folding. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2002; 41(7):1098–1113. DOI: 10.1002/1521-3773(20020402)41:7<1098::aid-anie1098>3.0.co;2-9.
20. Wu C. Heat shock transcription factors: structure and regulation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1995; 11:441–469. DOI: 10.1146/annurev.cb.11.110195.002301.
21. DeMaio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock*. 1999; 11(1):1–12. DOI: 10.1097/00024382-199901000-00001.
22. Kobayakov GL, Absalyamova OV, Poddubskiy AA, et al. The 2016 WHO classification of primary central nervous system tumors: a clinician's view. *Problems of Neurosurgery named after N.N. Burdenko*. 2018; 82(3):88–96. In Russian [Кобяков Г.Л., Абсальмова О.В., Поддубский А.А. и др. Классификация ВОЗ первичных опухолей центральной нервной системы 2016 г.: взгляд клинициста. Журнал «Вопросы нейрохирургии» имени Н. Н. Бурденко. 2018; 82(3):88–96.] DOI: 10.17116/neiro201882388.
23. Kato S, Hirano A, Umahara T, et al. Comparative immunohistochemical study on the expression of alpha B crystallin, ubiquitin and stress-response protein 27 in ballooned neurons in various disorders. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1992; 18(4):335–340. DOI: 10.1111/j.1365-2990.1992.tb00795.x.
24. Aoyama A, Steiger RH, Fröhli E, et al. Expression of alpha B-crystallin in human brain tumors. *Int J Cancer*. 1993; 55(5):760–764. DOI: 10.1002/ijc.2910550511.
25. Hitotsumatsu T, Iwaki T, Fukui M, et al. Distinctive immunohistochemical profiles of small heat shock proteins (heat shock protein 27 and alpha B-crystallin) in human brain tumors. *Cancer*. 1996; 77(2):352–361. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19960115)77:2<352::AID-CNCR19>3.0.CO;2-0.
26. Pozsgai E, Gomori E, Szigeti A, et al. Correlation between the progressive cytoplasmic expression of a novel small heat shock protein (Hsp16.2) and malignancy in brain tumors. *BMC Cancer*. 2007; 7:233. DOI: 10.1186/1471-2407-7-233.

27. Alexiou GA, Vartholomatos G, Stefanaki K, et al. Expression of heat shock proteins in medulloblastoma. *J Neurosurg Pediatr.* 2013; 12(5):452–457. DOI: 10.3171/2013.7.PEDS1376.
 28. Hauser P, Hanzély Z, Jakab Z, et al. Expression and prognostic examination of heat shock proteins (HSP 27, HSP 70, and HSP 90) in medulloblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2006; 28(7):461–466. DOI: 10.1097/01.mph.0000212954.35727.ad.
 29. Rappa F, Unti E, Baiamonte P, et al. Different immunohistochemical levels of Hsp60 and Hsp70 in a subset of brain tumors and putative role of Hsp60 in neuroepithelial tumorigenesis. *Eur J Histochem.* 2013; 57(2):e20. DOI: 10.4081/ejh.2013.e20.
 30. Lobinger D, Gempt J, Sievert W, et al. Potential Role of Hsp70 and Activated NK Cells for Prediction of Prognosis in Glioblastoma Patients. *Front Mol Biosci.* 2021; 8:669366. DOI: 10.3389/fmolb.2021.669366.
 31. Multhoff G, Mizzen L, Winchester CC, et al. Heat shock protein 70 (Hsp70) stimulates proliferation and cytolytic activity of natural killer cells. *Exp Hematol.* 1999; 27(11):1627–1636. DOI: 10.1016/s0301-472x(99)00104-6.
 32. Kato S, Kato M, Hirano A, et al. The immunohistochemical expression of stress-response protein (srp) 60 in human brain tumours: relationship of srp 60 to the other five srps, proliferating cell nuclear antigen and p53 protein. *Histol Histopathol.* 2001; 16(3):809–820. DOI: 10.14670/HH-16.809.
 33. Takano S, Wadhwa R, Yoshii Y, et al. Elevated levels of mortalin expression in human brain tumors. *Exp Cell Res.* 1997; 237(1):38–45. DOI: 10.1006/excr.1997.3754.
 34. Babi A, Menlibayeva K, Bex T, et al. Targeting Heat Shock Proteins in Malignant Brain Tumors: From Basic Research to Clinical Trials. *Cancers (Basel).* 2022; 14(21):5435. DOI: 10.3390/cancers14215435.
 35. Fan W, Fan SS, Feng J, et al. Elevated expression of HSP10 protein inhibits apoptosis and associates with poor prognosis of astrocytoma. *PLoS One.* 2017; 12(10):e0185563. DOI: 10.1371/journal.pone.0185563.
 36. Alexiou GA, Karamoutsios A, Lallas G, et al. Expression of heat shock proteins in brain tumors. *Turk Neurosurg.* 2014; 24(5):745–749. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.9852-13.0.
 37. Thorsteinsdottir J, Stangl S, Fu P, et al. Overexpression of cytosolic, plasma membrane bound and extracellular heat shock protein 70 (Hsp70) in primary glioblastomas. *J Neurooncol.* 2017; 135(3):443–452. DOI: 10.1007/s11060-017-2600-z.
- Федоров Вячеслав Сергеевич, старший лаборант-исследователь Института цитологии РАН;
- Забродская Юлия Михайловна, д.м.н., заведующий НИЛ патоморфологии нервной системы, РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Ким Александр Вонгиевич, д.м.н., доцент кафедры нейрохирургии, заведующий ДНХО № 7, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Джаналиев Болот Рахманович, д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева;
- Шевцов Максим Алексеевич, д.б.н., ведущий научный сотрудник Института цитологии РАН; заведующий НИО трансляционной онкологии НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;
- Самочерных Константин Александрович, д.м.н., профессор РАН, директор РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиала ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, заведующий научно-исследовательским центром персонализированной онкологии НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Eleonora T. Nazaralieva, MD, Researcher, Research Laboratory of Pediatric Neurosurgery, Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery;

Vyacheslav S. Fedorov, senior laboratory assistant-researcher, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences;

Yulia M. Zabrodskaya, ScD, Head of the Research Laboratory of Pathomorphology of the Nervous System, Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery;

Alexander V. Kim, ScD, Associate Professor, Department of Neurosurgery, Head of the Children's Neurosurgical Department № 7, Almazov National Medical Research Centre;

Bolot R. Djanaliev, ScD, Professor, Department of Pathological Anatomy, I. K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy;

Maxim A. Shevtsov, ScD, Leading Researcher, Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences; Head of Research Center for Translational Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Konstantin A. Samochernych, ScD, professor of the Russian Academy of Sciences, director of Polenov Russian Scientific Research Institute of Neurosurgery, Head of the Research Center for Personalized Oncology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre.

Информация об авторах:

Назаралиева Элеонора Тууганбаевна, к.м.н., научный сотрудник НИЛ нейрохирургии детского возраста, РНХИ им. проф. А. Л. Поленова — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;