

Гетерогенность содержания глюкокортикоидного рецептора в глиомах высокой степени злокачественности

Г.М. Казанская¹, А.М. Волков², Р.С. Киселев², Д.В. Костромская², С.Д. Аладьев¹,
Е.Э. Кливер^{2,3}, С.В. Айдагулова^{1,3}, Э.В. Григорьева^{1,4}, А.В. Строкотова^{1,4}

¹ Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия

² ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина Минздрава России, Новосибирск, Россия

³ ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск, Россия

⁴ ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

Резюме. Введение. Морфологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность глиальных опухолей считается одной из значимых характеристик, однако пока не находит широкого применения в клинической практике. В терапии опухолей мозга для снижения отека используется глюкокортикостероидный препарат дексаметазон, являющийся агонистом глюкокортикоидного рецептора. Содержание рецептора в глиомах высокой степени злокачественности, как и в интактной ткани головного мозга, изучено недостаточно. Тем не менее неоднородность содержания глюкокортикоидного рецептора может быть одним из параметров, определяющих гетерогенность глиом. Целью данной работы являлось изучение содержания глюкокортикоидного рецептора в глиомах высокой степени злокачественности Grade 4 у человека и в экспериментальных опухолях *in vivo*.

Материалы и методы. Ретроспективное исследование выполнено у 51 пациента, оперированного по поводу глиомы высокой степени злокачественности Grade 4. Группой сравнения служили образцы мозга 23 пациентов с сосудистыми мальформациями головного мозга. Для изучения содержания глюкокортикоидного рецептора в экспериментальной модели использовали мышей линии SCID, которым в головной мозг инокулировали клетки глиобластомы человека U87. Контролем служили интактные мыши линии SCID. Данные иммуногистохимического окрашивания с применением антител к глюкокортикоидному рецептору были использованы для расчета интегрального показателя содержания маркера.

Результаты. У пациентов с глиомой и в группе сравнения выделяются три подгруппы – с низким, умеренным и высоким содержанием глюкокортикоидного рецептора. В опухолевой ткани пациентов с глиомой преимущественно выявляется высокое содержание рецептора, тогда как в группе сравнения преобладают пациенты, характеризующиеся низким и умеренным содержанием рецептора в нервной ткани. По интегральному показателю содержания маркера между подгруппами всегда выявляются статистически значимые различия. В эксперименте *in vivo* опухоли всех мышей характеризуются исключительно высоким содержанием глюкокортикоидного рецептора, тогда как в контроле высокое и умеренное содержание белка наблюдается примерно в равных долях.

Закключение. Глиома высокой степени злокачественности Grade 4 гетерогенна по содержанию глюкокортикоидного рецептора. Трансформация нервной ткани, сопряженная с формированием глиомы высокой степени злокачественности, сопровождается увеличением содержания глюкокортикоидного рецептора по сравнению с нормой.

Ключевые слова: глиома, опухолевая гетерогенность, интактная ткань головного мозга, глюкокортикоидный рецептор

Для корреспонденции: Анастасия Владимировна Строкотова. E-mail: anastasia.strokotova@gmail.com

Для цитирования: Казанская Г.М., Волков А.М., Киселев Р.С., Костромская Д.В., Аладьев С.Д., Кливер Е.Э., Айдагулова С.В., Григорьева Э.В., Строкотова А.В. Гетерогенность содержания глюкокортикоидного рецептора в глиомах высокой степени злокачественности. Клин. эксп. морфология. 2025;14(3):49–57. DOI: 10.31088/CEM2025.14.3.49-57.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (№ 125031203556-7) с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

Статья поступила 07.11.2024. Получена после рецензирования 18.11.2024. Принята в печать 02.12.2024.

Heterogeneity of glucocorticoid receptor content in high-grade gliomas

G.M. Kazanskaya¹, A.M. Volkov², R.S. Kiselev², D.V. Kostromskaya²,
S.D. Aladev¹, E.E. Kliver^{2,3}, S.V. Aidagulova^{1,3}, E.V. Grigorieva^{1,4}, A.V. Strokotova^{1,2}

¹ Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

² E.N. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

⁴ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Abstract. Introduction. Morphological, molecular and genetic heterogeneity of glial tumors is considered a significant feature and is not yet widely employed in clinical practice. To reduce edema in the treatment of brain tumors, dexamethasone is used, which is a glucocorticosteroid and a glucocorticoid receptor agonist. The content of the receptor in high-grade gliomas and intact brain tissue has not been sufficiently studied. However, heterogeneity of glucocorticoid receptor content may be one of the parameters determining the heterogeneity of these gliomas. This paper aimed to study the content of the glucocorticoid receptor in Grade 4 gliomas in humans and SCID mice.

Materials and methods. A retrospective study was performed on 51 patients operated on for Grade 4 glioma. The control group included samples from 23 patients with brain vascular malformations. The experimental group consisted of SCID mice that received human glioblastoma U87 cells. The control group was composed of intact SCID mice. We used the data of immunohistochemical staining using antibodies to the glucocorticoid receptor to calculate the integral score of marker content.

Results. In both groups of patients, we identified 3 subgroups, i.e., with low, moderate, and high content of the glucocorticoid receptor. High receptor content was most often observed in the group of patients with glioma, while low and moderate receptor content was detected in the patients from the control group. The integral score of receptor content always showed statistically significant differences between the subgroups. In the *in vivo* experiment, the U87 tumors were characterized by an extremely high content of the glucocorticoid receptor, while in the control group, high and moderate protein content was observed in approximately equal proportions.

Conclusion. Glioma Grade 4 is heterogeneous in the content of the glucocorticoid receptor. Transformation of the nervous tissue associated with the formation of high-grade glioma is accompanied by an increase in the expression of the glucocorticoid receptor.

Keywords: glioma, tumor heterogeneity, intact brain tissue, glucocorticoid receptor

Corresponding author: Anastasia V. Strokotova. E-mail: anastasia.strokotova@gmail.com

For citation: Kazanskaya G.M., Volkov A.M., Kiselev R.S., Kostromskaya D.V., Aladev S.D., Kliver E.E., Aidagulova S.V., Grigorieva E.V., Strokotova A.V. Heterogeneity of glucocorticoid receptor content in high-grade gliomas. Clin. exp. morphology. 2025;14(3):49–57 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.3.49-57.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (No. 125031203556-7), using the equipment of the Center for Collective Use “Proteomic Analysis” supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement No. 075-15-2021-691).

Received 07.11.2024. **Received in revised form** 18.11.2024. **Accepted** 02.12.2024.

Введение

Глиома высокой степени злокачественности Grade 4 (ГЛ Gr.4) – наиболее агрессивное заболевание головного мозга, которое характеризуется плохим прогнозом и медианой выживаемости 15 месяцев [1]. Несмотря на успехи, достигнутые в понимании биологии опухолевого процесса, лечение этого заболевания до сих пор остается нерешенной задачей. Одним из факторов, определяющих низкую эффективность лечения ГЛ Gr.4, может быть вариабельность индивидуальных опухолей и клеточного состава каждой конкретной опухоли [2].

В настоящее время известно, что для злокачественных глиом характерна морфологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность. Молекулярно-генетическое тестирование с определением мутации

в генах *IDH* сегодня является стандартом, необходимым для постановки патоморфологического диагноза в соответствии с классификацией опухолей центральной нервной системы (ЦНС) Всемирной организации здравоохранения 2021 года [3]. Активно ведется поиск путей использования молекулярно-генетической гетерогенности злокачественных глиом в лечении пациентов. Так, проведены клинические исследования третьей фазы, подтверждающие увеличение выживаемости без прогрессирования при применении препарата ворасидениб (Servier Pharmaceuticals, США), направленного на мутантный белок *IDH*, по

сравнению с плацебо при лечении пациентов с глиомами низкой степени злокачественности [4]. Другое исследование показало большую выживаемость без прогрессирования при комбинации препаратов дабрафениб (Novartis, Швейцария) и траметиниб (Novartis, Швейцария), направленных на мутантные белки BRAF и MEK, соответственно, по сравнению со стандартной химиотерапией у детей с глиомами низкой степени злокачественности [5].

Природу внутриопухолевой [6] и межопухолевой [7] гетерогенности первичных опухолей ЦНС активно изучают. Предполагается, что внутриопухолевая гетерогенность обусловлена генетически, эпигенетически и функционально разными клеточными субпопуляциями в пределах одной опухоли, что может способствовать формированию резистентности новообразования к проводимой радио- и химиотерапии [8, 9]. Многим новообразованиям, в том числе злокачественным глиомам, также свойственна иммунная гетерогенность, при которой выделяются субтипы в зависимости от содержания иммунных маркеров [10]. Наконец, свой вклад в гетерогенность первичных опухолей ЦНС помимо собственно опухолевых клеток способны вносить и их микроокружение [11]. Таким образом, злокачественные глиомы гетерогенны по многим параметрам.

Рост глиальных опухолей часто сопровождается развитием отека головного мозга. Для устранения данного состояния используют в том числе глюкокортикостероидные препараты, оказывающие свои эффекты через взаимодействие с глюкокортикоидным рецептором (ГР). Экспрессия последнего у пациентов с ГЛ Gr.4 вызывает особый интерес. Широко экспрессируясь в головном мозге, ГР вовлечен не только в функции ЦНС, но и во многие другие процессы, такие как адаптация к стрессу, модуляция иммунной системы [12]. Регуляция экспрессии генов при активации ГР зависит от физиологического и/или патологического состояния органа [13], включая онкологические заболевания, при которых взаимодействие ГР с глюкокортикостероидными препаратами может вызывать даже противоположные эффекты [14]. Вместе с тем анализу гетерогенности содержания ГР в глиомах к настоящему времени посвящены лишь отдельные работы, причем выполненные на ограниченной выборке пациентов [15]. Пока остается без внимания и тот факт, что в природе гетерогенности опухолей ЦНС немаловажную роль может играть исходная неоднородность содержания ГР в ткани мозга.

Цель исследования – изучить гетерогенность содержания ГР в ГЛ Gr.4 в экспериментальных опухолях *in vivo* и в ткани головного мозга, не измененной опухолевым процессом.

Материалы и методы

В рамках ретроспективного исследования случай–контроль были использованы диагностические биоптаты пациентов с гистологическим диагнозом ГЛ

Gr.4 (согласно классификации ICD-O [3]). В исследование вошел 51 пациент (24 мужчины и 27 женщин, средний возраст которых составил 55 лет – от 18 до 80 лет). Группу сравнения формировал материал головного мозга, полученный у 23 пациентов (11 мужчин и 12 женщин, средний возраст которых составил 40 лет – от 11 до 68 лет), оперированных по поводу сосудистых мальформаций. Патоморфологическое исследование биопсийного материала пациентов проводилось с помощью гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов диагностики. У 18% пациентов с глиомами методом полимеразной цепной реакции была выявлена мутация в гене *IDH1* (R132H) (астроцитома Grade 4), у 82% пациентов установлен дикий тип (глиобластома Grade 4). Хирургическое лечение пациенты получали на базе Национального медицинского исследовательского центра имени академика Е.Н. Мешалкина в период с 2019 по 2023 год. В соответствии с Федеральным законом № 323-ФЗ от 21.11.2011 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» всеми пациентами было подписано добровольное информированное согласие на проведение клинических исследований.

Материал фиксировали в 10% забуференном формалине с последующим изготовлением парафиновых блоков по стандартной методике. Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики (протокол № 5/2017 от 23.07.2017).

Для изучения гетерогенности содержания ГР в экспериментальных опухолях *in vivo* использовали мышей линии SCID в возрасте 10 недель (ЦКП «SPF-виварий» Института цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск), которым ортотопически вводили опухолевые клетки глиобластомы U87. После начала ингаляционного наркоза, содержащего 1,5% изофлорана, 5 мкл суспензии клеток U87 (500 тысяч клеток) вводили в подкорковые структуры головного мозга через отверстие в черепной коробке животного в районе bregma диаметром 3–4 мм [16]. Группу контроля формировали интактные мыши.

Эксперименты были выполнены с соблюдением принципов гуманности в соответствии с директивой Европейского сообщества (86/609/ЕЕС). Мышей выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации согласно руководству по гуманному обращению с животными (National Research Council Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory, 2011). Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике НИИ молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ (протокол № 6/2017 от 23.07.2017).

После иссечения левое полушарие головного мозга мышей фиксировали в 10% забуференном формалине и заключали в парафин (BioVitrum, Россия). Коронарные срезы получали приблизительно на одном расстоянии ($5 \pm 0,5$ мм) от bregma.

У пациентов и животных с опухолью анализировали как собственно опухолевую ткань, так и околоопухолевую область. Околоопухолевой областью считали зоны без диффузного опухолевого роста и распространенного клеточного полиморфизма, когда в поле зрения количество атипичных клеток не превышало 1–2% при $\times 400$. У пациентов с сосудистыми мальформациями анализировали нервную ткань мозга в межсосудистой зоне. В нервной ткани головного мозга мышей, не измененной опухолевым процессом, анализу подвергали поля зрения, включающие молекулярный, наружный зернистый с зоной перехода в пирамидный слой коры, в пределах первичной (M1) и вторичной (M2) моторной коры и первичной соматосенсорной коры (S1HL, S1FL, S1BF и иногда S1DZ), начиная от центральной борозды по окружности полушария.

Для оценки содержания ГР на срезах проводили непрямую иммунопероксидазную реакцию с моноклональными антителами против ГР-антигена (ab. 183127, Abcam, США) в разведении 1:1000. Для визуализации продуктов реакции применяли систему детекции (ab64264, Abcam, США). Демаскировку антигенов проводили с помощью буфера с pH 9 (Dewax and HIER Buffer H, Thermo Scientific, США). Срезы изучали при помощи микроскопа AxioScopeA1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении до 400 раз.

Для подсчета клеток, имеющих ядерную локализацию ГР (объектив $\times 40$), на каждом препарате анализировали не менее 5 неперекрывающихся полей зрения площадью 5000 μm^2 . Степень выраженности иммуногистохимической реакции оценивали по визуально-аналоговой шкале, используемой в клинической практике при исследовании ядерных маркеров опухолей головного мозга (American Society of Clinical Oncology (ASCO) / College of American Pathologists, CAP). Согласно данной системе, в каждом образце рассчитывали процент ядер клеток с различной интенсивностью окраски (от 1 до 3 баллов): +++ (3 балла) – высокое содержание, ++ (2 балла) – умеренное содержание, + (1 балл) – слабое содержание, (0 баллов) – белок отсутствует. На основании данных по распространенности и интенсивности сигнала для каждого образца также был определен интегральный показатель содержания ГР. Для его расчета процент ядер, имеющих различную интенсивность окраски (показатель распространенности сигнала), умножали на 3 балла, 2 балла и 1 балл, соответственно (то есть на показатель интенсивности сигнала), затем цифры, полученные для каждого образца, суммировали.

Интегральный показатель (ИП) = $[(\% \text{ на } 0) \times 0] + [(\% \text{ на } 1+) \times 1] + [(\% \text{ на } 2+) \times 2] + [(\% \text{ на } 3+) \times 3]$ [17].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы OriginPro 8.5 (OriginLab, США). Проверку соответствия выборок закону нормального распределения оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий определяли с использованием

теста Манна–Уитни. При попарном сравнении различия считали значимыми при $p < 0,05$, при сравнении трех групп вносилась поправка Бонферрони.

Результаты

У 57% пациентов с ГЛ Gr.4 в опухоли выявлялось высокое содержание ГР (значение ИП содержания ГР составляет 200–300), у 29% умеренное (значение ИП содержания ГР составляет 100–200), а у 14% слабое содержание ГР или белок отсутствовал (значение ИП содержания ГР составляет 0–100) (рис. 1 А, 2). При попарном сравнении содержания ГР между всеми подгруппами регистрировались статистически значимые отличия: низкий–умеренный ИП $p = 0,00024$, умеренный–высокий ИП $p = 0,000000076$, низкий–высокий ИП $p = 0,000053$ (рис. 1 В). Характерно, что во всех трех подгруппах присутствовали пациенты как с мутацией в гене *IDH1* (13–21%), так и с глиомами дикого типа (79–87%).

В околоопухолевой области у пациентов с ГЛ Gr.4 подгруппы с высоким, низким и средним содержанием рецептора были представлены практически в равных долях (рис. 1 А), и между ними также имелись попарные различия (низкий–умеренный ИП $p = 0,00577$, умеренный–высокий ИП $p = 0,00336$, низкий–высокий ИП $p = 0,00797$) (рис. 1 В). Высокое содержание рецептора в околоопухолевой области по сравнению с опухолью встречалось реже, таких пациентов было 33%. Напротив, низкое содержание рецептора в околоопухолевой области по сравнению с опухолью встречалось чаще (28%). В группе сравнения преобладали пациенты с умеренным содержанием ГР (48%), при этом доля пациентов с низким содержанием ГР становилась выше, чем у пациентов с ГЛ Gr.4 с сохранением значимых различий в показателях ИП между подгруппами (низкий–умеренный ИП $p = 0,00019$, умеренный–высокий ИП $p = 0,012$, низкий–высокий ИП $p = 0,016$) (рис. 1 В).

Результаты иммуногистохимического окрашивания с использованием антител к ГР, демонстрирующие высокий, умеренный и низкий уровень ИП содержания маркера в клинических образцах, представлены на рисунке 2.

Таким образом, у пациентов с ГЛ Gr.4 в опухолевой ткани преобладало высокое содержание ГР, в околоопухолевой области все три уровня содержания (высокий, умеренный и низкий) регистрировались приблизительно с равной частотой, тогда как в ткани головного мозга, не измененной опухолевым процессом, выявлялось преимущественно умеренное содержание ГР.

В экспериментальной модели было показано, что у всех мышей линии SCID в перевитой опухоли выделялась только одна из трех подгрупп, которые регистрировались у пациентов (рис. 3 А, 4). В околоопухолевой области у животных высокое содержание ГР выявлялось значительно реже, и такая подгруппа составляла лишь 55%, при этом появлялась подгруппа

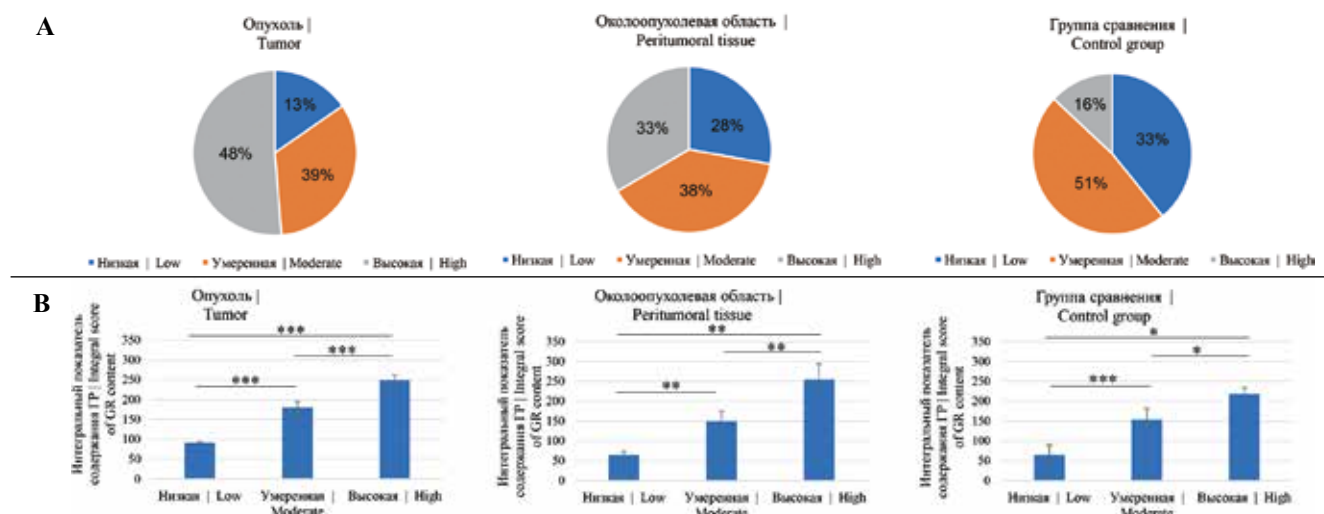


Рис. 1. Содержание ГР у пациентов с ГЛ Gr.4 и в группе сравнения. А – процентное распределение пациентов, имеющих высокое, умеренное и низкое содержание ГР в опухоли (n=51), околоопухолевой области (n=18) и группе сравнения (n=23). В – график с разбивкой пациентов на группы с ИП менее 100 (низкий), от 100 до 200 (умеренный) и от 200 до 300 (высокий) в опухоли (n=51), околоопухолевой ткани (n=18) и клиническом контроле (n=23)

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 – статистически значимые различия

Fig. 1. Glucocorticoid receptor content in patients with glioma Grade 4 and in the control group. A – the percentage of patients with high, moderate, and low glucocorticoid receptor content in the tumor tissues (n=51), peritumoral tissues (n=18), and the tissues from the control group (n=23). B – the division of patients into groups with integral score less than 100 (low), from 100 to 200 (moderate), and from 200 to 300 (high) in the tumor tissues (n=51), peritumoral tissues (n=18), and the tissues of the control group (n=23)

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 – statistically significant differences

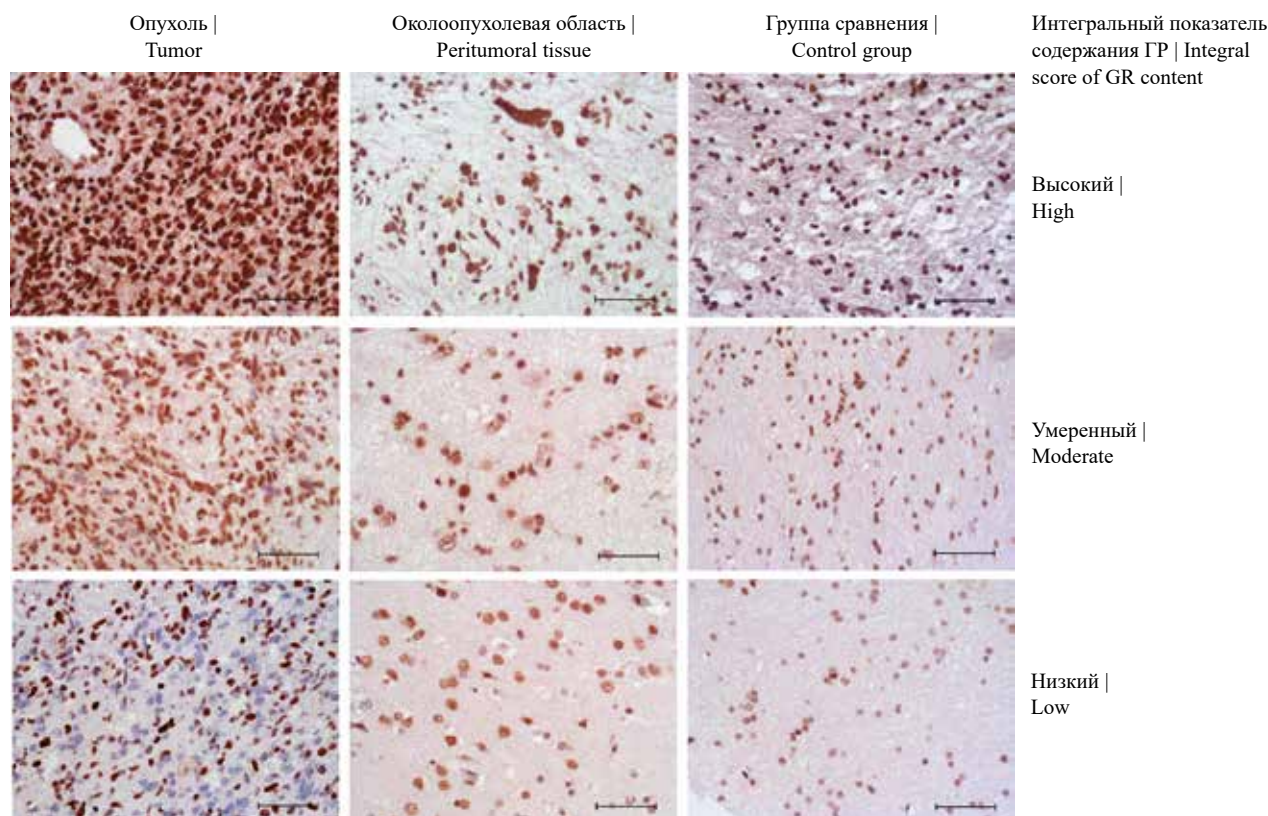


Рис. 2. Образцы опухолевой, околоопухолевой ткани пациентов с ГЛ Gr.4 и ткани головного мозга пациентов с сосудистыми мальформациями, соответствующие высокому, умеренному и низкому ИП ГР. Непрямой двухшаговый иммуногистохимический метод; докраска ядер гематоксилином. Масштабный отрезок 50 μ m

Fig. 2. Samples of glioma grade 4 tissues, peritumoral tissues, and the tissues from the control group with high, moderate, and low integral score of glucocorticoid receptor content. Indirect two-step immunohistochemical method; counterstaining with hematoxylin. Scale bar 50 μ m

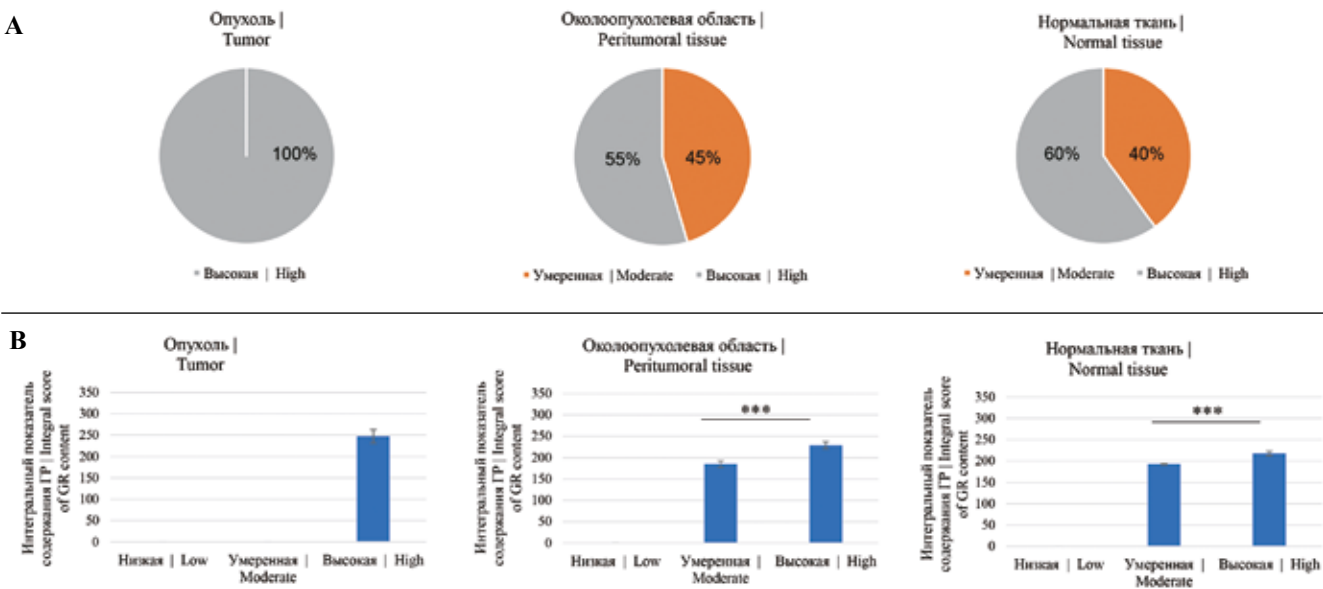


Рис. 3. Содержание ГР у мышей SCID с ортотопическими глиомами U87 и у intactных животных. А – процентное распределение мышей, имеющих высокую и умеренную экспрессию GR в опухоли (n=11), околоопухолевой ткани (n=11) и в контроле (n=15). В – график с разбивкой мышей на группы с ИП менее 100 (низкий), от 100 до 200 (умеренный) и от 200 до 300 (высокий) в опухоли (n=11), околоопухолевой ткани (n=11) и в нормальной ткани (n=15)
***p<0,01 – статистически значимые различия

Fig. 3. Glucocorticoid receptor content in the tissues of control and experimental mice
А – the percentage of mice with high, moderate, and low glucocorticoid receptor content in tumor (n=11), peritumoral (n=11), and normal tissues (n=15). В – the division of animals into groups with the integral score of glucocorticoid receptor content less than 100 (low), from 100 to 200 (moderate), and from 200 to 300 (high)
***p<0.01 – statistically significant differences

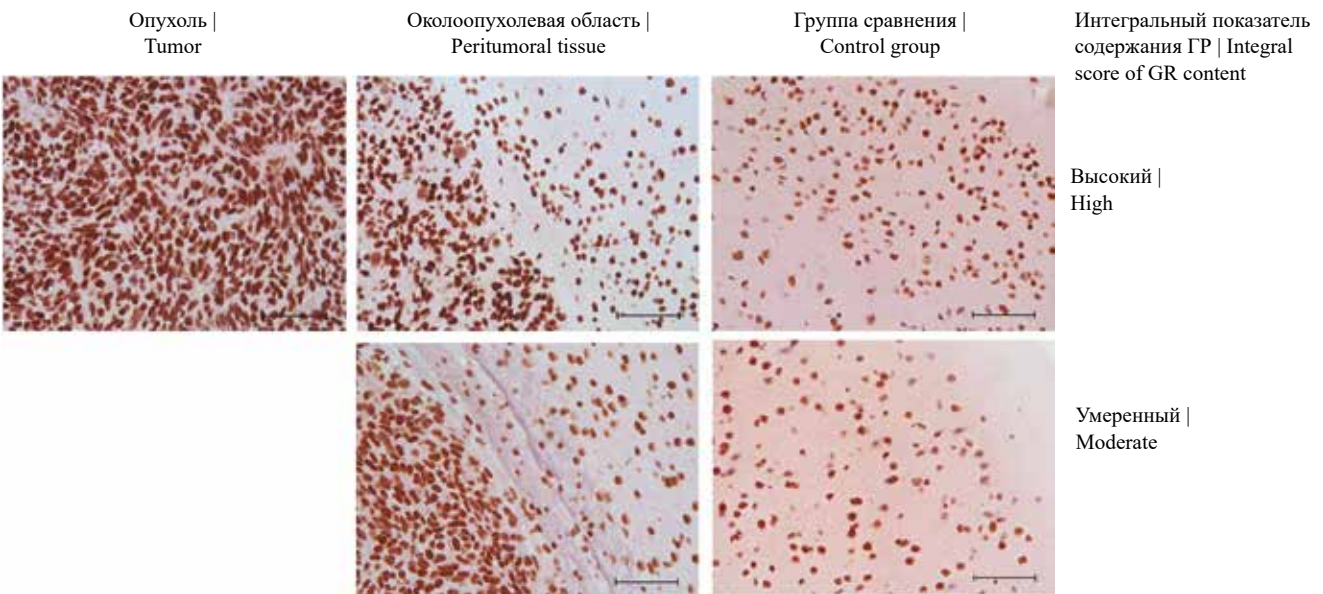


Рис. 4. Образцы опухоли, околоопухолевой ткани головного мозга у мышей линии SCID с ортотопическими глиомами U87 и ткани головного мозга intactных животных, соответствующие высокому, умеренному и низкому интегральному показателю экспрессии глюкокортикоидного рецептора. Непрямая двухшаговая иммуногистохимический метод; докраска ядер гематоксилином. Масштабный отрезок 50 μm

Fig. 4. Samples of tumor, peritumoral, and intact tissues of mice with low, moderate, and high integral score of glucocorticoid receptor content. Indirect two-step immunohistochemical method; counterstaining with hematoxylin. Scale bar 50 μm

па с умеренным содержанием маркера (45%). По ИП экспрессии ГР эти подгруппы статистически значимо отличались ($p=0,008$). У интактных мышей было показано наличие только двух подгрупп, отличающихся уровнем содержания ГР. Доля мышей, относящихся к каждой из подгрупп, не имела существенных различий при сравнении с таковой в ткани околоопухолевой области: 60% составляли животные с высоким содержанием ГР, 40% с умеренным. По ИП содержания ГР эти подгруппы животных также имели статистически значимые отличия ($p=0,0017$) (рис. 3 В).

Результаты иммуногистохимического окрашивания с использованием антител к ГР, соответствующие умеренному и высокому ИП содержания ГР, у экспериментальных животных представлены на рисунке 4.

У мышей линии SCID с ортотопическими глиомами U87 в опухолевой ткани выявлялось исключительно высокое содержание ГР у всех животных, тогда как в околоопухолевой области и нормальной ткани подгруппы с умеренным и высоким уровнем содержания ГР присутствовали практически в равных долях.

Обсуждение

В нашем исследовании установлено, что у пациентов с ГЛ Gr.4 уровень содержания ГР является индивидуальным и можно выделить подгруппы с различным базовым содержанием белка.

Попытки иммуногистохимической оценки экспрессии ГР в глиомах предпринимались и ранее, но были немногочисленными и выполненными на ограниченной выборке пациентов ($n=8$) [17]. Однако даже в сравнительно малочисленной группе пациентов отмечали межопухолевую гетерогенность и преимущественно высокий уровень содержания ГР (ИП=3). Эти данные совпадают с результатами нашей работы, позволившей на репрезентативной выборке не только подтвердить разницу в содержании ГР у пациентов с ГЛ Gr.4, но и выявить подгруппы, статистически значимо отличающиеся друг от друга по ИП (с высоким, умеренным и низким уровнем ГР). Преобладание в проанализированных клинических образцах высокого содержания ГР с ИП выше 200 также согласуется с выводами предыдущего исследования [17].

В отличие от клинического материала пациентов в опухолях экспериментальных животных регистрировался лишь высокий уровень содержания маркера. Это может объясняться тем, что в эксперименте для получения опухолей животным вводили только одну клеточную линию глиомы U87, а глиомы пациентов являются морфологически гетерогенными и мультиформными. Характерно, что у мышей низкое содержание ГР не выявлялось ни в околоопухолевой, ни в нормальной ткани головного мозга, что отличает их от пациентов и что может быть видовой особенностью данных животных. Таким образом, пациентам с ГЛ Gr.4 свойственна более высокая гетерогенность содержания ГР по сравнению с экспериментальными животными,

что предположительно может быть обусловлено влиянием более гетерогенного микроокружения.

Работы, посвященные изучению характера экспрессии ГР в головном мозге, не измененном опухолевым процессом, также немногочисленны. Методом иммуногистохимии продемонстрировано, что общая интенсивность иммунореактивности ГР в головном мозге была самой высокой в перинатальном периоде, снижалась до низкой интенсивности примерно к 12-му дню постнатального периода, а затем снова постепенно увеличивалась до умеренного окрашивания в большинстве областей мозга [18]. Также удалось установить, что и в нормальной нервной ткани имеет место внутривидовая гетерогенность содержания ГР, в том числе зависящая от возраста и стадии онтогенеза [19]. Результаты, полученные в нашей работе, свидетельствуют о наличии гетерогенного содержания ГР и у линейных мышей одного возраста, что дополняет данные литературы.

Для того чтобы изучить особенности экспрессии ГР в связи с развитием глиальной опухоли, у пациентов с ГЛ Gr.4 и у экспериментальных животных распределение рецептора было также изучено в околоопухолевой ткани и ткани, не измененной опухолевым процессом. Проведенное исследование показало, что в клинике в условном ряду опухоль–околоопухолевая ткань–клинический контроль снижаются доли пациентов, характеризующихся высоким уровнем содержания ГР в головном мозге. У животных при анализе экспериментальных опухолей, околоопухолевой и нормальной ткани головного мозга наблюдалась похожая динамика: снижение содержания ГР в головном мозге по мере уменьшения в исследованных образцах количества опухолевых клеток. Таким образом, можно предположить, что трансформация нервной ткани, сопряженная с опухолевым процессом, сопровождается повышением содержания ГР.

Совокупность полученных данных создает предпосылки для поиска путей использования особенностей содержания ГР в ГЛ Gr.4 в клинических целях. Так, у пациентов с высоким ИП содержания ГР в опухоли можно ожидать лучший ответ на терапию дексаметазоном, чем у пациентов с низким уровнем содержания рецептора. Нельзя оставлять без внимания и тот факт, что глюкокортикоиды воздействуют не только на опухоль, но и на ткань головного мозга, не измененную опухолевым процессом. Ранее было показано, что даже однократное введение дексаметазона в дозировке 2,5 мг/кг мышам вызывало очаговые изменения тинкториальных свойств ядер и цитоплазмы нейронов, а также перичеселлюлярный и периваскулярный отек, а при многократном введении препарата эффект на морфологию префронтальной коры оказался более выраженным [20]. Можно предположить, что у пациентов с низким уровнем содержания ГР противоотечное действие глюкокортикоидных препаратов может быть снижено при одновременной инициации нарушений

в окружающей опухоль ткани. Поскольку в настоящее время четкие клинические рекомендации по назначению дексаметазона и корректировке его дозы отсутствуют, иммуногистохимическая оценка содержания ГР в операционных биоптатах пациентов с ГЛ Gr.4 может стать одним из потенциальных инструментов, позволяющих клиницистам предположить эффективность ответа на терапию глюкокортикоидами в послеоперационном периоде.

Заключение

У пациентов с глиомами высокой степени злокачественности Grade 4 зарегистрировано гетерогенное содержание глюкокортикоидного рецептора, характеризующееся наличием трех подгрупп, разных по уровню содержания глюкокортикоидного рецептора с преобладанием высокого. В ортотопических экспериментальных глиомах U87 мышей линии SCID выявляется только высокое содержание глюкокортикоидного рецептора. Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что высокое содержание глюкокортикоидного рецептора может быть обусловлено самим фактом злокачественного роста опухоли в головном мозге, при котором клетки претерпевают генетические, эпигенетические, транскрипционные и фенотипические изменения.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.В. Строкотова, Г.М. Казанская, А.М. Волков.
Сбор и обработка материала – А.М. Волков, Р.С. Киселев, Д.В. Костромская, С.Д. Аладьев, Е.Э. Кливер.
Написание текста – Г.М. Казанская, А.В. Строкотова.
Редактирование – Г.М. Казанская, А.М. Волков, С.В. Айдагулова, Э.В. Григорьева.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.V. Strokotova, G.M. Kazanskaya, A.M. Volkov.
Collected the data and performed the analysis – A.M. Volkov, R.S. Kiselev, D.V. Kostromskaya, S.D. Aladev, E.E. Kliver.
Wrote the paper – G.M. Kazanskaya, A.V. Strokotova.
Edited the manuscript – G.M. Kazanskaya, A.M. Volkov, S.V. Aidagulova, E.V. Grigorieva.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Cruz JVR, Batista C, Afonso BH, Alexandre-Moreira MS, Dubois LG, Pontes B et al. Obstacles to glioblastoma treatment two decades after temozolomide. *Cancers (Basel)*. 2022;14(13):3203. DOI: 10.3390/cancers14133203.
2. Nikitin PV, Ryzhova MV, Potapov AA, Galstyan SA, Kim DS, Panina TN et al. Intratumoral molecular genetic heterogeneity of glioblastomas. *Clinical and experimental morphology*. 2020;9(4):5–11. DOI: 10.31088/CEM2020.9.4.5-11.
3. Reuss DE. Updates on the WHO diagnosis of IDH-mutant glioma. *J Neurooncol*. 2023;162(3):461–9. DOI: 10.1007/s11060-023-04250-5.
4. Targeted glioma therapy makes strides. *Nat Biotechnol*. 2023;41(7):884. DOI: 10.1038/s41587-023-01869-7.
5. Bouffet E, Hansford JR, Garré ML, Hara J, Plant-Fox A, Aerts I et al. Dabrafenib plus trametinib in pediatric glioma with *BRAF* V600 mutations. *N Engl J Med*. 2023;389(12):1108–20. DOI: 10.1056/NEJMoa2303815.
6. Мацко Д.Е., Мацко М.В., Бакшеева А.О., Имянитов Е.Н., Улитин А.Ю., Моисеенко В.М. и др. Внутритропулевая морфологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность в астроцитомах разной степени злокачественности в материале от первой операции. *Сибирский онкологический журнал*. 2021;20(6):55–68. DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-6-55-68. Matsko DE, Matsko MV, Baksheeva AO, Imyaninov EN, Ulitin AY, Moiseenko VM et al. Intratumor morphologic and molecular genetic heterogeneity in astrocytomas of different grade of malignancy in the material from the first operation. *Siberian Journal of Oncology*. 2021;20(6):55–68 (In Russ.). DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-6-55-68.
7. Perrin SL, Samuel MS, Koszyca B, Brown MP, Ebert LM, Oksdath M et al. Glioblastoma heterogeneity and the tumour microenvironment: implications for preclinical research and development of new treatments. *Biochem Soc Trans*. 2019;47(2):625–38. DOI: 10.1042/BST20180444.
8. Chen HM, Nikolic A, Singhal D, Gallo M. Roles of chromatin remodelling and molecular heterogeneity in therapy resistance in glioblastoma. *Cancers (Basel)*. 2022;14(19):4942. DOI: 10.3390/cancers14194942.
9. Cantidio FS, Gil GOB, Queiroz IN, Regalin M. Glioblastoma – treatment and obstacles. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2022;27(4):744–53. DOI: 10.5603/RPOR.a2022.0076.
10. Wang Q, Lin W, Liu T, Hu J, Zhu Y. Immunological classification of glioblastoma and its prognostic implications. *Am J Transl Res*. 2022;14(11):8009–22. PMID: 36505340.
11. Hoogstrate Y, Draaisma K, Ghisai SA, van Hijfte L, Barin N, de Heer I et al. Transcriptome analysis reveals tumor microenvironment changes in glioblastoma. *Cancer Cell*. 2023;41(4):678–92.e7. DOI: 10.1016/j.ccell.2023.02.019.
12. Kellendonk C, Gass P, Kretz O, Schütz G, Tronche F. Corticosteroid receptors in the brain: gene targeting studies. *Brain Res Bull*. 2002;57(1):73–83. DOI: 10.1016/s0361-9230(01)00638-4.
13. Sundahl N, Clarisse D, Bracke M, Offner F, Berghe WV, Beck IM. Selective glucocorticoid receptor-activating adjuvant therapy in cancer treatments. *Oncoscience*. 2016;3(7-8):188–202. DOI: 10.18632/oncoscience.315.
14. Keenan CR, Lew MJ, Stewart AG. Biased signalling from the glucocorticoid receptor: renewed opportunity for tailoring glucocorticoid activity. *Biochem Pharmacol*. 2016;112:6–12. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.02.008.
15. Carroll RS, Zhang J, Dashner K, Sar M, Black PM. Steroid hormone receptors in astrocytic neoplasms. *Neurosurgery*. 1995;37(3):496–503; discussion 503–4. DOI: 10.1227/00006123-199509000-00019.
16. Tsidulko AY, Shevelev OB, Khotiskina AS, Kolpakova MA, Suhovskih AV, Kazanskaya GM et al. Chemotherapy-induced degradation of glycosylated components of the brain extracellular matrix promotes glioblastoma relapse development in an animal model. *Front Oncol*. 2021;11:713139. DOI: 10.3389/fonc.2021.713139.

17. Block TS, Murphy TI, Munster PN, Nguyen DP, Lynch FJ. Glucocorticoid receptor expression in 20 solid tumor types using immunohistochemistry assay. *Cancer Manag Res.* 2017;9:65–72. DOI: 10.2147/CMAR.S124475.
18. Kawata M. Roles of steroid hormones and their receptors in structural organization in the nervous system. *Neurosci Res.* 1995;24(1):1–46. DOI: 10.1016/0168-0102(96)81278-8.
19. Pryce CR. Postnatal ontogeny of expression of the corticosteroid receptor genes in mammalian brains: inter-species and intra-species differences. *Brain Res Rev.* 2008;57(2):596–605. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2007.08.005.
20. Соколов Д.К., Казанская Г.М., Волков А.М., Строкотова А.В., Кливер Е.Э., Григорьева Э.В. и др. Гистологические и иммуногистохимические изменения префронтальной коры головного мозга мышей под действием дексаметазона. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2024;13(3): 61–69. DOI: 10.31088/CEM2024.13.3.61-69.
Sokolov DK, Kazanskaya GM, Volkov AM, Strokotova AV, Kliver EE, Grigorieva EV et al. Histological and immunohistochemical changes in mouse prefrontal cortex exposed to dexamethasone. *Clinical and experimental morphology.* 2024;13(3):61–69 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.3.61-69.

Информация об авторах

Галина Михайловна Казанская – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории гликобиологии НИИ молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ.

Александр Михайлович Волков – доктор медицинских наук, врач-патологоанатом НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина.

Роман Сергеевич Киселев – кандидат медицинских наук, заведующий научно-исследовательским отделом ангионеврологии и нейрохирургии НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина.

Диана Владимировна Костромская – кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина.

Станислав Дмитриевич Аладьев – младший научный сотрудник лаборатории гликобиологии НИИ молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ.

Евгений Эдуардович Кливер – доктор медицинских наук, заведующий патологоанатомическим отделением НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина, профессор кафедры патологической анатомии Новосибирского государственного медицинского университета.

Светлана Владимировна Айдагулова – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории гликобиологии НИИ молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ, заведующая лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции центральной научно-исследовательской лаборатории Новосибирского государственного медицинского университета.

Эльвира Витальевна Григорьева – доктор биологических наук, заведующая лабораторией гликобиологии НИИ молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ, доцент кафедры клинической биохимии факультета медицины и психологии В. Зельмана Новосибирского государственного университета.

Анастасия Владимировна Строкотова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории гликобиологии НИИ молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ, старший преподаватель кафедры молекулярной биологии и биотехнологии факультета естественных наук Новосибирского государственного университета.

Author information

Galina M. Kazanskaya – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0003-2598-1805>

Alexander M. Volkov – Dr. Sci. (Med.), Pathologist, E.N. Meshalkin National Medical Research Center.

<https://orcid.org/0000-0001-9697-7091>

Roman S. Kiselev – Cand. Sci. (Med.), Head of Research Department of Angioneurology and Neurosurgery, E.N. Meshalkin National Medical Research Center.

<https://orcid.org/0000-0001-5110-8378>

Diana V. Kostromskaya – Cand. Sci. (Med.), Pathologist, E.N. Meshalkin National Medical Research Center.

<https://orcid.org/0009-0004-3991-5336>

Stanislav D. Aladev – Junior Researcher, Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.

<https://orcid.org/0000-0001-5883-4831>

Evgeniy E. Kliver – Dr. Sci. (Med.), Head of Pathology Department, E.N. Meshalkin National Medical Research Center; Professor, Pathological Anatomy Department, Novosibirsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0002-3915-3616>

Svetlana V. Aidagulova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine; Head of the Laboratory of Cellular Biology and Fundamentals of Reproduction, Central Scientific Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-7124-1969>

Elvira V. Grigorieva – Dr. Sci. (Biol.), Head of Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine; Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, V. Zelman Faculty of Medicine and Psychology, Novosibirsk State University.

<https://orcid.org/0000-0003-2457-9179>

Anastasia V. Strokotova – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Glycobiology, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine; Senior Lecturer, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Faculty of Natural Sciences, Novosibirsk State University.

<https://orcid.org/0000-0001-5336-8552>