

## РЕЦЕПТОР КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ RAGE В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ КОСТЕЙ

### **И.В. Бабкина**

д.м.н., профессор, лаборатория клинической биохимии,  
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)  
E-mail: biochimia@yandex.ru

### **Ю.С. Тимофеев**

к.м.н., ассистент кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики,  
Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (Москва)

### **Ю.Н. Соловьев**

д.м.н., профессор, академик РАН, гл. науч. сотрудник, отдел патологической анатомии человека,  
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

### **И.В. Булычева**

д.м.н., врач-патологоанатом, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

### **М.Д. Алиев**

д.м.н., профессор, академик РАН, руководитель отдела общей онкологии,  
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

### **Н.Е. Кушлинский**

д.н.м., профессор, член-корреспондент РАН, руководитель лаборатории клинической биохимии,  
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

Проведен сравнительный анализ содержания RAGE в сыворотке крови 115 пациентов с опухолями костей. У всех пациентов диагноз установлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли. Концентрацию RAGE определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом реактивами фирмы «R&D» (США) у больных до начала специфического лечения. В сыворотке крови практически здоровых людей среднее содержание RAGE составило  $1632,4 \pm 105,7$  пг/мл и было достоверно выше, чем у больных злокачественными  $1315,9 \pm 85,1$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) и пограничными опухолями костей  $1285,8 \pm 115,2$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). При доброкачественных новообразованиях костей средний уровень RAGE был равен  $1513,6 \pm 107,9$  пг/мл и его достоверные отличия отмечены только при сравнении с таковым показателем у больных злокачественными новообразованиями костей ( $p < 0,05$ ). Среднее содержание RAGE при остеосаркоме достоверно выше, чем при хондросаркоме ( $p < 0,05$ ). При низкодифференцированных опухолях костей урони RAGE в сыворотке крови больных были достоверно выше, чем при высокодифференцированных ( $p < 0,05$ ), при поражениях трубчатых костей достоверно выше, чем при поражении плоских костей ( $p < 0,05$ ). Не выявлено достоверных отличий в уровнях RAGE в сыворотке крови с учетом пола больных и практически здоровых людей группы контроля. У пациентов с новообразованиями костей отмечена обратная зависимость между возрастом и содержанием RAGE в сыворотке крови ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,001$ ). Отличия в экспрессии RAGE между больными опухолями костей и практически здоровыми людьми могут иметь связь с патогенетическими изменениями, связанными с ростом сарком костей. Определение RAGE может служить предметом дальнейших исследований по изучению его роли в прогнозе злокачественных опухолей костей.

**Ключевые слова:** RAGE, сыворотка крови, опухоли костей.

Гликирование, или неферментативное гликозилирование, с химической точки зрения – это реакция между восстанавливающей (открытой) формой моносахарида, чаще глюкозы или фруктозы, и аминоклассами белков, в результате чего образуются так называемые конечные продукты гликирования (КПГ). Считается, что гликирование является основной причиной спонтанного нарушения структуры внутриклеточных и внеклеточных белков и приводит к изменениям процессов метаболизма. Ранее полагали, что КПГ медленно накапливаются в организме в течение всей жизни,

однако это утверждение оказалось справедливым только в отношении химически стабильных КПГ – из долгоживущих белков. Большинство КПГ имеют относительно короткий период полураспада (2–6 недель) и могут формироваться как из внутриклеточных, так и внеклеточных короткоживущих белков.

Известно три класса рецепторов КПГ: RAGE; OST-48/80KH/GALECTIN-3; рецептор класса А – для утилизации конечных продуктов обмена веществ (class A scavenger receptor) [1]. В настоящем исследовании авторы уделили внимание рецепто-

ру RAGE – трансмембранному белку 1-го типа, семейства иммуноглобулинов, который состоит из внеклеточного участка, гидрофобного трансмембранного домена и короткого цитоплазматического участка. При этом известно, что активацию процессов с участием RAGE индуцирует ядерный транскрипционный фактор NF-κB [2].

Экспрессировать RAGE способны многие клетки: миоциты, фибробласты, остеобласты и остеокласты [1, 3]. RAGE принимает участие в процессах дифференцировки и активации остеокластов и поэтому отдельные исследователи характеризуют его как модулятор некоторых процессов в костной ткани [4]; этот рецептор ингибирует дифференцировку хондроцитов [1].

Взаимодействие КПП с рецептором RAGE считают одним из звеньев патогенеза хронических осложнений сахарного диабета, поэтому большинство клинических исследований по изучению RAGE проведено у пациентов именно с этой патологией [5]. В числе осложнений сахарного диабета известны не только почечная недостаточность, но и изменения костной ткани, в частности остеопения. T.L.Willett и соавт., (2014) продемонстрировали, что КПП самостоятельно принимают участие в процессах деградации коллагена, а в комплексе с RAGE стимулируют резорбцию и препятствуют образованию костной ткани, что способствует развитию остеопороза у женщин в менопаузальном периоде [6].

Экспериментальные исследования показали, что с RAGE могут связывать не только КПП, но и другие лиганды – биологически активные вещества, образующиеся в результате оксидативного стресса; белки, экспрессирующиеся как опухолевыми, так и неопухолевыми клетками. Обсуждается также роль RAGE в ангиогенезе и прогрессировании опухолей различных локализаций [7]. В клиническом исследовании, которое включало обследование 229 пациентов меланомой, отметили корреляцию между снижением содержания RAGE в сыворотке крови и неблагоприятным прогнозом заболевания [8]. D.C. Zhao и соавт. (2015) полагают, что изучение полиморфизма гена RAGE может иметь прогностическое значение в определении риска возникновения злокачественных опухолей, в первую очередь – рака легкого и молочной железы [9].

Одними из первых экспериментальные исследования по изучению RAGE в опухолях костей провели исследователи из Аргентины, которые обнаружили, что внеклеточные КПП могут непо-

средственно регулировать рост и развитие клеток остеосаркомы крыс UMR106 и остеобластов линии клеток опухолей свода черепа мышей – MC3T3E1 на разных этапах развития (пролиферации, дифференцировки, минерализации) путем взаимодействия с рецептором RAGE. Позже этими же исследователями было показано, что в зрелых остеобластах экспрессия RAGE клетками зависит от количества КПП, а регуляция экспрессии RAGE находится под контролем сигнального пути ERK (extracellular signal-regulated kinase) [10].

Поскольку КПП накапливаются в условиях высокого содержания глюкозы и изменяют процессы заживления повреждений костей, изучали влияние КПП на процессы апоптоза в остеобластах крыс *in vitro*, культивируемых в условиях высокого уровня глюкозы. Выявили увеличение продукции КПП, усиление активации сигнального пути каспазы-3 и увеличение апоптоза в культивируемых остеобластах крыс. После добавления в культуральную среду растворимого рецептора sRAGE (ингибитора КПП) авторы отмечали снижение количества КПП [11]. Результаты клинических исследований по изучению содержания RAGE у больных опухолями костей в доступной нам литературе не встретились.

Цель исследования – сравнительный иммуноферментный анализ содержания рецептора конечных продуктов гликирования (RAGE) в сыворотке крови больных опухолями костей и практически здоровых людей соответствующего возраста.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовали три группы больных (всего 115 пациентов) с опухолями костей: злокачественные опухоли (саркомы) – 63 (остеосаркома – 18, хондросаркома – 38, саркома Юинга – 4, недифференцированная плеоморфная саркома – 1, хордома – 2); пограничные (гигантоклеточная опухоль кости – ГКО) – 26; доброкачественные новообразования и опухолеподобные поражения костей – 26. Среди них 64 мужчины и 51 женщина в возрасте от 16 до 75 лет. В контрольную группу включили 40 практически здоровых людей (18 мужчин и 22 женщины) соответствующего возраста. У всех пациентов диагноз новообразования кости установлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли [12]. Концентрацию RAGE определяли исходно (до начала специфического лечения больных) иммуноферментным методом

реактивами фирмы «R&D» (США) в сыворотке крови.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В сыворотке крови практически здоровых людей показатели уровней RAGE колебались в широких пределах от 594,8 до 2951,6 пг/мл, а среднее содержание маркера составило  $1632,4 \pm 105,7$  пг/мл и было достоверно выше, чем у больных злокачественными ( $1315,9 \pm 85,1$  пг/мл;  $p < 0,05$ ) и пограничными ( $1285,8 \pm 115,2$  пг/мл;  $p < 0,05$ ) опухолями костей (табл. 1).

При доброкачественных новообразованиях костей средний уровень RAGE был равен  $1513,6 \pm 107,9$  пг/мл и достоверно отличался только в сравнении с данным показателем у больных злокачественными новообразованиями костей ( $p < 0,05$ ).

Следует отметить, что у больных злокачественными опухолями костей наиболее часто диагностировали хондросаркому (38) и остеосаркому (18). Среднее содержание RAGE при остеосаркоме составило  $1599,1 \pm 155,4$  пг/мл и было достоверно выше, чем при хондросаркоме ( $1067,4 \pm 82,2$  пг/мл;  $p < 0,05$ ). При этом у больных хондросаркомой среднее содержания RAGE в сыворотке крови было до-

стоверно ниже, чем у пациентов с доброкачественными новообразованиями костей и практически здоровыми людьми контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

При гистологическом исследовании удаленных опухолей у 49 пациентов была возможность определить степень их дифференцировки. Низкодифференцированные опухоли выявили у 12 пациентов, высокодифференцированные – у 37. Среднее содержание RAGE в сыворотке крови больных при низкодифференцированных опухолях кости было достоверно выше, чем при высокодифференцированных соответственно  $1524,7 \pm 216,9$  и  $1040,2 \pm 79,1$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

Следующим этапом исследования было изучение содержания RAGE в сыворотке крови пациентов с учетом типа пораженной кости. Опухоль в трубчатых костях выявили у 78 больных, в губчатых – у 16, в плоских – у 21. Среднее содержание RAGE при поражениях трубчатых костей составило  $1444,3 \pm 74,8$  пг/мл (медиана 1362,1 пг/мл), при поражении губчатых –  $1257,9 \pm 157,9$  пг/мл (медиана 1198,4 пг/мл), плоских –  $1110,5 \pm 82,2$  пг/мл (медиана 1049,3 пг/мл). Достоверные отличия в показателях RAGE выявлены между больными опухолями трубчатых и плоских костей ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 1. Содержание RAGE в сыворотке крови больных новообразованиями костей, пг/мл**

Группа (число наблюдений)	Пределы колебаний	Среднее содержание ( $M \pm m$ )	Нижний квартиль (Q25)	Медиана	Верхний квартиль (Q75)
Контроль (40)	594,8–2951,6	$1632,4 \pm 105,7^1$	1056,9	1580,2	2060,9
Доброкачественные новообразования костей (26)	443,1–2822,4	$1513,6 \pm 107,9^2$	1090,6	1432,6	1802,5
Пограничные новообразования костей (ГКО) (26)	496,6–2577,7	$1285,8 \pm 115,2^3$	861,9	1121,8	1506,9
Злокачественные новообразования костей (63)	434,1–3354,9	$1315,9 \pm 85,1^4$	783,1	1131,2	1699,2
Остеосаркома (18)	602,3–3179,8	$1599,1 \pm 155,4^5$	1081,4	1570,6	1872,0
Хондросаркома (38)	434,1–2626,9	$1067,4 \pm 82,2^6$	715,1	909,6	1311,2

Примечание:  $p_{1vs3} < 0,05$ ;  $p_{1vs4} < 0,05$ ;  $p_{2vs4} < 0,05$ ;  $p_{2vs6} < 0,05$ ;  $p_{5vs6} < 0,05$ .

**Таблица 2. Содержание RAGE в сыворотке крови больных новообразованиями костей с учетом возраста**

Возраст, годы	Контроль			Новообразования костей		
	<i>n</i>	Пределы колебаний, пг/мл	Среднее содержание ( $M \pm m$ ), пг/мл	<i>n</i>	Пределы колебаний, пг/мл	Среднее содержание ( $M \pm m$ ), пг/мл
< 20	1	2595,2	2595,2	12	602,3–2776,0	$1783,3 \pm 197,8^3$
20–30	9	1090,7–2885,6	$1933,4 \pm 191,5^1$	26	443,1–3179,9	$1686,5 \pm 142,1^4$
31–40	3	1023,1–2074,7	$1513,9 \pm 305,6$	22	604,8–1872,0	$1278,5 \pm 76,7^5$
41–50	2	2224,3 и 2683,1	2224,3 и 2683,1	16	471,2–3354,9	$1167,8 \pm 172,6^6$
> 50	25	594,8–2951,6	$1434,1 \pm 129,1^2$	39	434,1–2536,7	$1114,9 \pm 78,9^7$

Примечание:  $p_{1vs2} < 0,05$ ;  $p_{3vs5} < 0,05$ ;  $p_{3vs6} < 0,05$ ;  $p_{3vs7} < 0,05$ ;  $p_{4vs5} < 0,05$ ;  $p_{4vs6} < 0,05$ ;  $p_{6vs7} < 0,05$ ; *n* – число наблюдений.

Не обнаружено достоверных отличий в уровнях RAGE в сыворотке крови с учетом пола больных и практически здоровых людей.

Корреляционный анализ не выявил взаимосвязи между возрастом практически здоровых людей и содержанием RAGE в сыворотке крови. У пациентов с новообразованиями костей отмечена достоверная обратная зависимость между возрастом и содержанием RAGE в сыворотке крови ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,001$ ). Для более детального анализа уровней RAGE в сыворотке крови с учетом возраста всех больных и практически здоровых людей разделили на пять групп. В первую группу включили людей (отдельно больных и здоровых) в возрасте до 20 лет, во вторую – от 20 до 30 лет, в третью – от 31 до 40 лет, в четвертую – от 41 до 50 лет, в пятую – старше 50 лет. Пределы колебаний и среднее содержание RAGE в указанных группах представлены в табл. 2.

Максимальные показатели RAGE в сыворотке крови практически здоровых людей контрольной группы выявлены в возрасте до 20 лет (1 человек – 2595,2 пг/мл) и от 41 до 50 лет (2 человека – 2224,3 и 2683,1 пг/мл). При этом у практически здоровых людей в возрасте от 20 до 30 лет уровни RAGE в сыворотке крови были достоверно выше, чем у пациентов старше 50 лет ( $p < 0,05$ ).

У больных новообразованиями костей отмечено достоверное снижение средних уровней RAGE в сыворотке крови с увеличением возраста ( $p < 0,05$ ). Минимальные уровни маркера выявлены у пациентов старше 50 лет, максимальные – в возрасте до 30 лет (табл. 2).

В настоящем исследовании наиболее многочисленной была группа больных хондросаркомой ( $n = 38$ ), которую чаще диагностируют в третьем и четвертом десятилетиях жизни, при этом пациентов в возрасте до 20 лет в этой группе не было. Анализ уровней RAGE у больных хондросаркомой показал, что показатели маркера снижались с возрастом (как и в общей группе пациентов). Максимальные значения RAGE отмечены у больных в возрасте от 21 до 30 лет, минимальные – у больных старше 50 лет. В группе старше 50 лет был 21 пациент с хондросаркомой, что позволило провести корректное сравнение уровней RAGE с контрольной группой, состоящей из 25 человек соответствующего возраста. При хондросаркоме средний уровень RAGE был достоверно ниже, чем у практически здоровых людей соответствующего

возраста и составил  $1002,9 \pm 103,5$  и  $1434,1 \pm 129,1$  пг/мл соответственно ( $p < 0,05$ ).

## ВЫВОДЫ

1. Исходные (до лечения) уровни RAGE в сыворотке крови больных злокачественными и пограничными опухолями костей (гигантоклеточная опухоль кости) достоверно ниже, чем у практически здоровых людей соответствующего возраста.
2. При поражении трубчатых костей содержание RAGE в сыворотке крови больных новообразованиями костей достоверно выше, чем при поражении плоских костей.
3. При низкодифференцированных саркомах костей среднее содержание RAGE в сыворотке крови пациентов достоверно выше, чем при высокодифференцированных.
4. Минимальные показатели RAGE выявлены в сыворотке крови больных хондросаркомой кости в возрасте старше 50 лет.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kosaka T., Fukui R., Matsui M., Kurosaka Y., Nishimura H., Tanabe M., Takakura Y., Iwai K., Waki T., Fujita T. RAGE, receptor of advanced glycation endproducts, negatively regulates chondrocytes differentiation // PLoS One. 2014. V. 9. № 9. e.108819. 9(9):e108819.
2. Lin L. RAGE on the Toll Road? // Cell Mol. Immunol. 2006. V. 3. № 5. P. 351–358.
3. Franke S., Rüster C., Pester J., Hofmann G., Oelzner P., Wolf G. Advanced glycation end products affect growth and function of osteoblasts // Clin. Exp. Rheumatol. 2011. V. 29. № 4. P. 650–660.
4. Zhou Z., Immel D., Xi C.X., Bierhaus A., Feng X., Mei L., Nawroth P., Stern D.M., Xiong W.C. Regulation of osteoclast function and bone mass by RAGE // J. Exp. Med. 2006. V. 203. № 4. P. 1067–1080.
5. Wong F.N., Tan J.A., Keng T.C., Ng K.P., Chua K.H., Kuppusamy U.R. Association between plasma soluble RAGE and renal function is unaffected by medication usage and enzymatic antioxidants in chronic kidney disease with type 2 diabetes // Clin. Chim. Acta. 2016. V. 453. P. 56–61.
6. Willett T.L., Pasquale J., Grynopas M.D. Collagen modifications in postmenopausal osteoporosis: advanced glycation endproducts may affect bonevolume, structure and quality // Curr. Osteoporos. Rep. 2014. V. 12. № 3. P. 329–337.
7. Malik P., Chaudhry N., Mittal R., Mukherjee T.K. Role of receptor for advanced glycation end products in the complication and progression of various types of cancers // Biochim. Biophys. Acta. 2015. V. 1850. № 9. P. 1898–1904.
8. Wagner N.B., Weide B., Reith M., Tarnanidis K., Kehrel C., Lichtenberger R., Pflugfelder A., Herpel E., Eubel J., Ikenberg K., Busch C., Holland-Letz T., Naehrer H., Garbe C., Umansky V., Enk A., Utikal J., Gebhardt C. Diminished levels of the soluble form of RAGE are related to poor sur-

- vival in malignant melanoma // Int. J. Cancer. 2015. V. 137. № 11. P. 2607–2617.
9. Zhao D.C., Lu H.W., Huang Z.H. Association between the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms and cancer risk: a systematic review and meta-analysis // J. BUON. 2015. V. 20. № 2. P. 614–624.
  10. Cortizo A.M., Lettieri M.G., Barrio D.A., Mercer N., Etcheverry S.B., McCarthy A.D. Advanced glycation end-products (AGEs) induce concerted changes in the osteoblastic expression of their receptor RAGE and in the activation of extracellular signal-regulated kinases (ERK) // Mol. Cell Biochem. 2003. V. 250. № 1–2. P. 1–10.
  11. Liu J., Mao J., Jiang Y., Xia L., Mao L., Wu Y., Ma P., Fang B. AGEs Induce Apoptosis in Rat Osteoblast Cells by Activating the Caspase-3 Signaling Pathway Under a High-Glucose Environment In Vitro // Appl. Biochem. Biotechnol. 2015. V. 178. № 5. P. 1015–1027.
  12. Булычева И.В. Молекулярно-биологические маркеры в диагностике, определении прогноза и выборе терапии при опухолях костей // Молекулярная медицина. 2015. № 2. С.40–43. (Boulycheva I.V. Molecular markers as a diagnostic tool and prognostic factor in bone tumor pathology // Molecular medicine. 2015. № 2. P. 40–43. [In Russia])

Поступила 17 декабря 2016 г.

## RECEPTOR FOR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS RAGE IN THE SERUM OF BONE TUMORS PATIENTS

© Authors, 2017

### I.V. Babkina

Dr.Sc. (Med.), Professor, Laboratory of Clinical Biochemistry, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow)  
E-mail: biochimia@yandex.ru

### Y.S. Timofeev

Ph.D. (Med.), Assistant, Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov

### Yu.N. Soloviev

Dr.Sc. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Research Scientist, Department of Pathological Anatomy, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow)

### I.V. Bulycheva

Dr.Sc. (Med.), Surgical Pathologist, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow)

### M.D. Aliyev

Dr.Sc. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of Department General Oncology, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow)

### N.E. Kushlinskii

Dr.Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Clinical Biochemistry Laboratory, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Moscow)

**Background.** Advanced glycation end products (AGEs) is a major cause of spontaneous breaking of the structure of intracellular and extracellular proteins and leads to changes in metabolic processes. One of the AGEs receptors – RAGE (receptor for advanced glycation end products) – transmembrane protein type 1 immunoglobulin family. The experimental studies have shown that extracellular AGE can directly regulate the growth and development of rats osteosarcoma cells. The results of clinical studies RAGE in patients with bone tumors in the available literature are absent.

**Aim.** To compare baseline serum RAGE in patients with malignant, borderline and benign bone tumors.

**Material and methods.** Serum RAGE levels was compared in 115 patients with primary bone tumors (malignant – 63 (osteosarcoma – 18, chondrosarcoma – 38, Ewing's sarcoma – 4, undifferentiated pleomorphic sarcoma – 1, chordoma – 2) borderline (giant cell tumor of bone) – 26; benign tumors and tumor-like lesions of bone – 26) and 40 healthy age-matched people. RAGE concentration was determined by ELISA reagents («R&D») (SA) in patients before the start of a specific treatment.

**Results.** In the blood serum of healthy people the average content of RAGE was  $1632.4 \pm 105.7$  pg/ml and was significantly higher than that of patients with malignant  $1315.9 \pm 85.1$  pg/ml ( $p < 0.05$ ) and borderline tumors of bone  $1285.8 \pm 115.2$  pg/ml ( $p < 0.05$ ). In benign bone tumors RAGE average was equal to  $1513.6 \pm 107.9$  pg/ml, significant differences are marked only by comparison with patients with malignant bone tumors ( $p < 0.05$ ). RAGE serum levels in osteosarcoma was significantly higher than in chondrosarcoma ( $p < 0.05$ ). In poorly differentiated bone tumors serum RAGE were significantly higher than in high-grade ( $p < 0.05$ ), in patients with lesions of long bones – significantly higher than the flat bone lesions ( $p < 0.05$ ). There were no significant differences in the serum RAGE levels in patients and healthy people control group by sex. In patients with bone tumors observed an inverse relationship between age and serum RAGE levels ( $r = -0.4$ ;  $p < 0.001$ ).

**Conclusion.** These findings suggest that differences in the RAGE expression in patients with bone tumors compared to healthy individuals of appropriate age may be linked to pathogenic changes associated with the growth of bone sarcomas. Determination of RAGE may be the subject of further research into its role in the prognosis of malignant bone tumors.

**Key words:** RAGE, serum, bone tumors.