

ОЦЕНКА КОЛОКОЛИЗАЦИИ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP70 И МАРКЕРОВ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ, ПОДОБНЫХ СТВОЛОВЫМ

© 2022 г. Н. М. Юдинцева¹, *, А. Л. Михрина², А. С. Нечаева³, М. А. Шевцов¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223 Россия

³Центр персонализированной медицины “Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова” Минздрава России, Санкт-Петербург, 197341 Россия

*E-mail: yudintceva@mail.ru

Поступила в редакцию 09.03.2022 г.

После доработки 18.03.2022 г.

Принята к публикации 18.03.2022 г.

В связи с агрессивностью мультиформной глиобластомы (МГБ) существует острая необходимость поиска биомаркеров, которые могут быть использованы для ранней диагностики и для тераностики заболевания. В настоящей работе с помощью мультиплексного метода анализа гистологических препаратов МГБ выявлена экспрессия белка теплового шока Hsp70 и сделана количественная оценка его колоколизации с маркерами клеток опухоли, подобных стволовым (КПС). Равномерное распределение в опухоли клеток, экспрессирующих Hsp70, а также его колоколизация с маркерами КПС (Nestin и Sox2) свидетельствуют о перспективности использования Hsp70 в качестве мишени для таргетной терапии злокачественных новообразований головного мозга.

Ключевые слова: мультиформная глиобластома, белок теплового шока Hsp70, стволоподобные клетки опухоли, мультиплексный анализ, биомаркеры, Nestin, Sox2

DOI: 10.31857/S0041377122040125

Мультиформная глиобластома (МГБ) представляет собой злокачественную опухоль головного мозга и характеризуется низкой выживаемостью пациентов. Медиана выживаемости при МГБ составляет 14–15 мес. с 10% вероятностью 5-летней выживаемости (Galleo, 2015). Из-за невозможности преодоления препаратами гематоэнцефалического барьера и существующих анатомических ограничений системное введение многих противоопухолевых препаратов имеет низкую эффективность лечения (Razavi et al., 2016). Стандартным лечением пациентов является хирургическая резекция опухоли с последующей лучевой терапией, введением темозоломида и для облегчения симптомов дексаметазона (Parlato et al., 2006). В связи с агрессивностью заболевания существует острая необходимость поиска биомаркеров, которые могут быть использованы как для ранней диагностики в качестве мишеней, так и для тераностики заболевания. Несмотря на десятилетия исследований по разработке биомаркеров для выявления и прогнозирования МГБ, лишь немногие из них дали

многообещающие результаты и оценка их эффективности, по-прежнему, представляет собой очень сложную задачу. На основе подробного генетического анализа изменения профиля экспрессирующихся белков МГБ была создана огромная база данных биомаркеров различных классов. Однако, к сожалению, это также пока не привело к значительным прорывам в лечении МГБ, что, вероятно, связано с молекулярной гетерогенностью опухоли (Muir et al., 2020).

Основными изучаемыми биомаркерами МГБ, имеющими клиническое значение, являются O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза (MGMT), рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR), факторы роста тромбоцитов (PDGFRA) и эндотелия сосудов (VEGF), а также белок p16^{Ink4a}, включенный в регуляцию клеточного цикла (Phillips et al., 2006; Sasmita et al., 2017). Другой перспективной мишенью для таргетной терапии опухоли головного мозга являются белки теплового шока (heat shock proteins – HSP), которые составляют большое семейство консервативных белков, действующих как молекулярные шапероны и играющих ключевую роль во внутриклеточном белковом гомеостазе, регуляции апоптоза, защите от различных стрессовых факторов (гипоксии, теплового и окислительного). Помимо

Принятые сокращения: ИГХ – иммуногистохимия; ИФ – иммунофлуоресценция; МГБ – мультиформная глиобластома; КПС – клетки, подобные стволовым; DAB – 3,3'-диаминобензидин; HSP – белки теплового шока; PBS – фосфатно-солевой буферный раствор.

внутриклеточной локализации, члены различных семейств HSP экспонированы на плазматической мембране злокачественно трансформированных, но не нормальных клеток, что делает их привлекательными в качестве возможных мишеней для терапии и диагностики рака (Kumar et al., 2016; Shevtsov et al., 2020). Одним из таких белков является белок теплового шока с мол. массой 70 кДа (Hsp70). Белок Hsp70 обнаружен на плазматической мембране клеток различных опухолей, включая первичные глиобластомы (Thorsteinsdottir et al., 2017), клеточную карциному головы и шеи, карциному легкого (Breuninger et al., 2018), колоректальный рак и рак желудка (Pfister et al., 2007), остеосаркомы (Uozaki et al., 2000) и др. Hsp70 также может играть роль в ассоциации опухолевых клеток с внеклеточным матриксом, влияя на их подвижность и инвазию, что также делает его привлекательным в качестве мишени для лечения МГБ (Barreca et al., 2017).

Известно, что МГБ, как и другие виды опухолей, обладает клеточной гетерогенностью, в частности в ней присутствуют клетки опухоли, подобные стволовым (КПС), которые считаются аналогами здоровых стволовых клеток. КПС в значительной степени ответственны за прогрессирование и рецидив заболевания, а также опосредуют резистентность к проводимой терапии (Vargas-Toscano et al., 2021). Молекулярными биомаркерами, связанными с плюрипотентностью стволовых клеток являются такие маркеры, как Musc, Oct, Nanog, Sox-2 и Nestin. Они представляют терапевтический интерес в качестве молекулярных биомаркеров и мишеней для разработки новых многоцелевых стратегий лечения рака и предотвращения рецидивов заболевания (Mimeault et al., 2014).

В настоящее время в диагностике золотым стандартом по-прежнему остается иммуногистохимическое (ИГХ) исследование биопсии, которое позволяет выявлять молекулярные биомаркеры и различать различные типы МГБ на основе ее молекулярной характеристики. Одним из наиболее информативных методов ИГХ-исследования является мультиплексный анализ, который позволяет изучать гистологические препараты на более высоком качественном и количественном уровнях. Подбор оптимальных реагентов и оборудования в тандеме с программным обеспечением позволяет получать количественные данные по оценке колоколизации биомаркеров в тканях, фенотипированию и распределению клеток, определению их функций и др. (Mori et al., 2020; Sidi et al., 2021; Taube et al., 2021). Использование системы Opal Multiplex выполняют аналогично методу стандартной ИГХ. Однако данная система имеет ряд преимуществ: одновременное многоцветное окрашивание препарата, высокая проникающая способность реагентов, выявление различных фенотипов клеток и др. Уникальное программное обеспечение позволяет выполнять анализ мультиплексных изображений и получать статистически достоверные количественные данные.

В настоящей работе проведен анализ гистологических препаратов МГБ человека с целью выявления и количественной оценки колоколизации белка теплового шока Hsp70 с маркерами КПС с использованием системы мультиплексного анализа Opal Multiplex.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал. Работа проведена с использованием послеоперационного материала от пациентов с диагнозом МГБ (Центр персонализированной медицины Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова). Протокол клинического исследования был одобрен Комитетом по этике Федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова и соответствовал принципу Хельсинкской декларации. Все пациенты подписали форму информированного добровольного согласия на предоставление гистологического материала для проведения научных исследований.

Послеоперационный материал фиксировали в 10%-ном формалине. Гистологические препараты готовили в соответствии со стандартным протоколом, толщина срезов составляла 3–5 мкм. После процедуры депарафинизации препаратов и демаскировки антигенов препараты окрашивали с помощью набора Opal 3-Plex Manual Detection Kit (Akoya Biosciences, США).

ИГХ-окрашивание. Препараты последовательно инкубировали с первичными антителами: Anti-Hsp70 (Abcam, USA), Anti-Nestin (Satna-Cruz, США) и Anti-Sox2 (Chemicon, США). Разведение первичных антител выполняли в соотношении 1 : 100. В качестве вторичных использовали универсальные антитела с полимером, конъюгированные с пероксидазой хрена (Opal™ Polymer anti-Rabbit HRP Kit), инкубирование с которыми выполняли в течение 30 мин. Затем после трехкратной отмывки препаратов раствором PBS наносили на 10 мин Opal (флуорохром). Каждому первичному антителу (Anti-Hsp70, Anti-Nestin и Anti-Sox2) соответствовал определенный флуорохром (Opal 520, Opal 570 и Opal 690 соответственно). После инкубации с флуорохромом Opal 520 (с целью удаления антител и для сохранения только флуорохрома) стекла помещали в раствор ЭДТА (версен) и нагревали в течение 20 мин на водяной бане при 98.5°C. Обработку выполняли последовательно для каждого флуорохрома. На последнем этапе ядра клеток окрашивали 4',6'-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (Abcam, Великобритания), монтировали препараты в среде Mounting medium (Abcam, Великобритания).

Окрашенные препараты анализировали с использованием системы конфокальной микроскопии Mantra 2 Quantitative Pathology Workstation с наличием программного обеспечения Pathology Views™ для анализа флуоресцентных изображений в традиционном режиме светлого поля и DAB (3,3'-диаминобензидин), который является субстратом пероксидазы

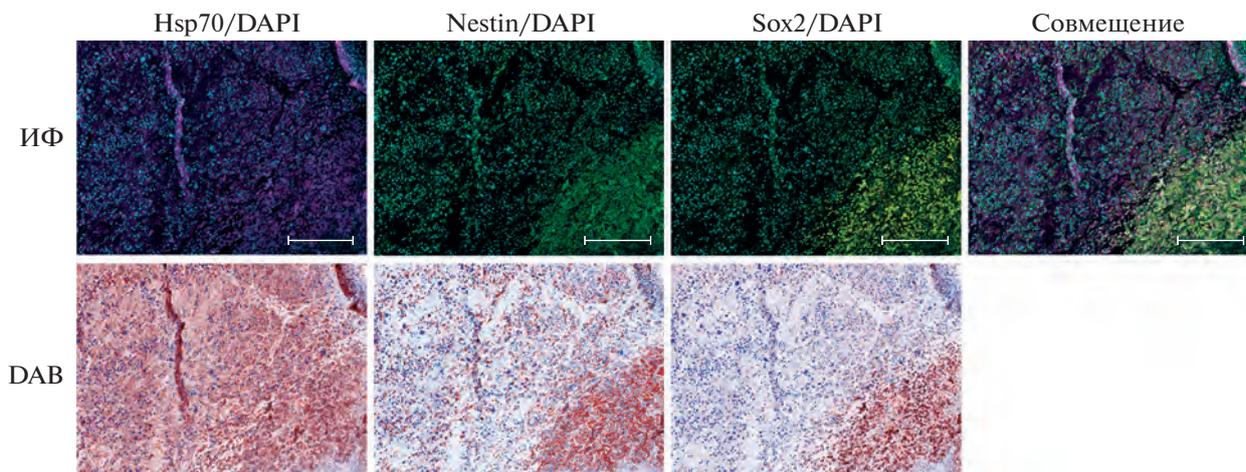


Рис. 1. Конфокальная микроскопия гистологических срезов МГБ человека. Иммунофлуоресценция (ИФ) препаратов, окрашенных с использованием соответствующих антител к Hsp70 (*маджента*), Nestin (*зеленый цвет*), Sox2 (*желтый цвет*), DAPI (*циан*). Окрашивание DAB (3,3'-диаминобензидин): Hsp70, Nestin, Sox2 (*коричневый цвет*). Ядра (DAPI) (*синий цвет*). Масштабный отрезок: 400 мкм.

хрена. Ядра детектировали с помощью диодного лазера (405 нм), флуорохромы (Oral 520, Oral 570 и Oral 690) – с помощью лазеров с соответствующей длиной волны. Выявление маркеров и оценка колоколизации двух маркеров выражена в %. Клетки (с маркерами и их отсутствием) считали на всем снимке и принимали за 100%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью системы Oral Multiplex на гистологических препаратах ткани МГБ человека ($n = 4$) была

выявлена экспрессия белка теплового шока Hsp70 и маркеров КПС (Nestin и Sox2) (рис. 1). Для количественной оценки колоколизации Hsp70 с выявленными биомаркерами были построены карты фенотипирования препарата. В соответствии с окраской ядер DAPI (рис. 2*а*) выделяли ядра клеток (рис. 2*б*). Затем препарат условно сегментировали на зону некроза (*синий цвет*) и зону окружающей жизнеспособной ткани (*коричневый цвет*) (рис. 2*в*). Клетки, содержащие Hsp70, Nestin и Sox2 (рис. 2*г*) отмечали красным, маджента и зеленым цветами соответ-

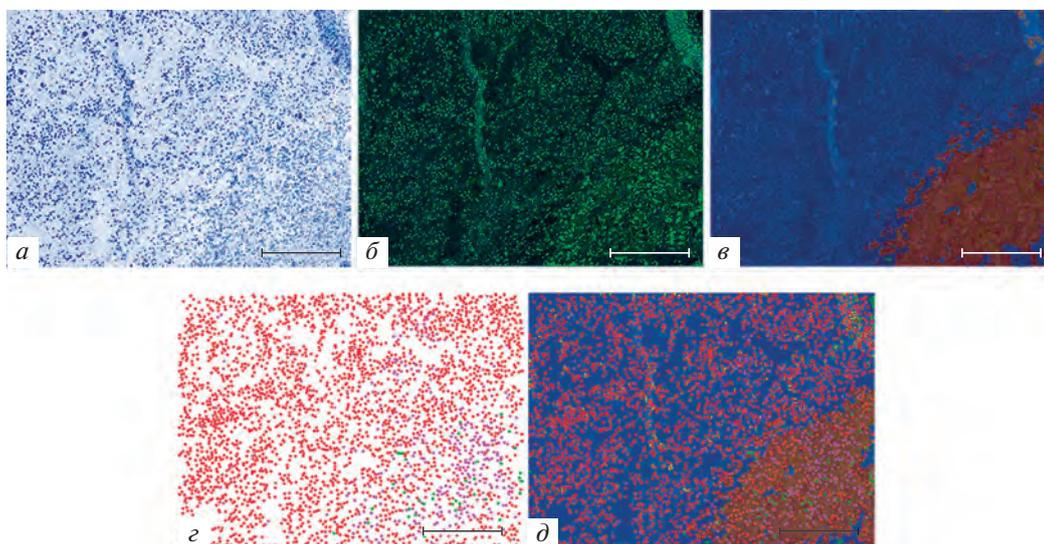


Рис. 2. Последовательность построения карты фенотипирования для гистологических срезов МГБ человека. *а* – Окраска ядер DAPI; *б* – фенотипирование ядер (*зеленый цвет*); *в* – сегментация ткани на зону некроза (*синий цвет*) и жизнеспособную (ЖС) ткань (*коричневый цвет*); *г* – фенотипирование клеток по маркерам Hsp70, Nestin и Sox2: *красный, маджента и зеленый* соответственно; *д* – карта фенотипирования по зонам ткани (некроза и ЖС) и клеткам, содержащим Hsp70, Nestin, Sox2. Масштабный отрезок: 400 мкм.

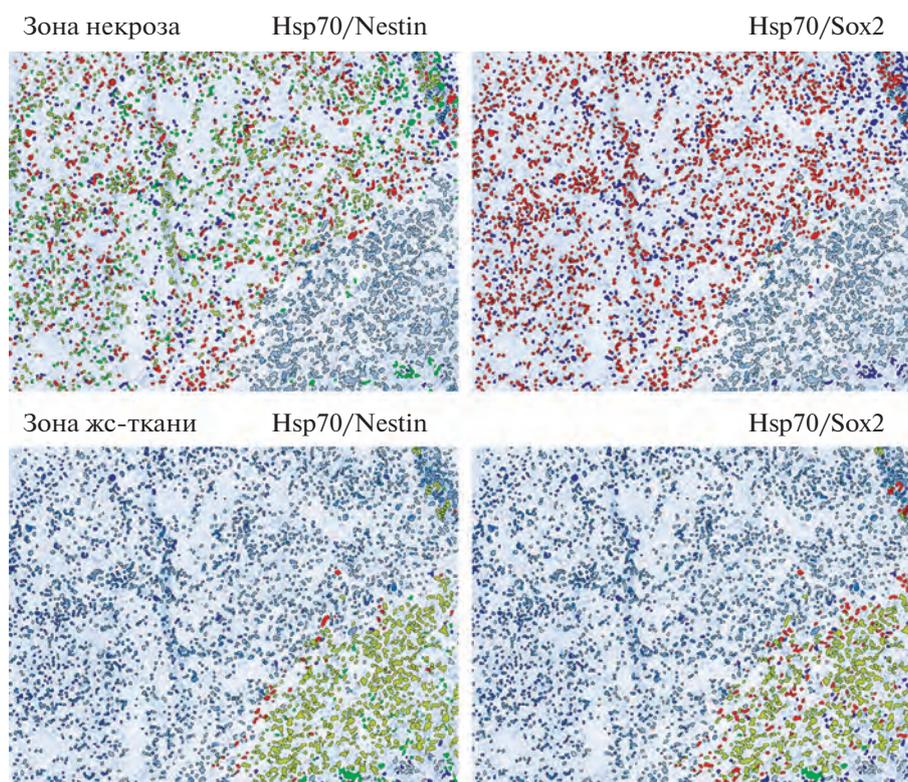


Рис. 3. Выявление и оценка колоколизации биомаркеров. *Верхний ряд* – зона некроза, *нижний ряд* – зона жизнеспособной (ЖС) ткани. Hsp70 – *красный* цвет, Nestin и Sox2 – *зеленый*; колоколизация Hsp70 с Nestin и Hsp70 с Sox2 – *желтый* цвет; отсутствие маркеров – *синий* цвет.

ственно. Полученная карта фенотипирования представлена на рис. 2д.

На основе карты фенотипирования с помощью программного обеспечения Pathology Views™ для анализа флуоресцентных изображений количественно оценивали колоколизацию Hsp70 с Nestin и Hsp70 с Sox2 в зонах некроза и жизнеспособной ткани (рис. 3, табл. 1). Полученные количественные данные не выявили существенных различий в распределении клеток, экспрессирующих Hsp70, в зонах некроза и жизнеспособной ткани (36 и 41% соответственно), что может свидетельствовать об их равномерном распределении в опухоли.

Ранее было показано, что белок теплового шока Hsp70 в избытке присутствует в опухолях, обеспечивая избирательное преимущество злокачествен-

ных клеток за счет подавления множественных путей апоптоза, регуляции некроза, обхода программы клеточного старения, вмешательства в опухолевый иммунитет, стимулирования ангиогенеза и поддержки метастазирования. Hsp70 присутствует в большинстве различных видов рака. Выживаемость пациентов и рост опухоли часто коррелирует с изменением уровня его экспрессии. Действие Hsp70 в различных состояниях его каталитического цикла позволяет предположить, что он может многофункционально воздействовать на злокачественные клетки (Albakova et al., 2020). Известно, что во всех организмах белки теплового шока обеспечивают древнюю защитную систему, действуя как молекулярные шапероны и способствуя правильному фолдингу и рефолдингу неправильно свернутых белков, а также

Таблица 1. Оценка содержания и колоколизации биомаркеров (Hsp70, Nestin, Sox2) на гистологических препаратах МГБ человека

Зона	Наличие маркера, %			Отсутствие маркера, %	Колоколизация	
	Hsp70	Nestin	Sox2		Hsp70/Nestin	Hsp70/Sox2
Некроз	36	18	0	46	18	0
ЖС-ткань	41	10	10	39	57	30

Примечание. Число клеток на снимке (с маркерами и их отсутствием) принимали за 100%. ЖС – жизнеспособная ткань.

устранению старых и поврежденных клеток. Через свои субстрат-связывающие домены Hsp70 взаимодействует с широким спектром молекул, от развернутых до нативно свернутых и агрегированных белков, и обеспечивают цитопротекторную роль против различных клеточных стрессов. В патофизиологических условиях высокая экспрессия Hsp70 приводит к ингибированию апоптоза и позволяет клеткам выживать даже при летальных повреждениях. Кроме того, повышенная экспрессия Hsp70 в опухолевых клетках может быть ответственна за онкогенез и прогрессирование опухоли, обеспечивая устойчивость к химиотерапии (Kumar et al., 2016).

Достаточно высокая колоколизация Hsp70 с факторами Nestin и Sox2 была выявлена преимущественно в зоне жизнеспособной ткани (57 и 30% соответственно, табл. 1). Фактор транскрипции Sox2, так же, как и Nestin (маркер нейрональных стволовых клеток/клеток-предшественников), необходимы для эмбрионального развития и играют решающую роль в поддержании стволовости эмбриональных клеток и различных популяций взрослых стволовых клеток. С другой стороны, нарушение регуляции экспрессии Sox2 связано с множеством типов рака (Novak et al., 2020) и влияет на пролиферацию, миграцию, инвазию и метастазирование. Также было показано, что нокдаун экспрессии Nestin в клетках глиобластомы человека приводит к снижению пролиферации, миграции и инвазии (Matsuda et al., 2011, 2015). Таким образом, Nestin и Sox2 также представляют интерес в качестве терапевтических мишеней при некоторых опухолях, включая глиобластому.

Достижения в области геномики и протеомики позволяют обнаружить и протестировать огромное количество биомаркеров, однако этого по-прежнему недостаточно для создания полнофункциональной коммерчески доступной терапии МГБ. Поиск эффективных биомаркеров МГБ необходимо проводить, рассматривая сложные молекулярные пути заболевания в целом. Полученные нами данные позволяют предполагать перспективность дальнейших исследований белков теплового шока, в частности Hsp70, и использования его в качестве мишени для таргетной терапии злокачественных новообразований головного мозга.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают большую благодарность Группе компании ООО “БиоЛайн” за предоставленные для работы реактивы и оборудование, а также сотруднику компании Дьяковой Дарье за помощь в подготовке и анализе препаратов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-58-55001).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Протокол клинического исследования одобрен Комитетом по этике Федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова. Все пациенты подписали информированное согласие на предоставление материала для проведения научных исследований.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Albakova Z.A., Grigoriy A., Kanevskiy L.M., Kovalenko E.I., Sapozhnikov A.M.* 2020. HSP70 multi-functionality in cancer. *Cells*. V. 9. P. 587.
<https://doi.org/10.3390/cells9030587>
- Barreca M.M., Spinello W., Cavalieri V., Turturici G., Sconzo G., Kaur P., Tinnirello R., Asea A., Geraci F.* 2017. Extracellular Hsp70 enhances mesoangioblast migration via an autocrine signaling pathway. 2017. *J Cell Physiol*. V. 232. P. 1845.
<https://doi.org/10.1002/jcp.25722>
- Breuninger S., Stangl S., Werner C., Sievert W., Lobinger D., Foulds G.A., Wagner S., Pickhard A., Piontek G., Kokowski K.* 2018. Membrane Hsp70-A novel target for the isolation of circulating tumor cells after epithelial-to-mesenchymal transition. *Front. Oncol*. V. 8. P. 497.
<https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00497>
- Gallego O.* 2015. Nonsurgical treatment of recurrent glioblastoma. *Curr. Oncol*. V. 22. P. 273.
<https://doi.org/10.3747/co.22.2436>
- Kumar S., Stokes J., Singh U.P., Gunn K.S., Acharya A., Manne U., Mishra M.* 2016. Targeting Hsp70: A possible therapy for cancer. *Cancer Lett*. V. 374. P. 156.
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.01.056>
- Matsuda Y., Ishiwata T., Yoshimura H., Hagio M., Arai T.* 2015. Inhibition of nestin suppresses stem cell phenotype of glioblastomas through the alteration of post-translational modification of heat shock protein HSPA8/HSC71. *Cancer Letters*. V. 357. P. 602.
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.12.030>
- Matsuda Y., Naito Z., Kawahara K., Nakazawa N., Kore M., Ishiwata T.* 2011. Nestin is a novel target for suppressing pancreatic cancer cell migration, invasion and metastasis. *Cancer Biol. Ther.* V. 11. P. 512.
<https://dx.doi.org/10.4161%2Fcbt.11.5.14673>
- Mimeault M., Batra S.K.* 2014. Altered gene products involved in the malignant reprogramming of cancer stem/progenitor cells and multitargeted therapies. *Mol. Aspects Med*. V. 39. P. 3.
- Mori H., Bolen J., Schuetter L., Massion P., Hoyt C., Vanden Berg S., Esserman L., Borowsky A., Campbell M.* 2020. Characterizing the tumor immune microenvironment with tyramide-based multiplex immunofluorescence. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. V. 25. P. 417.
<https://doi.org/10.1016/j.mam.2013.08.001>
- Muir M., Gopakumar S., Traylor J., Lee S., Rao G.* 2020. Glioblastoma multiforme: novel therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets*. V. 24. P. 605.
<https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1762568>
- Novak D., Hüser L., Elton J.J., Umansky V., Altevogt P., Utikal J.* 2020. SOX2 in development and cancer biology. *Semin*

- Cancer Biol. V. 67(Pt 1). P. 74.
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.007>
- Parlato C., Barbarisi M., Moraci M., Moraci A. 2006. Surgery, radiotherapy and temozolomide in treating high-grade gliomas. *Front. Biosci.* V. 1. P. 1280.
<https://doi.org/10.2741/1881>
- Pfister K., Radons J., Busch R., Tidball J.G., Pfeifer M., Freitag L., Feldmann H.J., Milani V., Issels R., Multhoff G. 2007. Patient survival by Hsp70 membrane phenotype: Association with different routes of metastasis. *Cancer.* V. 110. P. 926.
- Phillips H.S., Kharbanda S., Chen R., Forrest W.F., Soriano R.H., Wu T.D., Misra A., Nigro J.M., Colman H., Soroceanu L., Williams P.M., Modrusan Z., Feuerstein B.G., Aldape K. 2006. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell.* V. 9. P. 157.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.02.019>
- Razavi S.M., Lee K.E., Jin B.E., Aujla P.S., Gholamin S., Li G. 2016. Immune evasion strategies of glioblastoma. *Front. Surg.* V 3: P. 11.
<https://doi.org/10.3389/fsurg.2016.00011>
- Sasmitha A.O., Wong Y.P., Ling A.P.K. 2018. Biomarkers and therapeutic advances in glioblastoma multiforme. *Asia Pac. J. Clin. Oncol.* V. 14. P. 40.
<https://doi.org/10.1111/ajco.12756>
- Shevtsov M., Balogi Z., Khachatryan W., Gao H., Vigh L., Multhoff G. 2020. Membrane-associated heat shock proteins in oncology: from basic research to new teranostic targets. *Cells.* V. 9. P. 1263.
<https://doi.org/10.3390/cells9051263>
- Sidi F., Bingham V., Craig S., McQuaid S., James J., Humphries M., Salto-Tellez M. 2021. PD-L1 Multiplex and quantitative image analysis for molecular diagnostics. *Cancers.* V. 13. P. 29.
<https://doi.org/10.3390/cancers13010029>
- Taube J., Roman K., Engle E., Wang C., Ballesteros-Merino C., Jensen S., McGuire J., Jiang M., Coltharp C., Remeniuk B., Wistuba I., Locke D., Parra E., Fox B., Rimm D., Hoyt C. 2021. Multi-institutional TSA-amplified multiplexed immunofluorescence reproducibility evaluation (MITRE) study. *J Immunother Cancer.* V. 9. P. e002197.
<https://doi.org/10.1136/jitc-2020-002197>
- Thorsteinsdottir J., Stangl S., Fu P., Guo K., Albrecht V., Eigenbrod S., Erl J., Gehrman M., Tonn J.C., Multhoff G. 2017. Overexpression of cytosolic, plasma membrane bound and extracellular heat shock protein 70 (Hsp70) in primary glioblastomas. *J. Neurooncol.* V. 135. P. 443.
<https://doi.org/10.1007/s11060-017-2600-z>
- Uozaki H., Ishida T., Kakiuchi C., Horiuchi H., Gotoh T., Iijima T., Imamura T., Machinami R. 2000. Expression of heat shock proteins in osteosarcoma and its relationship to prognosis. *Pathol. Res. Pract.* V. 196. P. 665.
[https://doi.org/10.1016/S0344-0338\(00\)80118-1](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(00)80118-1)
- Vargas-Toscano A., Janiak C., Sabel M., Kahlert U. 2021. A Pre-clinical Pipeline for Translational Precision Medicine-Experiences from a Transdisciplinary Brain Tumor Stem Cell Project. *J. Pers. Med.* V. 11. P. 892.
<https://doi.org/10.3390/jpm11090892>

Assessment of the Colocalization of Heat Shock Protein Hsp70 with Markers of Tumor Stem-Like Cells

N. M. Yudintceva^{a, *}, A. L. Mikhrina^b, A. S. Nechaeva^c, and M. A. Shevtsov^a

^a*Institute of Cytology Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia*

^b*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry Russian Academy of Science, St. Petersburg, 194223 Russia*

^c*Center for Personalized Medicine of the Almazov National Medical Research Center of the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg, 197341 Russia*

*e-mail: yudintceva@mail.ru

There is an urgent need to identify biomarkers for early diagnosis and as targets for theranostics of multiforme glioblastoma (GBM). In the current study, histological samples of GBM were qualitatively and quantitatively analyzed to detect Hsp70 protein expression and its colocalization with biomarkers of tumor stem-like cells (SLCs) employing the Multiplex analysis system. Cells expressing Hsp70 were evenly distributed in the viable tumor mass and colocalized with SLC markers (Nestin and Sox2). The obtained data suggest the prospects of using Hsp70 as a target for therapy of brain tumors, in particular, the multiforme glioblastoma.

Keywords: glioblastoma multiforme, heat shock protein Hsp70, tumor stem-like cells, multiplex analysis, biomarkers, Nestin, Sox2