

А.Е.Черезов

**ОБЩАЯ  
ТЕОРИЯ  
РАКА**

***ТКАНЕВЫЙ  
ПОДХОД***



**ИЗДАТЕЛЬСТВО  
МОСКОВСКОГОУНИВЕРСИТЕТА**

1997

УДК 616-006  
ББК 55.6  
4-46

**Черезов А. Е.** Общая теория рака: тканевый подход. – М.  
Изд-во МГУ, 1997.– 252 с.

В книге изложена новая теория механизма канцерогенеза, основанная на нарушении тканевого гомеостаза в результате длительной хронической пролиферации, вызывающей нарушение дифференцировки клеток. Тканевая теория рака объясняет основные факты и проблемы, которые раньше не имели рациональной интерпретации.

Описанная в книге общая модель онкогенеза дает большие профилактические и лечебные возможности.

Для специалистов онкологов, иммунопатологов и всех интересующихся проблемами злокачественных опухолей.

Рецензенты:

профессор, доктор медицинских наук *Г. Х. Шишаров*;  
профессор, доктор биологических наук *Л. С. Ягужиский*

Издание осуществлено в авторской редакции

# СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие. . . . .	7
----------------------	---

## *ГЛАВА I*

### **ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ТЕОРИИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА**

1. Ранний этап онкологических воззрений: теория Вирхова, Контейма, Фишер-Ваэльса. . . . .	13
2. Концепции «конвергенции» и «дивергенции» опухолевой прогрессии	22
3. Делеционная гипотеза . . . . .	24
4. Эпигенетические концепции. . . . .	25
5. Проблема хронической пролиферации как фактора канцерогенеза в истории онкологии. . . . .	28
6. Взгляды Н.Н.Петрова на природу и механизм опухолеобразования	33
7. Концепции химического канцерогенеза. . . . .	36

## *ГЛАВА II*

### **ОСНОВАНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ПАРАДИГМЫ ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИЯ**

1. Альтернативные парадигмы . . . . .	38
2. Вирусный канцерогенез с позиции тканевой модели рака . . . . .	44
3. Спонтанная малигнизация in vitro. . . . .	44
4. Временной аспект опухолеобразования. . . . .	46

## *ГЛАВА III*

### **ТКАНЕВАЯ ТЕОРИЯ КАНЦЕРОГЕНЕЗА. ВВЕДЕНИЕ К НОВОЙ ПАРАДИГМЕ**

1. Проблема перехода на тканевый уровень контроля пролиферации . . . . .	48
2. Данные молекулярно-генетических исследований в свете тканевой модели. . . . .	53

3. Проблема предрака . . . . .	55
4. Роль длительной повышенной пролиферации в механизме опухолеобразования. . . . .	57
5. Клиническое значение новой концепции механизма общего знаменателя	60
6. Рак на почве старения. . . . .	61
7. Концепция канцерогенного профиля. . . . .	66

## *ГЛАВА IV*

### РЕЦЕПТОРЫ И ФАКТОРЫ РОСТА В МЕХАНИЗМЕ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

1. Пути передачи информации в ядро . . . . .	69
2. Роль факторов роста в механизме опухолеобразования. . . . .	70
3. Биология рецепторов и их участие в контроле пролиферации. . . . .	72
4. Связь факторов роста с регуляцией митотического цикла . . . . .	75
5. Пороговый характер, биологического эффекта ФР. Триггерный механизм	76
6. Последнее звено в цепи трансформации. . . . .	77
а) Опровержение представлений о дефектности ФР как причины трансформации. . . . .	77
б) Опровержение представлений о дефектности рецепторов. . . . .	82
в) Роль ФР и рецепторов в механизме трансформации. . . . .	83
7. Двухстадийный характер опухолеобразования. . . . .	87
8. Пролиферативный режим как фактор канцерогенеза . . . . .	88
9. Злокачественность: норма или патология клетки . . . . .	90
10. Критика клонально-селекционной концепции рака. . . . .	91

## *ГЛАВА V*

### МЕХАНИЗМ НАРУШЕНИЯ ТКАНЕВОГО ГОМЕОСТАЗА

1. Структура и динамика в нарушении тканевого гомеостаза. . . . .	93
2. Клиническая картина опухолеобразования с позиции тканевой теории	97
3. Теория гормонального рака . . . . .	101
4. Роль эмбрионализаш клеток в механизме опухолеобразования . . . . .	114
5. Концепция иммунологического надзора и ее критика . . . . .	115
6. Неспецифический характер вирусного канцерогенеза. . . . .	119
7. Проблема тканевой регуляции пролиферации. . . . .	120
8. Проблема конвергенции и дивергенции опухолевых признаков . . . . .	123
9. Кейлоны и механизм регуляции пролиферации. . . . .	123
10. Стволовые клетки в системе тканевого гомеостаза. . . . .	138
11. Ранние стадии опухолеобразования. . . . .	145
12. Данные молекулярно-генетических исследований, свидетельствующие в пользу тканевой теории. . . . .	149
13. Теория онкогена. . . . .	152

## **ГЛАВА VI**

### **МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ОПУХОЛИ**

1	Молекулярные основы метастазирования клеток	162
2	Нарушение адгезии у опухолевых клеток	166
3	Фибронектины	168
4	Гликофинголипиды	169
5	Топобиология тканей и нарушение адгезии при раке	172
6	Факторы метастазирования и проблема гетерогенности опухолевых клонов	177
7	Дедифференцировка и изменение ферментативного спектра при раке	180
8	Теория лейкоза	183
9	Коцепция взаимосвязи основных элементов механизма контроля пролиферации и его нарушения при раке	193

## **ГЛАВА VII**

### **ТЕОРИЯ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ И РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМЫ НАРУШЕНИЯ ЭНЕРГЕТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК**

1	Критика учения Foulds о прогрессии опухолей	198
2	Проблема нарушения энергетики опухолевых клеток и ее решение в тканевой теории	204

## **ГЛАВА VIII**

### **ТКАНЕВАЯ ТЕОРИЯ СПИДА, РАКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ, ЛЕЙКОЗА**

1	Общие черты рака иммунной системы и их объяснение в тканевой теории	209
2	СПИД — вирусный рак иммунной системы	213

## **ГЛАВА IX**

### **ТЕОРИЯ АУТОИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ**

1	Два подхода к механизму аутоиммунной патологии	220
2	Двойной эффект аутоиммунной патологии	227
	Заключение	232
	Литература	242



## ПРЕДИСЛОВИЕ

Борьба со злокачественными новообразованиями является не только одной из наиболее актуальных проблем в медицине и биологии, но и затрагивает многие аспекты социальной жизни общества. Среди причин смерти людей в большинстве промышленно развитых стран злокачественные новообразования занимают 2 — 3-е место. В мире ежегодно заболевает злокачественными новообразованиями 6 млн. человек, а в 2000 г. лечения потребуют 10 млн. страдающих этими заболеваниями (Parkin et al., 1984; Muir, 1986). Динамика смертности от злокачественных опухолей за два десятилетия также неутешительна: результаты анализа показали, что число мужчин, погибших от рака в промышленно развитых странах, реально возросло на 40% (WHO. Cancer incidences..., 1985).

Отвечая на вопрос критиков: стоит ли бороться за жизнь, которую ценой больших усилий может даровать врач больному, если жизнь бывает так мрачна, — известный французский онколог Ж.Матэ (Mathe, 1977) ответил, что больные раком спрашивают себя не как они будут жить, а может ли врач дать им надежду на жизнь.

Людам нужна информация, которая была бы в состоянии удовлетворить их потребности, на основе которой можно найти более эффективный способ лечения рака. Новый подход к опухолеобразованию — это реальная возможность сделать шаг вперед в лечении рака, достичь заветной цели, тем более что речь идет о новой теории рака, изменяющей традиционные взгляды.

Каково современное понимание природы и механизма рака в теории онкогена? Согласно авторам монографии по молекулярным основам канцерогенеза (Киселев и др., 1990, с.268), «полная и последовательная картина генетических процессов, приводящих клетку к опухолевой трансформации, пока отсутствует...

Природа этих изменений, факторы, стимулирующие эти изменения... пока еще остаются (в большинстве случаев) загадкой... каковы же конкретные молекулярные механизмы превращения нормальной клетки в опухолевую? Авторы вынуждены констатировать, что прямого ответа, естественно, они дать не могут». Как видим, картина не столь оптимистична. Но, несмотря на неясность по ряду вопросов, большинство ученых считают, что в основе образования любой опухоли лежат необратимые изменения онкогенов ДНК в определенной популяции клеток.

Суть концепции онкогенов (Сейц, 1990) сводится к утверждению, что источник злокачественного роста заключен в нормальной клетке, в ее геноме, однако иницирующий импульс приходит извне. В качестве причины трансформации рассматривается активация под влиянием химических, физических, биологических факторов собственных генов (протоонкогенов), которые в норме контролируют пролиферацию, дифференцировку, созревание.

Активация протоонкогенов состоит в количественном или качественном изменении их и кодируемых ими белков. С этим связаны молекулярно-генетические события: генная амплификация (умножение количества копий гена), транслокация (подставка под мощный промотор) протоонкогенов, точковые мутации, реаранжировка, инсерции в нуклеотидных последовательностях этих генов.

Однако порой экспериментаторы и теоретики занимаются своим делом, а клиницисты своим, отсутствует состыковка между теорией и экспериментальными данными. По признанию ряда авторов, в клиническом плане теория онкогена слабо работает либо недостаточна для осмысления всего накопленного материала.

Эта противоречивая ситуация, когда, с одной стороны, провозглашается почти полная победа молекулярно-генетической теории, а с другой стороны, признается ее слабость в практическом плане, неспособность объяснить клиническую картину опухолеобразования, заставила автора данной монографии искать тайну механизма трансформации в совершенно другом направлении, что привело в результате к построению тканевой теории рака (Черезов, 1987, 1990, 1993).

Для построения общей теории канцерогенеза необходимо было выявить механизм «общего знаменателя», который унифицирует действие различных канцерогенов, нивелирует разнообразие факторов и приводит к единому конечному результату. Как оказалось, этот механизм общего знаменателя находится не в клетке, как предполагалось ранее, а связан с тканевым гомеостазом, его неспецифической реакцией в виде компенсаторной пролиферации.

Сложившееся воззрение, что механизм рака обусловлен необратимой патологией генома клетки, мутацией онкогенов, — разрушено, а вместе с ним разрушен и теоретический фундамент ба-



зовых представлений онкологии, ее основного доминирующего направления.

Как можно обосновать идею нового подхода, тканевой теории? Краеугольный камень тканевой теории состоит в решении вопроса о механизме контроля, пролиферации и уровне, на котором она контролируется. Общепризнано, что причиной опухолеобразования является нарушение контроля пролиферации. В традиционном молекулярно-генетическом подходе предполагается, что нарушение контроля пролиферации обусловлено повреждением генома клетки, например мутациями в 3 — 4 онкогенах или иными необратимыми изменениями генома. Однако из факта нарушения контроля пролиферации не следует с необходимостью и однозначно, что оно обусловлено нарушением генетического контроля. Дело в том, что контроль пролиферации в ткани осуществляется двумя различными механизмами: на генетическом уровне и на уровне тканевого гомеостаза. Однако синхронизировать и коррелировать митотическую активность разных групп клеток относительно друг друга на уровне генетического контроля отдельной клетки невозможно, поскольку необходима регуляция надклеточной тканевой системы; данную регуляцию осуществляет тканевый гомеостаз.

Возникает альтернатива в подходах: либо механизм рака связан с нарушением генетического контроля, либо он обусловлен нарушением тканевой регуляции. Как доказать, какой из двух принципов нарушения лежит в основе опухолевой трансформации? Очевидно, теория, построенная на основе разных принципов, будет давать различные следствия, которые будут подтверждаться экспериментальными данными либо опровергаться ими.

Нетрудно заметить, что из теории, основанной на нарушении тканевой регуляции, следует, что трансформация клетки должна носить обратимый характер, т.е. опухолевые клетки при индукции дифференцировки должны нормализоваться, теряя злокачественные признаки. Из теории, основанной на нарушении генетического контроля в результате необратимых изменений онкогенов, следует, что нормализация опухолевых клеток — это нонсенс, парадокс, который противоречит теории и не должен иметь места. С этой точки зрения теория онкогена противоречит данным по нормализации раковых клеток при дифференцировке. Симптоматично, что даже очевидные факты по нормализации опухолевых клеток в рамках теории онкогена интерпретируют как фенотипическую нормализацию, не допуская возможности полной (генетической) нормализации, поскольку в этом случае теория онкогена опровергается.

Однако тканевая теория не отбрасывает теорию онкогена, а включает в себя ее основную идею о патологической активизации

онкогенов как причине злокачественности раковой клетки. В то же время эта идея видоизменяется, препарируется в тканевой модели, получает иную интерпретацию на другой основе. В ходе анализа выяснилось, что свойства опухолевых клеток, которые идентифицировали как злокачественные, обнаруживаются в нормальных клоногенных стволовых клетках, поэтому при нарушении тканевого контроля они определяют опухолевый рост. Отсюда следует, что эти свойства стволовых клеток необходимы, но не достаточны для развития опухоли, вторым условием трансформации является нарушение механизма тканевого контроля. Становится ясно, что стволовые клетки являются потенциально злокачественными, при нарушении тканевого контроля они переходят к злокачественному росту. Чтобы обосновать идею нового механизма трансформации, были проанализированы этапы истории развития концепций, гипотез рака, основные клинические и экспериментальные данные и выявлена корреляция между ними и основными закономерностями опухолеобразования.

В ходе исследования проблемы стало ясно, что требованиям, которым должна удовлетворять общая теория канцерогенеза, отвечает тканевая теория.

Анализ показал, что в теоретической онкологии неявно имеются два направления. Одно из них — традиционное, связывающее причину рака с генетическими повреждениями, другое — нетрадиционное, остающееся в тени доминирующих концепций, опирающееся на факты, которые не укладываются в основное направление. Это касается фактов, связанных с тканевыми изменениями в предраке, повышенной пролиферацией, нарушением дифференцировки, эмбрионализацией и др. Тканевая теория опухолеобразования взяла на вооружение все рациональное, что создано в каждом из этих двух направлений. Новая модель канцерогенеза объединила на новой основе современные концепции канцерогенеза и концепции, ставшие классическими в истории онкологии.

Проверка основных положений тканевой модели на большом клиническом и экспериментальном материале показала, что новая теория хорошо объясняет исходя из одного принципа основные закономерности опухолеобразования, часть из которых не имела до сих пор рациональной интерпретации. Новый подход к раку позволил выяснить тайну природы и механизма гормонального рака, который не имел объяснения в молекулярно-генетической теории.

Из тканевой теории логически вытекают связанные с ней и являющиеся ее составными частями концепция «канцерогенного профиля» и концепция «механизма общего знаменателя», которые непосредственно ориентированы на клинические проблемы опухолеобразования. В рамках этих концепций удалось конкре-

тизировать понятие канцерогенного фактора, канцерогенности, т.е. выявить общий признак, общее трансформирующее свойство в различных канцерогенах.

Содержание понятия канцерогенности оказалось совершенно иным, чем его ранее представляли, включающим не только фактор — носитель канцерогенности, но и его «неосвязаемую» временную структуру (интенсивность, режим воздействия), которая изменяет начальные свойства, часто не являющиеся сами по себе канцерогенными. Как оказалось, канцерогенность связана не с генотоксичностью, а с промоторным эффектом канцерогенов. Иначе говоря, потенциальный канцерогенный фактор становится таким лишь в результате определенной структуры воздействия, соответствующей канцерогенному профилю, что связано с восстановительными свойствами тканевого гомеостаза. Это и многое другое читатель впервые откроет для себя.

На базе тканевой теории предложена новая концепция механизма СПИДа, которая решает основные проблемы множественного поражения (иммунодефицита) клеток иммунной системы, не имевшие ранее объяснения. Новая концепция СПИДа позволяет выявить новые направления лечения этого заболевания.

Всем читателям этой книги будет интересно следить за построениями общей теории канцерогенеза, основанной на новом принципе трансформации.

Новая теория — это и другие методы борьбы с опухолями, это приближение к идеальному средству, названному принципом «золотой пули», но на иной теоретической основе, поэтому принцип «золотой пули» видоизменяется.

Что касается формы изложения материала, то монография не является обзорной, приводимые факты носят больше иллюстративный, схематичный характер, не претендующий на полноту освещения вопросов. Акцент делается на логике взаимосвязи данных, на системном, более углубленном анализе фактов, концепций и строгости выводов, которые из них следуют. Именно эти вопросы теории оказались слабым местом, можно сказать — ахиллесовой пятой, на пути дальнейшего продвижения онкологии и методов лечения рака.

Целостность, полнота теоретической конструкции позволяют выявить системную детерминацию, вобрать в себя все рациональное, установить корреляцию между основными группами данных. Логическая взаимосвязь между фактами создает необходимый каркас, где значение (семантика) отдельного факта (группы фактов) определяется в контексте взаимообусловленных данных. Доказательство тех или иных положений, основанное на системной детерминации, обладает рядом преимуществ, поскольку позволяет оценить, какие результаты истинны, а какие ложны, так как семантика

конкретного факта может войти в смысловое поле теории лишь определенным образом, исходя из детерминации целого.

В рамках тканевой теории удалось выяснить природу и механизм развития доброкачественных опухолей и их отличие от злокачественных, по-новому осмыслить проблему предрака, выявить механизм гормонального рака, механизм вирусного канцерогенеза, лейкозов, по-новому подойти к проблеме опухолевого поля, поликлональности. Рациональное объяснение основных проблем, а также проблем, ранее не имевших интерпретации, говорит о том, что новая теория хорошо работает, объясняя клинические и экспериментальные факты, чем выгодно отличается от теории онкогена.

В заключение хочу выразить благодарность тем людям, которые определили возможность моей научной деятельности в ведущих научных учреждениях страны: в МГУ, во Всесоюзном биологическом центре РАН в Пушкино-на-Оке, в Институте высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, в Институте философии РАН и ряде других учреждений.

Моя первая научная работа была посвящена изучению изменения ядерных белков печени крыс под воздействием  $\beta$ -нафтола и защитной функции витамина А. Работа велась под руководством крупного специалиста в области витаминологии проф. К.М.Леутского. Часть этой работы была проделана на базе Межфакультетской лаборатории биоорганической химии им. А.И.Белозерского (корпуса «А») МГУ под руководством канд. хим. наук, зав. отделом изотопов Е.П. Сенченкова. Я признателен всем, кто помогал мне в этой работе и моем дальнейшем научном росте. Большая помощь при подготовке рукописи мне была оказана доцентом, канд. биол. наук биофака МГУ К.Л.Тарасовым. Были учтены также ценные советы и замечания профессора Г.Х. Шингарова и старшего научного сотрудника лаборатории биохимии опухолей ВОНЦ АМН РАН докт. мед.наук М.А.Шлянкевича, а также докт. мед.наук, профессора, лауреата Государственной премии СССР А.В. Чаклина. Выражаю им огромную благодарность и признательность за оказанную помощь, рекомендации и рецензии.

Москва, 1997 г.

*А.Е. Ч срезов*

## ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ТЕОРИИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

### 1. Ранний этап онкологических воззрений: теория Вирхова, Конгейма, Фишер-Вазельса

В 1773 г. Лионская академия во Франции объявила конкурс на наиболее точное определение рака как болезни. Первое место было присуждено автору формулировки: «Эту болезнь так же трудно определить, как и лечить». Одно из первых упоминаний о раке мы находим в знаменитом «Папирусе Эдвина Смита», относящемся к 2500 г. до н.э. и названном по имени ученого, расшифровавшего его. Обожещенный еще при жизни египетский жрец-врач Имготеп дает такое описание и наставление: «Если ты осматриваешь женщину и находишь у нее в груди плотную вздувшуюся опухоль, а грудь прохладная и нет лихорадки, если в груди нет зернистости и из соска не течет жидкости, а при надавливании она не меняет своего размера и женщина не вскрикивает от боли, то болезнь, с которой тебя зовут бороться, лечения не имеет» (см.: Чаклин, 1990).

В XII в. до н. э. в Китае во времена династии Инь уже было известно о болезни аи — этим термином и сегодня в Китае обозначают рак. В эпоху династии Сун (960 — 1279) появились книги «Книга сокровищ Вэйцзи» и «Медицинский справочник дома Жэнь», в которых имеется следующее описание: «Аи возникает под кожным покровом и уходит в глубь тканей. При вскрытии опухоль напоминает внутреннюю часть карстовой пещеры, небольшие бугорки с заостренными кончиками, иногда голубого цвета, выступающие подобно вылезшим из орбиты глазным яблокам, Их ядовитые корни прорастают глубоко в тело». Подробно

описаны раковые опухоли в «Папирусе Эберса», относящемся к 3730–3710 гг. до н. э.

У древних индусов мы впервые встречаем разделение опухолей на злокачественные и доброкачественные. В индийских священных книгах — ведах — мы находим описание опухолей, а также указание, что они подлежат иссечению. Наибольший вклад в развитие древней онкологии внесли Гиппократ и Абу Ибн Сина (Авиценна). В классическом сочинении Авиценны «Канон медицины» (XI в.), в течение 600 лет бывшем настольной книгой всех медиков, учитель Востока указывал, что необходимо не пропустить начальную стадию этой болезни, а если удалять опухоль, то в пределах здоровых тканей. Авиценна в основном писал о наружных опухолях и, как и Гиппократ, предлагал прижигать их раскаленным железом.

Встречаем мы описание этой болезни и в древних источниках на территории Руси. Так, среди уникальных рукописей Ипатьевского монастыря под Костромой была найдена летопись 1287 г., в которой рассказывается о болезни князя Галицкого. Летописец подробно дает описание рака нижней губы.

Мы еще будем возвращаться к вопросам истории развития представлений о природе рака в доэкспериментальный период. Перейдем теперь к современному состоянию проблемы и очертим проблематику. Несмотря на значительный прогресс, связанный с развитием молекулярной онкологии, полная и последовательная картина генетических процессов при раке пока отсутствует. Общим является представление, согласно которому в основе образования любой опухоли лежат необратимые изменения некоторых генов ДНК в определенной популяции клеток. При этом природа этих изменений, факторы, стимулирующие изменения, специфичность их действия пока остаются загадкой (Киселев и др., 1990).

Однако имеются альтернативные подходы — не все концепции канцерогенеза связывают причину трансформации с генетическими нарушениями. Следует учесть, что в молекулярно-генетической теории онкогенеза пока не выявлен механизм общего знаменателя, который должен объяснить, как различные канцерогенные факторы унифицируются и в конечном итоге приводят к общему результату. Существующие концепции онкогенеза не охватывают всех известных фактов, что необходимо для построения общей теории. Построение общей теории рака возможно на пути интеграции, на новой теоретической основе всех ведущих концепций, в которых имеется рациональный момент. Задача состоит в отборе концепций рака и выделении зерен истины в каждой из них, что предполагает выявление логически связанных, «стыкующихся» положений, которые можно объединить в целостную непротиворечивую теорию.

В результате интеграции на новой основе можно будет установить взаимосвязь между уровнем тканевых изменений в предраке и активизацией онкогенов в клетке как конечным результатом трансформации. Для решения ряда вопросов необходимо выйти на другой уровень организации, поскольку молекулярно-генетическая теория не учитывает тканевые изменения, в частности роль тканевого контроля пролиферации. Она исходит из представления, что механизм трансформации полностью познаваем на уровне генома клетки. По всей видимости, назрела необходимость подвергнуть критике этот постулат и отойти от традиционных представлений, которые сковывают дальнейшее продвижение в исследованиях механизма опухолеобразования.

Необходимость перехода на тканевый уровень с целью выявления механизма канцерогенеза можно обосновать следующим образом. В настоящее время роль пролиферации при канцерогенном воздействии сводят к увеличению пула молодых клеток, в результате чего повышается вероятность нужных мутаций, определяющих трансформацию. При этом не учитывается роль омоложения клеток с точки зрения разрушения структуры и функции тканевого гомеостаза, который контролирует пролиферацию и дифференцировку клеток. Однако длительное омоложение ткани в результате канцерогенного воздействия приводит к искажению тканевой системы регуляции пролиферации, в этом состоит альтернативный механизм трансформации. Воспроизводство, регенерация тканей осуществляется за счет деления стволовых клеток, которые обладают полным набором потенциально «злокачественных» свойств, они минимально дифференцированы, клоногенны, иммортализованы, обладают автономным делением (аутокринная стимуляция митоза), и у них имеются активизированные онкогены. Митотическая активность стволовых клеток и пролиферации в целом контролируется тканевым гомеостазом, поэтому при его нарушении эти клоногенные клетки переходят к неконтролируемому опухолевому росту. Такой механизм рака, основанный на повреждении тканевой системы контроля, хорошо объясняет способность опухолевых клеток нормализоваться при дифференцировке, т. е. явление обратимости трансформации.

Возможны два подхода к построению общей теории рака. Либо на основе анализа фактов строить теорию заново, как бы начиная с нуля, либо, анализируя историю становления, развития концепций канцерогенеза, попытаться путем их интеграции выявить целостную структуру. Очевидно, что существующие концепции не следует рассматривать как взаимоисключающие, они могут находиться в отношении взаимодополняющих. И первый, и второй вариант должен привести к одному и тому же результату.

Совпадение результатов явится доказательством, подтверждающим правильность новой концепции.

Обратимся к начальным этапам становления теоретической онкологии. У истоков современных концепций онкогенеза стояли две теории. Это теория раздражения Р.Вирхова (1867) и теория зародышевых зачатков Конгейма (Cohnheim, 1877). На основе большого клинического материала Вирхов высказал предположение об этиологическом значении повторных механических и химических повреждений для возникновения раковых опухолей. Вирхов допускал возможность прямого раздражения в качестве причины опухолевого роста, ускоряющего процессы деления клеток в этих участках. Это положение учения Вирхова подвергалось возражениям, отрицалась возможность формативного роста, ускоряющего влияния каких-либо раздражителей. Однако при изучении действия половых гормонов стало ясно, что их влияние приводит к гиперпластическим изменениям в некоторых нормальных органах, например в молочных железах, в матке, в ватине и в гипофизе при беременности. Синтетические химические андрогены вызывают пролиферативные изменения в предстательной железе, а эксперименты Лакассаня (Lacassagne, 1947) показали развитие бурной гиперплазии эпителия молочных желез даже у самцов после повторных впрыскиваний эстрогенных гормонов, а затем возникновение раковых опухолей молочных желез. В настоящее время хорошо известно, что применение химических раздражителей, например полициклических углеводов, вызывает диффузную пролиферацию клеток.

Ростоускоряющее действие различных раздражителей — как экзогенных, так и эндогенных — является достоверным, и очевидна его связь с опухолевым ростом. Оценивая теорию Вирхова, многие онкологи считают, что слабой стороной представления о раздражении как этиологическом факторе в возникновении истинных опухолей является недостаточная определенность понятия раздражения, оно мало помогает пониманию приписываемого ему опухолеродного действия, так как не всякие виды раздражения приводят к возникновению опухолей. Почему так происходит, т.е. какова причина неоднозначности, объясняется в концепции канцерогенного профиля, которая будет рассмотрена далее.

Акцентируя внимание на факторе раздражения, в результате которого усиливается пролиферация, концепция Вирхова выступает в качестве модели, описывающей начало механизма трансформации, поэтому она дополняет теорию зародышевых зачатков Конгейма. Последний предполагал, что все истинные опухоли образуются из зародышевых зачатков, оставшихся без употребления в период возникновения и роста зародыша. Концепция Конгейма в определенном смысле близка современной концепции



стволовых клеток. Развитию опухоли, как известно, предшествует длительный период омоложения, эмбрионализации тканей за счет нарушения дифференцировки стволовых клеток, которые, подобно зародышевым клеткам, обладают огромной пролиферативной способностью.

С этой позиции теория Вирхова описывает условия, при которых эмбрионализированные клетки в результате омоложения разрушают тканевую структуру и функцию гомеостаза, выходят из-под контроля. Таким образом, эти теории породили две идеи, входящие в арсенал современных концепций. Это идея о том, что хроническая пролиферация имеет прямое отношение к раку, и идея о роли стволовых клеток в опухолеобразовании.

Остается неясным, почему ускоренная пролиферация способствует опухолеобразованию, являясь причиной, согласно новой теории рака, выхода из-под контроля стволовых клеток. Этот вопрос будет постепенно раскрываться с разных сторон в ходе изложения материала.

Следующий аспект опухолеобразовании связан с ролью развивающейся анаплазии ткани (снижением дифференцировки клеток), что приводит к относительной самостоятельности опухолевого очага. Многие авторы на основе экспериментального материала показывают, что возможность обратного развития дифференцированных клеток сомнительна, гораздо рациональней это явление объясняется недоразвитием, нарушением дифференцировки молодых клеток, появившихся в результате деления стволовых клеток. Об этом свидетельствуют данные о способности раковых клеток проходить дифференцировку, теряя злокачественные свойства, а также данные о потере дифференцированными клетками способности к делению.

Чтобы оценить онкологический смысл, значение омоложения тканей, необходимо учесть те изменения, которые происходят в системе тканевого гомеостаза в результате нарушения дифференцировки. «Социальность» клетки, способность контролироваться со стороны ткани является, как показывают данные, результатом созревания. На клеточной поверхности появляются различные рецепторы, улавливающие регулирующие сигналы, клетка теряет способность делиться и переходит к производству тканеспецифических белков и выполнению тканевых функций. Обратный процесс омоложения клеточного состава приводит к автономности клеток и неконтролируемому росту. Идея роли омоложения (эмбрионализации клеток) как причины канцерогенеза родилась давно, однако она не была обоснована, не получила завершенной формы, поэтому и не стала конкурирующей моделью. Она выступает с позиции современного взгляда не как самостоятельный фактор, а как дополнительное условие усиления мутационного

процесса. Наметившаяся альтернатива, связанная с этим фактором, должна быть еще развита и обоснована. Итак, уточним эти идеи. Согласно первой идее, злокачественные свойства раковой клетки есть результат мутаций онкогенов, согласно второй — трансформация обусловлена эмбрионализацией клеток, которые разрушают тканевый гомеостаз, что приводит к неконтролируемому росту стволовых клеток. Результат в виде неконтролируемого опухолевого роста при нарушении тканевого контроля отличается от результатов нарушения генетического контроля, что позволяет проверить, какой механизм верен. Обратимость трансформации клетки в результате индуцирования дифференцировки опровергает предположение о необратимых повреждениях генома в качестве механизма трансформации.

Продолжим рассмотрение концепций рака, ставших этапами в истории онкологии. Регенерационно-мутационная теория Б.Фишера-Вазельса (1929) делает акцент на особом значении регенерации клеток для онкогенеза. В результате регенерации появляются молодые размножающиеся клетки в местах воздействия канцерогена. Как считал Фишер-Вазельс, регенерация — это «чувствительный период» в жизни клеток, когда может произойти трансформация. Однако регенерация возникает лишь в виде реакций на происходящую дегенерацию под влиянием повреждающих воздействий. Это обстоятельство заставляет учитывать самые различные факторы, вызывающие повреждения в клетках и тканях. Само превращение нормальных клеток в опухолевые совершается, по Фишер-Вазельсу, за счет изменений в метаструктурах, т.е. в мельчайших частях клеточного и межклеточного живого вещества. Позднее Фишер-Вазельс (1936) выдвинул ряд «законов», определяющих патогенез злокачественных опухолей: закон латентного периода — начало действия какого-либо канцерогенного фактора до появления признаков опухоли; закон первичности тканевого повреждения с последующей длительной регенерацией; закон образования опухолевого зачатка с последующей малигнизацией. Оценивая теорию Фишера-Вазельса, можно сказать, что она верно акцентировала внимание на регенерации как результате повреждения клеток канцерогенами, но роли пролиферативной реакции вскрыть не смогла, сам механизм рака оставался неизвестен.

Идеи Конгейма получили дальнейшее развитие в учении Рибберта (Ribbert, 1914) о возникновении опухолевых зачатков не только в эмбриональном, но и в самостоятельном периоде жизни людей и животных. Рибберт заимствовал из теории Конгейма его основную мысль о возникновении опухоли из предварительно образующихся опухолевых зачатков, но отказался от положения об обязательном возникновении зачатков в эмбриональном периоде

жизни. Зачатки могут возникать, по предположению Рибберта, на почве травм и воспалительных процессов. Под влиянием включения клеточных групп из их анатомо-физиологических связей и возникает та «автономность» зачатков, которая обеспечивает неконтролируемый рост. Он подчеркивал, что истинные опухоли в отличие от инфекционно-воспалительных пролифератов растут «из самих себя». Другое важное положение состоит в том, что группа клеток должна оказаться в некоторой изоляции, иначе говоря, должна уйти из-под влияния тканевого контроля.

В 60-х годах наиболее распространенной и согласованной считалась полиэтиологическая теория. Она связывала появление опухолей с самыми разнообразными вредными влияниями на организм — как местными, так и общими. Патогенез опухолеродного превращения рассматривается как результат регенераций, следующих за повторными повреждениями. Эта теория основывалась на том, что различные вредные воздействия могут порождать в тканях мельчайшие несмертельные повреждения, что вызывает компенсаторные повторные регенерации. Однако они приводят к опухолеобразованию только в тех случаях, когда повреждаются одновременно нервная или гормональная системы, которые поддерживают нормальные взаимоотношения между всеми компонентами тканей в организме, обеспечивая нормальный рост и размножение клеток. Многие онкологи предполагали, что в основе опухолеродного клеточного размножения лежат изменения обмена веществ, белкового и углеводного. Уже хорошо было известно, что при индукции опухолей различными факторами возникают дистрофические пролифераты, способные к неорганическому разрастанию. Следующий существенный момент состоит в том, что имеется определенное соответствие между дозой канцерогенного воздействия и силой опухолеродного эффекта. По мнению ряда авторов, это опровергает положение вирусогенетической теории о том, что канцерогенное действие осуществляется одними опухолеродными вирусами, поскольку в этом случае не было бы корреляции с дозой канцерогена. С нашей точки зрения, наличие зависимости канцерогенного эффекта от дозы и промежутков нанесения канцерогена ставит проблему структуры или режима канцерогенного воздействия как необходимого условия трансформации. Факт наличия такой структуры, параметры которой можно в каждом конкретном случае установить эмпирически (для разных тканей и канцерогенов она различна), говорит о наличии некоторого механизма в ткани, т.е. необходимая структура воздействия является отражением структуры гомеостаза ткани. Иначе говоря, структура канцерогенного воздействия, необходимого для индуцирования опухоли, будет отражать пара-

метры тканевого гомеостаза, его свойства восстанавливаться после повреждения.

Отметим, что постановка вопроса о наличии на тканевом уровне структуры, которая определяет режим канцерогенного воздействия, необходимого для развития опухолеобразования, является новым подходом к механизму опухолеобразования. Это означает, что механизм трансформации определяется не мутациями в клетке, а тканевой системой контроля пролиферации. Возникает определенная симметричность между необходимым канцерогенным профилем и свойствами тканевого гомеостаза.

В 1923 г. О. Варбург (Warburg, 1926) обнаружил высокую скорость образования молочной кислоты раковыми клетками и пришел к заключению, что способность получать энергию за счет «молочнокислой ферментации» глюкозы и расти за счет энергии этого процесса является главной биохимической характеристикой раковых клеток. Первичной причиной рака, по его мнению, является замещение дыхания кислородом в нормальных клетках тела ферментацией сахара. Варбург, к сожалению, не вышел на центральную проблему — механизм, контролирующий деление нормальных клеток и утрачивающийся при раке. Приведем точку зрения И.Ф.Сейца и П.Г.Князева (1986, с.15), они пишут: «Неосомненно, различия в энергетическом обмене, открытые Варбургом, важны, однако, будучи таковыми, они находятся на уровне биохимической организации клетки и недостаточно глубоки, чтобы касаться сердцевины проблемы рака, неконтролируемого роста... Первичную причину следует искать на уровне контроля генной экспрессии, детали которой пока неизвестны». Это замечание авторов имеет принципиальное значение, однако, с нашей точки зрения, исходя из положения о нарушении контроля пролиферации, нельзя сделать однозначный вывод, что оно обусловлено нарушением генетического контроля.

Чтобы разобраться в этом вопросе и смысловой неоднозначности, рассмотрим следующий пример. Представим в качестве схемы систему, состоящую из относительно автономных подсистем, где каждая подсистема обладает собственной системой регуляции. Регуляцию на уровне подсистемы обозначим первым уровнем регуляции, а на уровне целостной системы — вторым уровнем контроля. Синхронизировать функционирование системы как единого целого можно с помощью механизма контроля второго уровня, поскольку регуляция на уровне подсистемы не распространяется на всю систему. Если бы это было не так, то подсистемы вступили бы в конкурентные взаимоотношения друг с другом за контроль над системой. Если вместо абстрактных систем рассмотреть тканевый гомеостаз, осуществляющий контроль пролиферации, а вместо подсистемы — регуляцию клетки на

уровне генома, то становится понятным, почему нарушение контроля пролиферации при опухолеобразовании связывается в новой теории с тканевым контролем, а не с генетическим.

Можно привести в качестве примера соображение эволюционного характера. В том, что трансформация зависит от стабильности тканевого гомеостаза, есть своя логика. Если бы генетические мутации определяли трансформацию, то организмы постоянно бы болели раком. Система тканевого гомеостаза более надежна, так как не зависит от единичного события в клетке, а основывается на динамике воспроизводства клеточных популяций, т.е. интегративного результата функционирования большой совокупности клеток.

С другой стороны, если бы генетические мутации ускорили деление одноклеточных организмов, то генетически аномальные организмы получали бы эволюционное преимущество. Это ставит вопрос о неоднозначности представления о развитии рака за счет мутации в отдельной клетке.

Хотя эти аргументы носят характер общего соображения, они подчеркивают неочевидность, проблематичность традиционного подхода к трансформации в результате генетических нарушений за счет неспецифического воздействия различных канцерогенных факторов, что не укладывается в представление о специфичности молекулярно-генетических взаимоотношений. Может возникнуть вопрос: почему речь идет о неспецифическом воздействии, откуда это следует? Очевидно, что такое большое количество канцерогенов, различных по природе, не имеет общего специфического свойства.

Из работ Варбурга известно, что гликолиз клеток тела максимален на наиболее ранних стадиях эмбрионального развития, но постепенно падает по мере дифференциации эмбриона. Целый ряд характеристик дифференцированной клетки исчезает вовсе в процессе дедифференцировки. Поэтому изменение дыхания, с нашей точки зрения, — это не причина рака, а следствие омоложения клеток, а именно результат изменения состава ферментов; это можно обосновать тем, что аналогичные изменения наблюдаются при регенераторных процессах.

Мы коснулись некоторых аспектов основ теории канцерогенеза, и именно в этом вопросе необходимо сделать принципиальные изменения. Выражая общую позицию по этому вопросу, И.Ф.Сейц и П.Г.Князев (1986, с.35) пишут: «Поскольку основной функцией неопластических клеток является их воспроизведение, а материальным субстратом этого процесса служат нуклеиновые кислоты, именно в этой категории веществ клетки можно было бы в первую очередь ожидать изменений при раковом и лейкозном перерождении в отношении как химизма, так и обменных превращений... Можно поэтому ожидать, что решающие от-

крытия в области выяснения природы неоплазм придут именно из сферы изучения состава, структуры и превращения нуклеиновых кислот. Это явилось бы логическим завершением длительного пути и торжеством того направления мысли, которое признает изменение в генетическом материале в качестве первичного импульса ракового или лейкозного перерождения».

Авторы выражают своего рода философию современного понимания канцерогенеза, которая определяет интерпретацию фактов.

В чем ошибка в этих кажущихся безупречными выводах? Несмотря на то что материальным субстратом воспроизведения клетки являются нуклеиновые кислоты, это не означает, что механизм контроля пролиферации в ткани осуществляется на уровне генома клетки. За скобки выносятся механизм тканевого контроля. Этот вопрос и представляет ту альтернативу подхода, которая была не видна ввиду кажущейся однозначности, очевидности традиционного подхода. Какие факты могут подтвердить или опровергнуть концепцию нарушения контроля пролиферации? Очевидно, если нарушение контроля обусловлено выходом из строя тканевого гомеостаза, то раковые клетки должны обладать способностью нормализоваться в результате стимуляции дифференцировки. Если нарушение происходит на уровне генома в виде мутаций или иных необратимых изменений генома, то трансформация должна быть необратимой. Данные по нормализации опухолевых клеток при дифференцировке (Швембергер, 1987) подтверждают первую концепцию, т.е. при дифференцировке раковые клетки теряют злокачественность и нормализуются, что было бы невозможным, если бы трансформация была обусловлена необратимыми изменениями генома. Второй аргумент состоит в том, что необратимые изменения генома привели бы к необратимому блокированию (нарушению) дифференцировки, поскольку данные не подтверждают этого, то опровергается механизм трансформации за счет мутаций.

## **2. Концепция «конвергенции» и «дивергенции» опухолевой прогрессии**

Важное значение в понимании механизма канцерогенеза занимает концепция «конвергенции» J.Greenstein (1951) (см: Сейц, Князев, 1986). Этот крупный ученый развил представление о приобретении опухолями некоторых общих биохимических свойств. Это относится к ферментам и другим качествам опухолевых клеток. Данное направление основывается на том факте, что в процессе опухолеобразования имеет место прогрессирующая дедифференцировка

Каждой нормальной клетке присущ ряд морфологических и биохимических особенностей, позволяющих выполнять в ткани физиологические функции. Наряду с фундаментальными процессами энергетики, роста ей присущи специфические процессы, характерные для данной ткани. Прогрессирующая дедифференцировка приводит к утрате специфических ферментов, в неоплазмах сохраняются лишь энзиматические системы, обеспечивающие необходимые для выживания функции поставки энергии и размножения. В результате прогрессии опухоли уподобляются друг другу. Автор пришел к заключению, что неоплазмы различного происхождения более сходны морфологически и биохимически, чем каждая из них со своей нормальной тканью. Данные показывают, что существует корреляция между снижением активности специфических ферментов и скоростью роста опухоли.

Оценивая гипотезу «конвергенции», В.С.Шапот (1975) отметил, что гипотеза об унификации обмена веществ опухолей различного гистогенеза верна, но не полностью. Огромный экспериментальный материал свидетельствует о существовании и обратной тенденции — фенотип отдельно взятой клетки злокачественной опухоли оказывается уникальным, а спектр биохимических характеристик — неповторимым, включающим в себя каждый раз иные комбинации отклонения от нормы. Возникает противоречие между тенденциями развития, уподобления и увеличения разнообразия свойств. Как примирить эти несогласующиеся тенденции? С нашей точки зрения, эти противоречивые направления изменений можно примирить путем соотнесения той или иной тенденции со степенью прогрессии, т.е. фазой опухолеобразования. Очевидно, что гипотеза «конвергенции» верна не только для всего переходного состояния опухолеобразования, а для опухолей, далеко продвинутых в направлении дедифференцировки. Эта же гипотеза неверна для начальных и промежуточных фаз развития, поскольку в этих состояниях спектр разнообразия свойств увеличивается за счет появления клеток, находящихся в разной фазе дифференцировки. Разброс свойств будет минимальным, когда все клетки будут дифференцированы либо недифференцированы. Другой аспект увеличения разнообразия в опухолевой прогрессии связан с тем, что промежуточные состояния дифференцировки клетки с точки зрения реализации генетической программы могут соответствовать другим тканям, как это происходит в процессе эмбриогенеза, когда организм «проходит» программы других видов. Эта аналогия объясняет, почему в опухоли могут обнаруживаться клетки, характерные для других тканей. Таким образом, аргумент В.С.Шапота справедлив, но относится к другой стадии опухолеобразования, поэтому он не противоречит концепции «конвергенции».

### 3. Делеционная гипотеза

При анализе канцерогенеза, вызванного азокрасителями, было обнаружено, что происходит связывание диметиламиноазобензола с цитоплазматическими белками печени. В ходе канцерогенеза содержание клеточного белка, реагирующего с красителем, постоянно убывает до полного исчезновения его в сформировавшейся гепатоме. Было высказано предположение, что с канцерогеном связываются белки, контролирующие рост. -«Выпадение» этих регуляторных белков приводит к неограниченному росту. Дальнейшие исследования не внесли ясности в понимание значения этой группы белков в химическом канцерогенезе. Так, было показано, что в ходе канцерогенеза кожи мышей полициклическими углеводородами происходит аналогичный процесс связывания и исчезновения белков. Из этих фактов был сделан вывод: соединение канцерогена с определенным цитоплазматическим белком вызывает необратимое изменение или потерю этого белка, что играет решающую роль в канцерогенезе. Предполагали, что утрата белка снимала торможение деления ядра и способствовала опухолеобразованию.

Оценивая эту модель канцерогенеза, И.Ф.Сейц и П.Г.Князев (1986) отметили, что до сих пор не удалось привести достаточно убедительных доказательств гипотезы «выпадения», они пишут: «Канцерогены связываются не только с белками, но и с другими компонентами клетки, и прежде всего с нуклеиновыми кислотами, именно на это следует обратить внимание» (с.39).

К сожалению, теория онкогена не внесла ясность относительно этой гипотезы, и имеются основания не согласиться с интерпретацией и оценкой, которую дают И.Ф.Сейц и П.Г.Князев.

В чем суть проблемы выпадения белка, каков механизм этого явления? Очевидно, можно иначе объяснить феномен «выпадения»? Решение этой проблемы содержится в вышеприведенной концепции «конвергенции», точнее, в одном из ее аспектов. Суть состоит в том, что прогрессирующее омоложение, которое наблюдается при канцерогенезе, и соответственно дедифференцировка клеток связаны с постепенным снижением количества синтезируемых тканеспецифических белков. В результате дедифференцировки меняется ферментативный спектр в сторону уменьшения количества синтезируемых белков, до полного исчезновения некоторых из них. Это означает, что снижение количества белка происходит не за счет связывания с экзогенным фактором, а за счет эмбрионализации ткани. Канцерогены вызывают повышенную пролиферацию, а она определяет прогрессирующую эмбрионализацию ткани, в результате искажается спектр синтезируемых белков. Далее мы рассмотрим, как это влияет на механизм контроля пролиферации, а именно на структуру тканевого гомеостаза.



#### 4. Эпигенетические концепции

Гипотезы, обосновывающие ведущую роль в неоплазии эпигенетических факторов, исходят из того, что наследуемые квази-обратимые изменения могут происходить в ходе дифференциации без изменения генетической информации. Например, эпигенетические последствия реакций п-гидрокси-эфиров аминов и амидов с аминокислотами (метионином, цистеином, тирозином, триптофаном) в белках и с гуанином и другими основаниями в различных РНК рассматриваются в качестве механизмов канцерогенеза. Мысль, что такие реакции лежат в основе обратимости трансформации, была высказана лауреатами Нобелевской премии Ф.Жакобом и Ж.Моно (Jacob, Monod, 1961). Вскоре она получила подтверждение в виде демонстрации быстрого эпигенетического действия метилхолантрена в печени крыс. На основе этих реакций было сделано предположение, что опухоли могут возникать в результате действия потенциально обратимых аберраций при дифференциации, которые являются результатом модификации транспортных РНК, индуцированных канцерогенами.

Чем же вызвано появление эпигенетических концепций, какие факты они объясняют? Появление концепций, не связывающих механизм трансформации с мутациями, основывается на данных по нормализации опухолевых клеток при стимуляции дифференцировки. С этой точки зрения эпигенетические концепции исторически предшествуют тканевой теории и являются родственными.

В связи с явлением нормализации раковых клеток возникает проблема изменения оснований, принципа теории онкогена. С одной стороны, надо сохранить рациональное зерно теории онкогена, с другой — необходимо изменить принцип механизма трансформации. Тканевая модель канцерогенеза сохраняет идею активизации онкогенов, но в другой форме, не за счет повреждений генома или белков, а в результате нарушения тканевого гомеостаза и выхода из-под контроля клоногенных клеток, обладающих активизированными онкогенами. Тем самым можно отделить идею активизации онкогенов в стволовых клетках и выход их из-под контроля тканевой системы от идеи нарушения генома в качестве предполагаемой причины трансформации.

Существует ряд гипотез, выделяющих такой аспект, как аномальная экспрессия генов, сдвиг изозимного спектра в опухолях. S.Weinhouse (1972) (см: Сейц, Князев, 1986) на экспериментальных гепатомах изучал отклонение в генетической экспрессии, проявляющейся в изоэнзимных изменениях. Он пришел к выводу, что ошибочное программирование генетической информации является общей фенотипической чертой рака. Сюда же следует отнести появление фетальных белков. Он считал, что гены, бывшие активными

в эмбриональном состоянии и репрессированные в ходе дифференцировки, реактивируются при раке. S. Wemhouse отмечают существенные изменения в экспериментальных гепатомах различной степени дифференцировки. С уменьшением степени дифференцировки гепатом активность глюкокиназы практически исчезает. В этой группе опухолей имеют место почти полное исчезновение высокоактивного и играющего ключевую физиологическую функцию в нормальной печени изозима и значительная дерепрессия изозимов, слабоактивных в зрелой печени. Эти данные соответствуют таковым эмбриональной печени (Ходосова, 1988).

Характерны изменения в экспериментальных гепатомах изоферментов альдолазы. Альдолаза А — доминирующая форма фермента в эмбриональной печени. Альдолаза В представляет единственную форму этого фермента в зрелой печени. С падением степени дифференциации альдолаза А начинает появляться, и, подобно гексокиназным изоэнзимам, низкодифференцированные гепатомы полностью теряют альдолазу В, которая замещается высокоактивным изозимом альдолазы А.

Сходные трансформации происходят в гепатомах с ферментом пируваткиназой. В медленно растущих высокодифференцированных гепатомах (9618 А) активность пируваткиназы высока, но низка в опухолях средней степени дифференцированное™ и практически отсутствует в быстрорастущих, низкодифференцированных.

Как интерпретировать приведенные данные? Анализируя проблему изменения ферментативного, белкового спектра опухолей в процессе прогрессии, И.Ф.Сейц и П.Г.Князев пишут: «Рак характеризуется потерей контроля хозяина над клеточной пролиферацией. 4Обратной стороной медали» являются нарушение дифференциации и сопутствующие этому изменения в экспрессии отдельных важных в функциональном отношении генов... Делалось много попыток найти связь между пролиферативными процессами опухолей и их энзиматическими активностями, однако безуспешно. Это и понятно, так как простое определение валовых энзиматических активностей часто не выявляет тонких и глубоких сдвигов, определяемых измененной молекулярной структурой отдельных изоэнзимных компонентов» (с.43). Мы привели данную точку зрения, чтобы сопоставить ее с интерпретацией этих процессов с позиции тканевой модели. Можно не согласиться с тем, что нарушение дифференцировки является «обратной стороной медали» нарушения контроля пролиферации. С нашей точки зрения, здесь перепутаны причина со следствием в последовательности событий. Предшествует ли дедифференцировка трансформации или наоборот? С нашей точки зрения, нарушение дифференцировки предшествует трансформации, поскольку омоложение

ткани — характерный признак также регенераторных процессов, которые не обязательно переходят в опухолеобразование. При канцерогенном воздействии омоложение клеточного состава на начальных этапах является обратимым — при прекращении канцерогенного воздействия ткань нормализуется. Это доказывает неспецифичность канцерогенного воздействия и неспецифичность начальной фазы опухолеобразования. Относительно связи пролиферации при канцерогенном воздействии и энзиматических активностей можно предложить следующую модель. Известно, что ускоренная длительная пролиферация с необходимостью вызывает омоложение клеточного состава за счет конкуренции между пролиферацией и дифференцировкой — клетки не успевают пройти дифференцировку. Поскольку состав ферментов, синтезируемых стволовыми и дифференцированными клетками, различен, то увеличение в ткани доли низкодифференцированных стволовых и коммитированных клеток изменит ферментативный спектр, о чем свидетельствуют рассмотренные выше данные. Например, эмбриональные антигены а-фетоглобулина определяются в нормальных тканях и могут количественно нарастать не только при раке, но и в регенерирующей печени, при гепатите и циррозе, а также в «preneопластической» печени вскоре после начала скармливания канцерогенов (Абелев, 1971).

Что же является общим в различных канцерогенных факторах?

Специалисты по химическому канцерогенезу считают, что специфические канцерогенные компоненты различных смол, сажи, масел, сигаретного дыма и бетельных орехов пока не раскрыты. С позиции молекулярно-генетической теории канцерогенность отождествляется с генотоксичностью. В настоящее время этот вопрос окончательно не решен.

Трудность в определении канцерогенных компонентов в перечисленных канцерогенах связана с тем, что канцерогенными могут быть механические повреждения или такой фактор, как имплантация сплошной пластинки в ткань. Механизм гормонального рака также не имеет объяснения в теории онкогена, поскольку гормоны, согласно общепринятой точке зрения, не относят к канцерогенам, так как они не являются генотоксическими факторами (Дильман и др., 1989). Отметим, что гормоны вызывают рак лишь в том случае, когда они в избытке и действие их продолжительно. Очевидно, дело не в отдельном компоненте, обладающем канцерогенностью, а в самом характере напряженного, длительного функционирования ткани, поскольку повышенная функциональная нагрузка на ткань инициирует ускоренную пролиферацию, которая вызывает омоложение клеток. Накопление таких клеток разрушает отлаженную воспроизводимую систему тканевого гомеостаза. Таким образом,

можно заключить, что общим канцерогенным фактором является длительный режим повышенной пролиферации, который разрушает систему тканевого контроля.

## **5. Проблема хронической пролиферации как фактора канцерогенеза в истории онкологии**

В методологическом плане идея ускоренной пролиферации как фактора канцерогенеза обладает рядом преимуществ, поскольку позволяет объяснить, как различные по природе канцерогенные факторы приводят к единому результату.

Компенсаторная пролиферация неспецифична и выступает как защитная реакция от различных повреждающих факторов, эта функция хорошо укладывается в представление о механизме «общего знаменателя». Общая точка зрения состояла в том, что механизм общего знаменателя, осуществляющий нивелировку, унификацию канцерогенов, находится в клетке и связан с повреждением онкогенов, т.е. что активизация онкогенов выступает в качестве такого механизма. Однако патологическая активизация онкогенов является конечным результатом трансформации (неизвестным остается сам механизм трансформации), и она не раскрывает механизма действия и унификации канцерогенов. Этот аргумент усиливается, если учесть специфичность молекулярно-генетических процессов, что не соответствует большому разнообразию канцерогенных факторов. Таким образом, общий знаменатель на уровне отдельной клетки обнаружить не удастся, что опровергает теорию онкогена. Это дает основание для поиска механизма общего знаменателя на уровне тканевого гомеостаза, контролирующего пролиферацию клеток. Но это означает, что механизм рака нельзя понять на уровне отдельной клетки. Поскольку ускоренную пролиферацию может вызвать избыток гормонов при гормональном дисбалансе (митогенное воздействие) либо она инициируется повреждением, гибелью клеток, то из этого вытекает, что хроническая пролиферация является «узким местом» канцерогенеза, т.е. различные канцерогены оказывают онкологическое, трансформирующее действие путем инициации компенсаторной пролиферации. Вирхов систематически развил идею ускоренной пролиферации в канцерогенезе, но он не первый, кто обратил внимание на ускоренную пролиферацию как на причинный фактор в механизме рака. Подобные утверждения господствуют в доэкспериментальной онкологической литературе. Об этом говорится и в монографии Венцеля (Wenzel, 1815), и во многих медицинских руководствах, изданных как в начале XIX в., так и в XVIII в. (см.: Салаямон, 1974).

Причину рака желудка Ван-Свитен (1700—1772) связывал с хроническим воспалением. Таково же было мнение его учителя Бургава (1668-1738) (Vamberger, 1855) (см.: Wolff, 1907). Позже врачи утверждали, что неспецифические повреждения ткани могут привести к возникновению опухоли. Анализируя этот вопрос, Л.С.Салямон (1974, с.10) пишет: «Положение о связи между воспалением и раком возникло не как теоретическая догадка, а как эмпирическое обобщение. Десятки поколений врачей собственными глазами наблюдали и своими руками ощупывали опухоли, локализованные в прежде воспаленной ткани». Но каков механизм связи между хронической пролиферацией и трансформацией, ни тогда, ни в настоящее время открыть не удалось: проблема предрака и роль хронической пролиферации остались нераскрытыми в молекулярно-генетической теории.

Что же помешало развить идею неспецифического раздражения? Вопреки выводам опухоли у животных, подвергнутых действию «раздражителей», порой не возникало. Опухоли не возникали ни в опытах Ганау (1889), наносившего каменноугольную смолу на мошонку крыс, ни в последующих опытах Казена (1894) (см.: Шабад, 1947).

В чем же причина ряда неудач при индукции экспериментального рака?

С позиции тканевой модели принципиальное значение имеет структура, или профиль, канцерогенного воздействия на ткань: сила, длительность воздействия, промежутки между воздействиями. Именно в этом кроется причина первых неудач при индуцировании опухолей. Один и тот же канцероген при разных режимах воздействия оказывает разное, в том числе не опухоловое, действие. Кажущаяся тривиальность неспецифического раздражения скрывает тайну истинного механизма рака. Многие ученые, однако, основываясь на неудачных экспериментах, на долгие годы отказались от этой идеи, которая, по существу, разрушает мутационную и молекулярно-генетическую теорию. С другой стороны, на основе клинических данных к идее неспецифического раздражения пришли крупнейшие медики в истории медицины.

Опровергая теорию Вирхова, Л.С.Салямон (1974, с.15) пишет: «В 40-е годы экспериментальная онкология уже располагала фактами, которые противоречили этой теории. Если бы концепция Вирхова была справедлива, то любое хроническое повреждение ткани должно было бы вызывать опухоли. Однако этого не происходит... не удалось получить опухоли путем смазывания кожи мышей ацетоном, бензолом, ксилолом, толуолом, скипидаром, горчичным маслом и т.д. или путем введения животным под кожу шелковой нити, инфузورной земли, толченого стекла, шарлахрота и десятков других раздражителей... Возникла необходи-

мость найти специфический механизм действия канцерогенов, отличающийся от неспецифического действия банальных раздражителей».

При таком подходе возникает противоречие с другого рода фактами, свидетельствующими о неспецифическом характере многих канцерогенных факторов. Например, с помощью хронического травмирования кожного покрова можно вызвать опухолеобразование: трение упряжи у вьючных и тягловых домашних животных вызывает рак в местах трения. У магометан, бреющих голову плохо наточенными бритвами и от этого постоянно ранищих кожу головы, в этих местах возникает рак (Лабард, 1979). В Индии, в штате Кашмир, местные жители в период зимних холодов для обогрева привязывают к животу плетенку, которая называется кангри, в нее ставят горшки с горячими углями. Такое воздействие вызывает рак «кангри». Такой же рак известен у японцев, носивших печки капро, наполненные горячими углями. Хронические ожоги живота приводили к развитию рака кожи. Рак «сари» (Индия) возникает от ношения грубоворсистой шерстяной ткани, в результате длительного раздражения кожи. Важно выделить общую черту канцерогенеза — природа раздражающего фактора не имеет значения, определяющими качествами канцерогенов являются уровень травмирования ткани и длительность действия, что коррелирует с характером пролиферации. Тот факт, что рак можно вызвать различными по природе канцерогенными факторами, доказывает его неспецифический характер. С этой точки зрения разгадка тайны рака кроется в механизме общего знаменателя. Что же такое канцерогенность как свойство в различных факторах канцерогенеза? В теории онкогена понятие канцерогенности осталось нераскрытым, поскольку не все канцерогенные факторы генотоксичны. Если это химическое вещество, то не понятна роль механического трения, травмы или, например, имплантации сплошной пластинки в ткань и т.д. Эти канцерогенные факторы невозможно объединить на основании какого-либо общего признака. Неспецифичность механизма рака следует из того факта, что огромное число различных по природе канцерогенов способны вызывать рак.

В теоретическом плане, если обратиться к началу экспериментальной онкологии, противоречие возникло между выводом, сделанным классиками медицины, исходя из клинического опыта, и выводом, сделанным представителями молодой развивающейся экспериментальной онкологии, на основе отрицательных результатов по индукции опухолей различными канцерогенными факторами. К сожалению, вывод экспериментаторов, полученный на основе отрицательных результатов, оказался более убедительным.

Обратимся к истокам современных концепций рака.

С появлением генетики поиск разгадки механизма рака устремляется в новом направлении. Не является ли опухолевая трансформация следствием мутаций? Действие ионизирующих лучей начали связывать не с «раздражающим» эффектом, а с мутагенной активностью. С этого периода история онкологии делится на два этапа — догенетический период и генетический. Вершиной генетического направления стала молекулярно-генетическая теория онкогена.

Однако не все онкологи следовали этому ведущему направлению, связывающему рак с мутациями. Так, биолог Л.Гейльбрун (1957, с.212) замечает, что «...в современных книгах, посвященных раку, вопрос о связи рака с повреждением и раздражением отеснен на задний план множеством новых фактов, возможно более второстепенных». А онколог И.Беренблум (1961, с.79) восклицает: «Меня всегда удивляло, что идея о канцерогенном действии простого «раздражения» считается давно уже отвергнутой». Даже факты, полученные опытнейшими учеными, принимались с большим недоверием. Однако многолетние опыты Н.Н. Петрова и Н.А. Кроткиной (1928, 1944) показали, что у морских свинок можно вызвать злокачественные опухоли желчного пузыря путем его длительного раздражения инородным телом.

Стереотипы восприятия, связанные с отказом рассматривать неспецифические раздражения в качестве канцерогенных факторов, мешали выявлению истинного механизма рака.

Как же от «тривиального» раздражения перейти к опухолевому воздействию? Обратим внимание, что в приведенном примере опытов с морскими свинками авторами указывается на необходимость длительного воздействия. Мы подошли к новой, неисследованной проблеме — «структуры» канцерогенного воздействия, от которого зависит режим пролиферации. Речь идет о структуре воздействия, т.е. канцерогенном профиле. Очевидно, что понятие канцерогенного фактора включает, кроме физического воплощения, например в виде вещества, излучения, механического воздействия, вируса и т.д., еще один компонент, который вроде бы неосозаем, однако экспериментально его легко обнаружить: это время, частота и сила воздействия. Этот компонент характеристики канцерогенного воздействия определяет динамику воздействия и соответственно режим пролиферации, поэтому от него зависит степень эмбрионализации ткани.

В парадоксальной форме реальность феномена канцерогенного профиля можно выразить в утверждении, что канцероген без канцерогенного профиля (или с недостаточно высоким профилем) не является канцерогеном. И наоборот, неканцерогенный гормон превращается в истинный канцероген, если он создает, индуцирует канцерогенный профиль. Таким образом, мы выдвиги-

гаем концепцию канцерогенного профиля, которая учитывает динамику воздействия и способность к восстановлению тканевого гомеостаза, т.е. учитывает соотношение между свойствами тканевого гомеостаза, его способностью себя восстанавливать и динамическими параметрами канцерогенного воздействия. Отказавшись от неспецифических факторов, поиск причин рака попадает в логическую ловушку — возникает проблема, как такое большое число различных по природе факторов вызывает один и тот же эффект. Разрешить это противоречие можно при одном условии, если допустить, что существует механизм общего знаменателя, который на входе нивелирует разнообразие канцерогенов. Выявление такого механизма и будет означать раскрытие тайны рака.

Активизация онкогенов как результат трансформации не подходит на эту роль, поскольку механизм общего знаменателя стоит на входе процесса опухолеобразования, а активизация онкогенов, как предполагает теория онкогена, является конечным результатом. Оценивая теорию онкогена, Ф.Л. Киселев и др. (1990, с.315) пишут: «Каковы же конкретные молекулярные механизмы превращения нормальной клетки в опухолевую? Авторы вынуждены констатировать, что прямого ответа, естественно, они дать не могут... молекулярная онкология возникла как наука уже после 1980 г. Отсюда следует, что за столь короткое время своего существования она не могла разрешить главного вопроса... каков механизм контроля регуляции деления клеток... Однако можно, вероятно, утверждать, что рак — это заболевание генетического аппарата клетки, т.е. закрепление изменения генов в определенной популяции клеток».

Уже с первых шагов в развитии представлений о природе опухолеобразования стало ясно, что эта проблема затрагивает фундаментальные основы живых систем и поэтому надеяться получить быстрый ответ чисто эмпирически, не анализируя сущность трансформации, невозможно. По мнению Н.Н.Петрова (1959), истинные опухоли тесно связаны с самой сущностью жизни многоклеточных организмов. Другой крупный советский ученый, И.В.Давыдовский (1959, 1961), высказал такое соображение, что «преимущественно практическое направление медицинской науки способствовало выявлению множества этиологических факторов, вызывающих злокачественный рост, но сильно затормозило познание биологической сущности последнего». Биологическая же сущность, как указывал И.В.Давыдовский, при чрезвычайном разнообразии причинных факторов должна быть единой, из чего вытекает необходимость общebiологического подхода к изучению проблем рака.

Казалось, можно было бы идти в теоретических построениях непосредственно от фактического материала, который предоставляет клинический опыт. В этом случае тканевые изменения бы-



ли бы в центре внимания. Но, к сожалению, этого не произошло, и богатый клинический материал, касающийся предраковых состояний, остался в стороне от генетического подхода. В определенной мере это связано с этапами развития теоретической онкологии. Поиск механизма рака на клеточном, затем на молекулярно-генетическом уровне обусловлен этапами развития самой биологии. Теоретическая онкология как бы повторяла эти этапы, преломляя их через призму своей проблематики. Рождение молекулярной биологии закономерно породило молекулярную онкологию. Основной постулат о том, что механизм рака реализуется на уровне клетки, получил дополнительное подкрепление, когда были открыты онкогены. Однако, несмотря на широкое признание молекулярно-генетической теории, сам механизм трансформации взят ею от предшествующей мутационной концепции, с этой точки зрения она не является принципиально новой теорией. Старая, критикуемая мутационная концепция рака в лице теории онкогена получила современную молекулярно-генетическую форму. Очевидно, необходима дифференцированная оценка теории онкогена: разрушая представление о механизме трансформации, основанном на генетических необратимых изменениях, необходимо сохранить идею активизации онкогенов в ее альтернативном варианте, связанном с нарушением тканевого гомеостаза, который контролирует деление стволовых клеток, обладающих активизированными онкогенами и раковым фенотипом. Иначе говоря, из-под контроля выходят клетки, обладающие активизированными онкогенами, которые не репрессируются ввиду блокировки дифференцировки. Чтобы репрессировать активизацию онкогенов, необходимо индуцировать дифференцировку. Следовательно, активизация онкогенов непосредственно зависит от степени дифференцировки и нарушения тканевого контроля.

## **6. Взгляды Н.Н.Петрова на природу и механизм опухолеобразования**

Обращаясь к работам крупнейшего онколога Николая Николаевича Петрова (1876 — 1964), необходимо отметить, что они являются этапом в развитии онкологической мысли, поэтому необходимо осмыслить их с позиции сегодняшнего дня. Проанализируем основные положения этого учения. Касаясь определения понятия опухоли, Н.Н.Петров (1947, с.2) писал: «В настоящее время мы твердо стоим на позиции признания за истинные опухоли только тех процессов, которые основываются на размножении клеток... опухоль — это местное увеличение объема, проис-

шедшее вследствие размножения клеток... в это понятие включаются только такие случаи увеличения объема в зависимости от размножения клеток, когда размножающиеся клетки оказываются атипичными, т.е. отличаются от соответствующих нормальных своей неполной дифференцировкой и полиморфизмом».

Автор подчеркивал, что опухолевые клетки не имеют универсального морфологического признака, отличающего их от нормальных клеток, выделяя нарушение дифференцировки. Наиболее существенным признаком является характер роста злокачественных клеток: рост опухоли идет без участия паразитов, путем разрастания опухолевых клеток, получивших внутреннюю способность к прогрессивному росту без повторного участия первичной воздействующей причины. Во всех этих случаях может наступить такой момент, когда прекращение действия канцерогенных факторов не останавливает развития возникших разрастаний. Стимул к росту опухолевого эпителия, как и любых других опухолевых клеток, лежит в самих этих клетках. Именно в этом кардинальное отличие опухолей от всех других видов гиперплазии. Согласно Н.Н.Петрову, в отличие от гиперплазии и регенерации, останавливающихся по достижении компенсации, заживления или восстановления гормонального равновесия, в отличие от клеточного размножения при инфекциях, прекращающегося, когда бактерии уничтожены и обезврежены их яды, — опухолевый рост продолжается неопределенно долго. Он допускал в основе этой способности глубокую внутреннюю перестройку жизненных свойств клеток и считал, что опухолевые клетки представляют новые клеточные породы. Обращая внимание на такой характерный признак опухоли, как нарушение дифференцировки, Н.Н.Петров (1959, с.422) писал: «...сама возможность обратного развития уже готовых дифференцированных клеток недостоверна. Гораздо нагляднее недоразвитие новых клеток, возникающих из камбиального слоя при регенерации, и в этом смысле, несомненно, возможна недодифференцировка или «раздифференцировка», наблюдаемая, как правило, при многих формах воспаления и при развитии злокачественных опухолей\*».

Вопрос о механизме эмбрионализации клеток при опухолевых и регенерационных процессах имеет принципиальное значение. Согласно Н.Н.Петрову, нарушение дифференцировки объясняется не тем, что зрелая клетка начинает развиваться в обратную сторону, а тем, что молодые клетки не проходят стадии дифференцировки. Такую же точку зрения отстаивает Д.С.Саркисов (1977).

Однако Н.Н.Петров был сторонником мутационной теории, поясняя свою позицию, он писал: «Мы не находим оснований от-

казаться от мутационной теории злокачественного роста, так как она нагляднее других теорий объясняет нам появление в организме новых клеточных пород с особыми свойствами, морфологией и функцией, передающимися затем прямым потомкам этих клеток в неограниченном ряде поколений» (с.425).

Однако возникает главный вопрос: наталкивался ли Н.Н.Петров в своих исследованиях на факты, не укладывающиеся в мутационную гипотезу? Этот вопрос имеет принципиальное значение. Анализируя природу опухолеобразования, он писал: «Но ведь истинные мутации возникают всегда внезапно, а злокачественный рост возникает нередко постепенно, проходя через стадию переходных «предраковых изменений»; можно ли при таких условиях говорить о малигнизирующих мутациях? Не значит ли это допустить возможность целого ряда последовательных мутаций, направленных в определенную сторону, что противоречило бы самой сущности учения о мутациях? Нет, не значит. Мутации — это необратимые изменения, передаваемые по наследству, а «предраковые изменения» — не мутации, а обратимые изменения, полностью укладывающиеся в рамки приспособительных процессов, которые еще могут исчезнуть или замениться другими при перемене условий среды. Предраковые изменения — не формы последовательного перехода нормальных клеток в раковые, но только необходимая подготовка для возникновения единой малигнизирующей мутации» (1959, с.425).

Примечательно, что Н.Н.Петров обнаруживает реально существующее противоречие в первой части своих рассуждений, которое затем старается раскритиковать и отбросить. Приведенные автором факты противоречат мутационной концепции, но, поскольку иного объяснения в то время не существовало, они отбрасываются. С нашей точки зрения, можно иначе интерпретировать замеченное противоречие. Приведем несколько аргументов. Установленный факт нормализации трансформированных клеток разрушает представление о необратимых изменениях генома за счет мутаций как причине рака. Передача злокачественных свойств при делении раковых клеток также наследственно не закреплена, поскольку дочерние клетки способны нормализоваться. Это доказывается тем, что раковые клетки в опухоли способны дифференцироваться. Ниже эта закономерность будет проанализирована более подробно. Что касается противоречия, которое обнаружено автором, то оно объективно существует и подтверждает приведенные возражения. Постепенность развития опухолеобразования через предраковое состояние противоречит характеру мутационного изменения, что говорит об ином механизме развития событий при раке. Однако такое развитие процесса, как отмечает Н.Н.Петров, не укладывается в представление о мута-

циях. Ясно, что обнаруженные противоречия объективны, но это лишь часть тех проблем, которые необъяснимы в теории онкогена и мутационной концепции.

## **7. Концепции химического канцерогенеза**

В ходе развития онкологии на место старых концепций пришли теории химического канцерогенеза. Сформировалось представление, что малигнизация представляет собой ступенчатый процесс, состоящий по крайней мере из двух стадий — стадии индукции и стадии активации (Беренблум, 1956, 1961, 1950; Boyland, 1969). То обстоятельство, что при увеличении дозы канцерогена латентный период малигнизации сокращается до определенной величины, а после него увеличение дозы не оказывает влияния, привело к выводу, что возникновение злокачественной опухоли происходит вследствие нарушения какой-то системы, общей для всех соматических клеток (Даннинг, 1961).

Тем не менее работы по химическому канцерогенезу не дали ожидаемых результатов для понимания механизма трансформации.

В качестве примера приведем гипотезу Дж. Миллер и Э. Миллера (1955). Авторы выдвинули идею, согласно которой введенный краситель превращается в организме в производное, способное соединяться с определенными белками печени, играющими важную роль в реакциях клетки на действие внутриклеточных и внешних факторов, регулирующих рост. Связывание этих белков с красителем может затормозить или приостановить дальнейший синтез этих белков. В результате следующая генерация клеток будет содержать меньшее количество белков, на которые действовал краситель. В конце концов могут образоваться клетки, совсем не содержащие этих белков. Таким образом, авторы объяснили постепенное снижение количества белка в процессе канцерогенеза за счет связывания его внешним красителем.

С позиции тканевой теории снижение количества белков можно объяснить прогрессирующим омоложением клеток, поскольку малодифференцированные клетки синтезируют иной состав белков, более обедненный.

Одно из видных мест среди химических теорий канцерогенеза занимает концепция Варбурга (Warburg, 1926). В 1923 г. Варбург обнаружил высокую скорость образования молочной кислоты раковыми клетками и пришел к заключению, что способность получать энергию за счет «молочнокислой ферментации» глюкозы и расти за счет энергии этого процесса является главной биохимической характеристикой раковых клеток.

Первичной причиной рака является, согласно Варбургу, замещение дыхания кислородом в нормальных клетках ферментацией сахара в раковых клетках (Warburg, 1926).

Варбург показал, что способность раковых клеток перевиваться тесно связана с их способностью к гликолизу. Утрата ими гликолитической активности приводит к потере способности перевиваться. Обмен раковых клеток представляет собой сочетание окислительных и гликолитического метаболизма (дыхание/аэробный гликолиз).

Доброкачественные опухоли согласно такому соотношению занимают промежуточное положение. Далее было показано, что обмен эмбриона является практически гликолитическим, что хорошо укладывается в эту закономерность. Становление раковых клеток из нормальных, по Варбургу, проходит в два этапа. В первой фазе вследствие различных причин происходит необратимое повреждение дыхания, после чего наступает длительный период борьбы за существование. Выживают те клетки, которые оказались способны восполнить возникший дефицит энергии за счет механизма гликолиза.

Из работ Варбурга известно, что гликолиз тела максимален в наиболее ранних стадиях эмбрионального развития, но постепенно, по мере дифференциации эмбриона, он падает. Гликолитическую активность эмбриональных тканей Варбург рассматривал как наследие недифференцированных предков, в свете закономерности, согласно которой онтогенез повторяет филогенез.

Попытаемся объяснить обнаруженные закономерности с позиции тканевой модели. Переход одного типа энергетического обмена (дыхания) на другой — гликолиз, который более примитивен, — можно объяснить на основе данных, которые получил сам Варбург. Дело в том, что ферменты, обеспечивающие дыхание в дифференцированной клетке, синтезируются по мере дифференцировки клетки. Стволовые же и коммитированные клетки, т.е. низкодифференцированные клетки, на ранних стадиях имеют другой состав ферментов и соответственно иной тип энергетики — гликолиз. Поэтому в процессе дифференцировки клеток эмбриона гликолиз постепенно снижается. Процесс канцерогенеза, как известно, связан с прогрессирующим омоложением клеток — это приводит к появлению клеток с иным ферментным составом, что меняет тип дыхания. Более детально и последовательно этот вопрос рассматривается в VII главе, где анализируются современные концепции, объясняющие изменение энергетики в раковых клетках.

## ОСНОВАНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ПАРАДИГМЫ ОПУХОЛЕОБРАЗОВАНИЯ

### 1. Альтернативные парадигмы

Накопление фактов, противоречащих теории онкогена, ставит вопрос о пересмотре принципов, лежащих в основе представлений о механизме трансформации. Что же следует сохранить в новой теории, а что откинуть как неподтвердившееся? Теоретическая конструкция — это своего рода некоторая «упаковка», или организация фактов. При хорошей упаковке каждый факт находит свое место, при плохой — многие факты не получают объяснения.

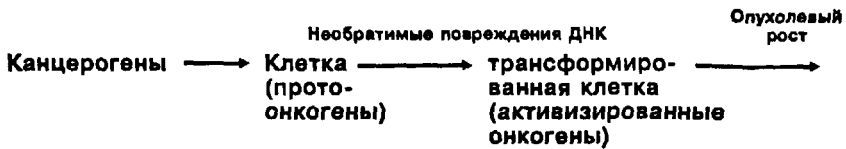
Причины выживания старых теорий различны. Если старая теория плохо объясняет данные, но отсутствует альтернативная, то она будет сохраняться, несмотря на противоречия с фактами.

Более рациональное, конструктивное отношение к старой теории состоит не в отбрасывании ее, а в сохранении рационального зерна в новой теории. В этом состоит историческая и логическая преемственность: рациональная идея старой теории не умирает, а развивается, но в другой теории, приобретая более совершенную структуру, при этом новая основа может значительно отличаться от старой теории. Метод, согласно которому в новую теорию вбираются все рациональные идеи предыдущих концепций, можно назвать синтетическим, конструктивным подходом при построении общей теории рака. В этом случае общая модель будет соответствовать требованию исторической преемственности, она будет вбирать в себя все ценное, созданное в предшествующих концепциях.

Теория онкогена основывается на принципе трансформации, который был выдвинут еще мутационной концепцией. Общепринятая традиционная схема трансформации состоит в том, что канцерогены при контакте с клеткой, проникая в нее, вызывают необратимые, наследственные изменения генома в 3 — 4 онкоге-

нах (либо иные повреждения генома), что приводит к патологической активизации онкогенов, т.е. активизация онкогенов рассматривается как результат нарушения структурной основы наследственности в результате мутаций.

В основе такого подхода лежит идея о необратимом повреждении генома клетки при раке. Канцерогены, согласно постулированному механизму трансформации, являются генотоксическими факторами, поэтому негенотоксические канцерогены в эту схему не вписываются. Схематично эту идею можно изобразить так:



Эту схему и принцип трансформации, основанный на ней, можно назвать прямолинейным принципом трансформации. Таким образом, в основе механизма трансформации в теории онкогена лежит мутационная концепция. Поэтому все возражения против мутационной концепции в равной мере относятся и к теории онкогена. Новое, что вносит теория онкогена, — это выявление онкогенов и установление связи между активизацией онкогенов и злокачественными свойствами опухолевой клетки, сам же механизм трансформации остался старым, основанным на представлении о роли мутаций как причине необратимости трансформации.

Как же повреждения ДНК могут вызвать злокачественный рост? Попытки ответить на этот вопрос так, чтобы объяснить все формы рака, породили концепцию «раковых генов». Раковые гены — это компоненты нормального клеточного генома, деятельность которых выходит из-под контроля или усиливается под действием различных канцерогенов и, таким образом, ответственна за аномальное поведение раковых клеток. Теория считает раковые гены не чужеродными, а нормальными генами, но вышедшими из-под контроля; канцероген повреждает либо раковый ген, либо ген, который в нормальных условиях регулирует активность раковых генов (Бишоп, 1983)

Однако в теории онкогена имеется много подводных камней и противоречий с экспериментальными данными. Одна из основных трудностей практического и методологического порядка состоит в объяснении феномена обратимости трансформации, т.е. способности раковых клеток нормализоваться при дифференцировке, теряя злокачественность. Другим аргументом против теории онкогена является наличие в тканях стволовых кле-

ток, обладающих активизированными онкогенами и раковым фенотипом. Все то, что описывает теория онкогена как механизм трансформации, разрушается тем обстоятельством, что полный набор злокачественных свойств, который должен был бы появиться у клетки в результате 3—4 мутаций, уже наличествует в стволовых клоногенных клетках, они клоногенны, минимально дифференцированы, иммортализованы, обладают автономным делением (аутокринная стимуляция митоза) и активизированными онкогенами. Последнее обстоятельство, т.е. наличие активизированных онкогенов, делает понятным, почему они идентичны раковым клеткам. Отсюда следует, что раковые клетки могут возникать не «окружным путем», через мутации, а прямым. Если стволовые клетки по своим имманентным свойствам идентичны раковым клеткам, то механизм трансформации осуществлен не за счет генетических повреждений, а за счет нарушения тканевого контроля и неконтролируемого деления клоногенных клеток.

Что касается мутаций, выступающих, как предполагается, в качестве механизма трансформации, то получены многочисленные данные, которые противоречат мутационной концепции. Трансформация клеток, культивируемых вне организма, — как спонтанная, так и индуцированная действием химических канцерогенов — протекает с частотами в 10—100 раз более высокими, чем частоты генных мутаций в этих же клетках. Несовпадение частот трансформации и частот генных мутаций, по мнению ряда ученых, не позволяет считать, что генные мутации являются непосредственной причиной злокачественной трансформации клеток (Бахтин и др., 1987).

Признается, что теория онкогена вобрала в себя предшествующие концепции, поэтому, чтобы выдвинуть теорию, основанную на ином принципе трансформации, нужна принципиально новая идея механизма трансформации. Такой идеей и выступает принцип нарушения тканевого контроля (гомеостаза) пролиферации и неконтролируемого злокачественного роста клоногенных, низкодифференцированных клеток.

Ряд авторов считает, что теория онкогена уже представляет собой общую теорию либо близка к этому. Однако такую оценку молекулярно-генетической теории разделяют не все авторы. «Общая теория канцерогенеза, — пишет Л.Л.Киселев (1986, с.242), — еще не построена, а обилие достоверных и существенно новых наблюдений еще не переросло в теоретическое обобщение, приемлемое для большинства специалистов».

Такую же характеристику дают И.Ф.Сейц и П.Г.Князев (1986, с.151—219), они пишут: «При несомненных конкретных, частных успехах точный молекулярный механизм действия кан-



церогенных веществ еще не раскрыт... Открытие онкогенов дало прямые доказательства роли изменений ДНК в инициации онкогенеза. Однако установление этого факта еще не прояснило, как именно исходные канцерогены осуществляют свое негативное действие. Онкогены, выявленные трансфекцией, по-видимому, представляют последнюю ступень в цепи событий... в то время как первые ступени остаются столь же таинственными, как и раньше». Как видим по этим высказываниям, ведущие специалисты — молекулярные онкологи пока признают непознанность тайны механизма рака.

Давая оценку теории онкогена, Ю.Д.Ивашенко и А.И.Быкорез (1990, с.157) пишут: «По-прежнему остается неясным, в чем суть первого этапа трансформации-инициации; какого типа нарушения в геноме происходят при этом, насколько они специфичны (для клеток, для канцерогена, для возраста и т.д.) и обратимы. Второй этап — промоция — также пока малоизученное явление: либо это достижение количественного порога каких-то изменений, начавшихся после инициации и требующих для своего развития действия промоторов, либо это независимые от инициации события, но проявляющиеся только в клетках, прошедших инициацию и некоторым образом «коммитированных» к экспрессии трансформированного фенотипа и генотипа. Это же относится и к прогрессии». Складывается впечатление, что при всех своих достоинствах и лидерстве теория онкогена не объясняет главного — как же осуществляется трансформация клетки, т.е. она выявила результат трансформации в виде активизации онкогенов, но не способна объяснить, каков механизм достижения такого результата, т.е. как осуществляется трансформация. Согласно Р.Марри (1993, с.356), «...механизмы, с помощью которых промоторы превращают «иницированные» клетки в опухолевые, остаются пока невыясненными».

Методологический просчет и неполнота теории онкогена проявляется в том, что она не учитывает роли предраковых тканевых изменений, связанных с избыточной длительной пролиферацией, таких, как гиперплазия, дисплазия, эрозия и т.д. Эти процессы, согласно клиническим наблюдениям, непосредственно предшествуют и причинно связаны с опухолеобразованием, однако проблема роли предрака в теоретическом плане осталась нерешенной, роль и механизмы предрака остались нераскрытыми. Объяснение, состоящее в том, что в предраке увеличивается количество молодых клеток и поэтому увеличивается вероятность мутаций, не затрагивает сам механизм трансформации. Это означает, что тканевые изменения выносятся за скобки, поскольку сводятся к фону, на котором осуществляется трансформация в виде мутации онкогенов.

Очевидно, для построения общей теории необходимо связать повышенный режим пролиферации с нарушением регуляции тканевого гомеостаза, омоложением клеток, выходом из-под контроля стволовых клеток, в целостную непротиворечивую картину, т.е. необходимо выявить последовательность событий, разрушающих тканевый контроль.

Становится ясно, что с позиции тканевого подхода к идее связи трансформации с активизацией онкогенов можно прийти принципиально иным путем, минуя прямолинейную схему канцерогенеза, т.е. согласно тканевой теории (Черезов, 1987, 1990, 1993) трансформация обусловлена не деструктивными повреждениями ДНК, а выходом из-под контроля стволовых клеток, обладающих активизированными онкогенами при нарушении тканевого гомеостаза. Это означает, что канцерогенность связана не с генотоксическим эффектом, а с промоторным действием канцерогенов. Обосновать это можно тем, что промоторным эффектом обладают все канцерогены, а генетоксическим — лишь некоторые из них. В пользу такой точки зрения говорят данные по нормализации опухолевых клеток при дифференцировке, что опровергает мутационный механизм и соответственно генотоксический эффект как причину трансформации.

На основе большого экспериментального материала группа ленинградских авторов пришла к следующему выводу, они пишут: «Нет никаких бесспорных доказательств того, что структурно-химические изменения в ДНК, вызванные введением канцерогена, действительно являются единственной, необходимой и достаточной причиной малигнизации, а не относятся к разряду сопутствующих явлений... Поэтому мутационный механизм является очень сомнительным» (Цитологические аспекты первичного действия химических канцерогенов. Л., 1982, с. 176).

Такой же вывод делает американский автор (Toral, 1988): по его мнению, в целом нет достаточно данных для вывода о том, что активация онкогенов возникает вследствие индуцированных мутаций в определенной последовательности ДНК.

В работе японских авторов (Sugio et al., 1988) показано, что структура 19 онкогенов не модифицировалась при аденоме или раке, за исключением амплификации гена *c-myc*, выявленного в одном образце рака, но не в материале аденомы, полученной от того же больного.

К.М.Кроче и Дж.Клейн (1985) установили, что, хотя в клетках лимфомы Беркитта человека происходит несколько различных хромосомных перестроек, белок, кодируемый геном *c-myc*, во всех случаях качественно один и тот же. Авторы обнаружили, что первый экзон *c-myc* не участвует в кодировании белка, а кодирующая белок область гена начинается со второго экзона. Из

этого следует, согласно авторам, что активация онкогенных свойств гена *c-myc* не является результатом перестроек при транслокации, следовательно, злокачественный эффект транслокации не связан с каким-либо изменением внутри гена. С нашей точки зрения, это означает, что транслокация и трансформация причинно не связаны между собой.

В исследованиях по нормализации опухолевых клеток было показано (Сакс, 1986), что нарушение хромосом не определяет трансформацию. Авторы задались вопросом: восстанавливается ли нормальное состояние хромосом в лейкемических клетках, в которых искусственно вызваны дифференцировка и прекращение деления? Происходит ли коррекция генетических дефектов или же развитие клетки переключается со злокачественного на нормальное «в обход» этих нарушений? Авторы обнаружили, что в лейкемических миелоидных клетках, принужденных к дифференцировке, аномалии хромосом сохраняются. Следовательно, с помощью индукции дифференцировки остановка злокачественного роста достигается «в обход» тех генетических дефектов, которые нарушили нормальный ход событий дифференцировки и размножения. Вывод, сделанный Л.Саксом, подтверждает нашу точку зрения о том, что генетические повреждения ДНК не являются причиной трансформации. Отличие нашей точки зрения состоит в том, что поскольку нормализация идет «в обход», то нет основания считать, что генетические дефекты являются причиной трансформации.

Возникает вопрос, из какой группы клеток происходят опухолевые клетки: из группы дифференцированных клеток, которые подвергаются генетическим нарушениям при канцерогенном воздействии на ткань, или из группы молодых, появившихся в результате деления стволовых клеток? Если бы опухолевые клетки происходили из пула деструктивных старых клеток, то трансформация носила бы необратимый характер, обратимость же трансформации указывает на происхождение опухолевых клеток из пула стволовых делящихся клеток. Об этом также говорят данные потери способности к пролиферации зрелых клеток. Это означает, что трансформация носит не прямой характер, т.е. осуществляется не путем контакта канцерогена с клеткой и генами, а в результате длительной хронической пролиферации. Иначе говоря, пул поврежденных канцерогенами клеток и пул клеток, выходящих из-под контроля, могут не совпадать. Идея «непрямого» механизма трансформации позволяет объяснить многие факты, не имевшие рационального объяснения, в частности почему в ряде случаев наблюдается отсутствие вирусного генома в раковых клетках при вирусном канцерогенезе.

## **2. Вирусный канцерогенез с позиции тканевой модели рака**

Одним из парадоксов вирусной теории рака является отсутствие в ряде случаев вируса в опухолевой клетке при вирусном канцерогенезе, что противоречит постулированному механизму вирусного канцерогенеза. Исчезновение вируса из клетки при опухолеобразовании вступало в противоречие с вирусно-генетической концепцией канцерогенеза, развиваемой известным онкологом Л.А.Зильбером.

Концепция вирусного канцерогенеза предполагала встраивание генома вируса в ДНК клетки, поэтому для выхода из противоречия была предложена гипотеза, согласно которой вирус необходим лишь на начальном этапе, а затем процесс канцерогенеза развивается на собственной основе. Однако в рамках теории онкогена этот феномен не получил объяснения. Явление исчезновения вируса осталось необъясненным.

Секрет этого явления раскрывается в тканевой модели, поскольку она основана на опосредованном «непрямом» механизме трансформации, за счет длительной хронической пролиферации. Как известно, вирус вызывает цитопролиферативный эффект: размножаясь и разрушая клетки или иным образом он влияет на пролиферативный режим тканевого гомеостаза. В свою очередь повышение пролиферативного режима вызывает омоложение ткани, что в конечном итоге разрушает тканевый гомеостаз. В результате клоногенные клетки, имеющиеся в ткани, переходят к неконтролируемому росту. Поскольку степень инициирования пролиферации в результате гибели клеток различна, то можно ожидать несколько различных форм опухолеобразования при вирусном канцерогенезе, т.е. опухолеродный вирус не во всех случаях будет вызывать злокачественные опухоли.

## **3. Спонтанная малигнизация In vitro**

Прямым подтверждением роли тканевого гомеостаза в механизме трансформации является спонтанная малигнизация *in vitro*. Это явление так и не получило рационального объяснения, поскольку трансформация осуществляется без какого-либо канцерогенного воздействия. Анализируя вопрос о природе спонтанной малигнизации *in vitro*, С.В.Кузьмина (1983, с.25-26) пишет: «На основании накопленных... данных нельзя с уверенностью утверждать, с чем именно связано появление злокачественных свойств у клеток нормального происхождения

при выращивании их вне организма... Вопрос о причинах «спонтанной малигнизации» не может считаться выясненным». Чтобы преодолеть противоречие с существующей теорией рака, высказывались различные предположения о существовании неизвестного, необнаруженного канцерогена той или иной природы, но поиски его ни к чему не привели. Эта ситуация аналогична той, когда при объяснении гормонального рака предполагается действие невыявленного «истинного» генотоксического канцерогена. Введение представления о неизвестном «истинном» канцерогене свидетельствует о непознанности механизма канцерогенеза. Такое искусственное допущение спасает теорию от противоречия с фактами, которые ее разрушают, однако предположение остается без каких-либо доказательств.

В рамках тканевого подхода явление спонтанной малигнизации *in vitro* получает объяснение. Поскольку в норме тканевый гомеостаз контролирует деление стволовых клеток, то при нарушении тканевой системы клоногенные клетки выходят из-под контроля. Чем можно объяснить временную задержку трансформации *in vitro*? Очевидно, в культуре *in vitro* нарушаются как отрицательная обратная связь, так и положительная.

Другая группа фактов также доказывает определяющую роль тканевого гомеостаза в механизме канцерогенеза: эксперименты показали, что при трансплантации в другой организм изолированных стволовых клеток они проявляют злокачественные свойства, т.е. инвазивный рост в окружающие ткани без канцерогенного воздействия. Об этом свидетельствуют известные классические опыты Шпемана (Speman, 1942), который продемонстрировал злокачественность стволовых клеток, в свое время эти эксперименты воспроизводились многими учеными. Шпеман трансплантировал зародышевые недетерминированные клетки бластулы в полость взрослой лягушки и наблюдал, как они делятся без дифференцировки и прорастают в окружающие ткани. Такой же результат описывает Уоддингтон: он трансплантировал в полость тела взрослой саламандры клетки ранней регенерационной бластемы и наблюдал деление без дифференцировки и инфильтрацию ими окружающих тканей (Уоддингтон, 1947). Таким образом, в результате нарушения тканевого контроля стволовые клетки проявляют злокачественные свойства, что указывает на механизм трансформации, не связанный с генетическими повреждениями.

Если бы трансформация была обусловлена мутациями онкогенов, то все злокачественные клетки одной опухоли несли бы в себе это наследственное изменение в ДНК, а их способность к метастазированию, опухолевый фенотип были бы одинаковы. Но данные не подтверждают этого: раковые клетки имеют различ-

ную способность к метастазированию и различный фенотип, и они способны дифференцироваться. Данный факт работает на тканевую теорию и опровергает теорию онкогена.

#### **4. Временной аспект опухолеобразования**

Анализ временных закономерностей развития опухоли дает ценную информацию относительно механизма онкогенеза. Для большинства видов лейкоза и других злокачественных опухолей необходим очень длительный период накопления изменений, многократно превышающий продолжительность жизни клеток пролиферирующей ткани. Необходимо учесть, что процессы дегенерации тканевого и клеточного уровня имеют разные временные параметры. Конечный результат трансформации связан с постепенным накоплением патологических изменений. Об этом свидетельствует, в частности, возможность остановки процесса опухолеобразования на одном из промежуточных состояний и даже возвращение к нормальному состоянию при прекращении канцерогенного воздействия. Обратимость опухолеобразования свидетельствует о необходимости на первом этапе развития рака постоянно действующего источника, инициирующего пролиферацию. Пройдя фазу предрака, инициируемую источником пролиферации, процесс опухолеобразования приобретает новое качество — неконтролируемость опухолевого роста, спонтанность, связанные с нарушением тканевого гомеостаза и выходом из-под контроля стволовых клоногенных клеток.

Теоретически накопление патологических изменений канцерогенного эффекта может происходить либо на тканевом уровне, либо в клетке в виде нескольких мутаций, но поскольку время накопления изменений в клетке должно быть сопоставимо с временем развития опухолеобразования, то возникает несоответствие, оно не может реализоваться в отдельной клетке, время жизни которой непродолжительно и несопоставимо с временем развития опухоли, исчисляемым иногда годами. Аккумуляция деструктивных изменений, следовательно, проходит на тканевом уровне, а именно в виде изменений структуры тканевого гомеостаза (изменяется соотношение между дифференцированными и клоногенными клетками), что обусловлено прогрессирующей эмбрионализацией ткани. Учитывая, что первая фаза опухолеобразования сохраняет способность к обратимости, принципиальное значение для развития опухоли имеет режим повышенной пролиферации, определяемый параметрами канцерогенного воздействия: его силой, дозой, длительностью воздействия, промежутками между нанесением канцерогена, что входит в понятие «канце-

рогенного профиля». Гибель и нарушения клеток имеют онкологическое значение как интегративный результат, вызывающий компенсаторную пролиферацию и определяющий высокий режим пролиферации, инициирующий омоложение ткани, что в конечном итоге разрушает структуру тканевого гомеостаза.

Тканевая теория описывает механизм нарушения контроля деления клеток, который связан со структурой и функционированием тканевого гомеостаза. Она дает принципиально новый механизм канцерогенеза, в рамках которого удастся рационально разрешить проблемы, не получившие ответа в молекулярно-генетической теории.

## ТКАНЕВАЯ ТЕОРИЯ КАНЦЕРОГЕНЕЗА. ВВЕДЕНИЕ К НОВОЙ ПАРАДИГМЕ

### 1. Проблема перехода на тканевый уровень контроля пролиферации

Необходимо очертить круг основных проблем, которые должна решать общая теория опухолеобразования. Очевидно, общая модель должна отвечать следующим критериям:

- объяснять основные группы фактов, исходя из единого основания (принципа), т.е. должна быть монистичной, универсальной теорией;
- раскрыть механизм «общего знаменателя», который нивелирует, унифицирует разнообразие канцерогенов;
- выяснить роль омоложения, эмбрионализации в предраке;
- выявить роль клоногенных низкодифференцированных клеток;
- установить взаимосвязь между начальным этапом, тканевыми процессами в предраке и конечным результатом — активизацией онкогенов в стволовых клетках;
- объединить в одной теории рациональные идеи основных концепций канцерогенеза.

Теоретически право на существование имеют две альтернативные версии нарушения контроля пролиферации. В старых теориях канцерогенеза причину трансформации связывали с необратимыми генетическими повреждениями. О существовании принципиально иной причины, связанной с нарушением тканевого конт-



роля, вопрос не поднимался, но ряд концепций близко подошли к этой идее.

Альтернатива в подходе к механизму трансформации состоит в том, что либо клетка становится «эгоистичной», автономной, что связывается с генетическими нарушениями; либо нарушается тканевая система контроля пролиферации клоногенных клеток, обладающих активизированными онкогенами. Доказать, какая из теорий соответствует реальности, можно на основании подтверждения следствий, вытекающих из моделей. Основным фактом, подтверждающим механизм, основанный на нарушении тканевого гомеостаза, является способность опухолевых клеток нормализоваться при дифференцировке. Рассмотрим ряд таких данных. Впечатляющие результаты были получены в работах по изучению морфобластических потенциалов клеток разных линий тератокарциномы мыши (Mintz, 1978). Было продемонстрировано, что клетки тератокарцином, сохраняющие омни- или полипотентность, способны к полной утрате признаков злокачественности и включению в гистогенез. Такими же свойствами обладали клетки неэмбриональных опухолей — аденокарциномы молочной железы, плоскоклеточного ороговевающего рака, хондросаркомы (Pierce, Speers, 1988).

Выше мы приводили сведения (Сакс, 1986) о том, что даже клетки с хромосомными нарушениями при дифференцировке нормализуются, теряя злокачественность. Сходные данные приводятся в работах Ю.М.Васильева, в которых обратимость трансформации исследуется на молекулярно-генетическом уровне.

Делая заключение, Ю.М.Васильев (1986) пишет: «Таким образом, между нормальным и трансформированным фенотипом клетки возможны обратимые переходы, вызываемые внешними факторами. Достижения последних лет привели к появлению принципиально новых взглядов на механизм автономии опухолевых клеток. Теперь известно, что такая независимость возникает не как следствие необратимой утраты клеткой способности реагировать на воздействие внешней среды, но как результат чрезмерной стимуляции клетки эндогенными онкобелками, имитирующими один из нормальных типов клеточной реакции, а именно реакции мембраны на молекулы-лиганды, не связанной с субстратом». С нашей точки зрения, принципиально важно выделить то, что онкобелки, согласно Ю.М.Васильеву, имитируют один из нормальных типов клеточной реакции. Это говорит о том, что эту роль может играть избыточное количество нормальных факторов роста (ФР). Акцент Ю.М.Васильев делает на ненормальной стимуляции митогенными сигналами. Состояние стимуляции возникает при нарушении тканевого гомеостаза в результате нарушения обратной связи. Данные по обратимости трансформации

разрушают идею о необратимых мутациях и онкобелках как результате мутаций. С нашей точки зрения, результаты исследований, полученные Ю.М.Васильевым, и выводы из них подтверждают не теорию онкогена, а тканевую модель. С другой стороны, они коррелируют с данными по обратимости трансформации в результате дифференцировки. Установление факта обратимости трансформации на молекулярном уровне является еще одним доказательством тканевой теории. Общую картину можно представить таким образом: при повышенном режиме пролиферации нарушение структуры тканевого гомеостаза определяет сдвиг в сторону эмбрионализации, что меняет соотношение между стимуляторами и ингибиторами митоза, в результате возникает «сверхстимуляция». Таким образом в тканевой модели связываются канцерогенный профиль, режим пролиферации, степень омоложения, искажение структуры и функции гомеостаза, неконтролируемый рост клоногенных клеток.

Насколько обоснованно положение о необратимости трансформаций за счет мутаций в 3—4 онкогенах? Мы уже говорили, что многие данные опровергают это представление. В частности, при делении раковых клеток в опухоли злокачественность не обязательно наследуется дочерними клетками, как это принято считать. Рассмотрим данные, подтверждающие этот вывод. Изучение перевивной ороговевающей карциномы крысы методом авторadiографического анализа показало (Pierce, Wallace, 1971), что через 2 часа после введения  $^3\text{H}$ -тимидина мечеными были только недифференцированные участки опухоли, а уже через 96 часов клетки, связавшие  $^3\text{H}$ -тимидин, обнаружили в дифференцированных участках опухолей. Выделенные из дифференцированных участков клетки не прививались животным, в то время как из недифференцированных участков давали высокую частоту прививаемости. С нашей точки зрения, эти данные однозначно доказывают, что раковые клетки при делении могут давать нормальное потомство, то есть злокачественность генетически не закреплена и не наследуется дочерними клетками, как это предполагалось мутационной гипотезой и молекулярно-генетической теорией.

Полученные результаты имеют большое клиническое и теоретическое значение, поскольку коррелируют с данными по нормализации опухолевых клеток при стимуляции к дифференцировке. С нашей точки зрения, данные Pierce и Wallace (1971) можно интерпретировать так. Поскольку клетки недифференцированных областей опухоли, где осуществляется деление, включают метку, а дифференцированные, прекратив деление, не включают ее, то появление метки через 96 часов в дифференцированных клетках свидетельствует о том, что в опухоли молодые раковые

клетки способны дифференцироваться, в результате чего они нормализуются, теряя злокачественность. Об этом также свидетельствует неспособность дифференцированных опухолевых клеток прививаться. Данные хорошо вписываются в контекст проблемы нормализации опухолевых клеток. В этом плане представляет интерес известное положение Дж.Пирса о том, что «опухоль — это карикатура: если тератокарцинома — это карикатура на эмбриогенез, то опухоли детерминированных тканей — это карикатура на гистогенез» (Pierce, 1974). Однако эта карикатура на уровне отдельной клетки теряет смысл и может никак не обнаруживаться.

Приведенные данные позволяют сделать вывод, что трансформация не является событием клеточного масштаба. Идея о том, что рак не связан с отдельной клеткой, высказывается известным итальянским ученым М.Терци (1977, с.170—179), он пишет: 4...рак можно описать только в терминах клеточных популяций... Онкогенность представляет собой своего рода дифференцировку; она не является необратимой... и ее следует определить на популяционном уровне, а не на уровне единичной клетки». Выводы итальянского ученого имеют принципиальное значение, они доказывают верность тканевого подхода к механизму трансформации.

Существенным недостатком теории онкогена является то, что в ней отсутствует различие между стволовой и дифференцированной клеткой. Она исходит из понятия «нормальная» клетка, что стирает различие между популяциями клеток, обладающими различной клоногенностью. Но в условиях изоляции, трансплантации стволовые клетки проявляют типичные опухолевые свойства, инвазивный рост без какого-либо канцерогенного воздействия. Согласно теории онкогена, в нормальных клетках имеются неактивные протоонкогены, которые в процессе трансформации патологически активизируются. В полной мере такое представление применимо лишь к дифференцированным клеткам, у которых онкогены неактивны, и неприменимо к стволовым клоногенным клеткам, у которых имеются активизированные онкогены. С другой стороны, применительно к дифференцированным клеткам это представление не работает, поскольку они не способны делиться и трансформироваться. Данные показывают, что малигнизуются сугубо стволовые и коммитированные клетки, с другой стороны, они не нуждаются в генетических изменениях, поскольку уже обладают набором «злокачественных» свойств. Анализ привел к парадоксу: дифференцированные клетки неспособны трансформироваться, а стволовые практически «трансформированы». Парадокс указывает на иные условия и иной механизм

трансформации, нежели это представляется в теории онкогена и предшествующих концепциях рака.

В тканевой модели увеличение степени злокачественности клеток связывается не с мутациями онкогенов, а с нарушением тканевого контроля и снижением степени дифференциации в процессе опухолевой прогрессии, где стволовые клетки обладают максимальной потенциальной злокачественностью, а дифференцированные клетки минимальной или нулевой.

Однако снижение степени дифференцировки клетки не объясняет еще механизм канцерогенеза. Существуют концепции, которые непосредственно выводят из омоложения клетки механизм трансформации. При таком подходе механизм опухолеобразования остается нераскрытым. Можно указать на то, что такие клетки уже имеются в нормальной ткани. Что же нового добавляет учет прогрессирующего омоложения в тканевой теории?

Значение эмбрионализации ткани на уровне отдельной клетки остается непонятным и не имеет смысла. Онкологический смысл эмбрионализации ткани раскрывается на уровне тканевого гомеостаза. Это означает, что факт эмбрионализации надо рассматривать в двух проекциях: с точки зрения клетки и с точки зрения тканевого гомеостаза, его структуры, которая связана с функцией контроля пролиферации. В данном случае структура тканевого гомеостаза определяет функцию контроля пролиферации. При изоляции клоногенных клеток либо трансплантации злокачественность определяется степенью эмбрионализации. Однако выход из-под контроля клоногенных клеток при трансформации определяется количественным накоплением таких клеток в структуре тканевого гомеостаза, т.е. степенью эмбрионализации ткани. Не все события канцерогенеза можно оценить с позиции отдельной клетки, что обусловлено участием надклеточной тканевой структуры гомеостаза.

Таким образом, раковые клетки — это стволовые клоногенные клетки, которые при разрушении тканевого гомеостаза выходят из-под контроля. Если в прежней трактовке переход от стволовой клетки к раковой связывался с мутациями, то в новой теории трансформация связывается с разрушением тканевого гомеостаза.

Какие факты говорят в пользу описанной картины?

Данное представление подтверждается тем, что стволовые клетки и клетки, находящиеся на ранней стадии коммитирования, так же как и раковые клетки, синтезируют раково-эмбриональный белок. В небольших количествах белки, свойственные эмбрионализированным клеткам, обнаруживаются в нормальной ткани, что соответствует доле функционирующих стволовых клеток при физиологической регенерации ткани. В процессе опухо-

левой прогрессии и увеличения степени омоложения количество раково-эмбрионального белка увеличивается, что соответствует доле стволовых клеток. Именно такая картина динамики изменения в сторону эмбрионализации ферментативного спектра наблюдается в опухолеобразовании (Колосова, 1988).

Характерно, что попытки обнаружить принципиальные различия между нормальной и опухолевой клетками на протяжении всего периода экспериментальной онкологии не увенчались успехом. Независимо друг от друга исследователи приходили к общему выводу: если сравнивать опухолевые клетки не с дифференцированными клетками, а с незрелыми стволовыми и коммитированными, то принципиальных отличий обнаружить не удастся. Данный факт рассматривался как неудача, в новой же теории он рассматривается как доказательство тканевого подхода. Открытие онкогенов вселило новую надежду на возможность найти специфическое отличие раковых клеток. Но эта надежда также уже практически разрушена — как выяснилось, в стволовых клетках обнаруживаются активизированные онкогены, активизация (в результате блока дифференцировки) которых обеспечивает характерный, раковый фенотип стволовых клеток, который идентичен всем признакам опухолевых клеток. Отсутствие отличий опухолевых клеток от молодых недифференцированных клеток в прежней теории воспринимается как парадокс. Однако с позиции тканевой теории этот факт вполне закономерен и служит подтверждением положения о нарушении тканевой регуляции как необходимым и достаточном условии опухолеобразования.

Таким образом, если саморегулирующаяся система (гомеостаз) контролирует постоянство качественного и количественного состава клеток ткани, а ее элементы (клетки) обладают потенцией к независимому размножению, то нарушение тканевого механизма контроля должно привести к неконтролируемому делению клоногенных стволовых и коммитированных клеток.

## **2. Данные молекулярно-генетических исследований в свете тканевой модели**

Канцерогенное воздействие на ткань вызывает различные параллельно протекающие процессы, поэтому трудно отделить параллельно развивающиеся процессы от причинно обусловленных. Чтобы разделить явления, которые в представлении сцеплены в одно, необходимо обнаружить факты, говорящие о раздельности этих явлений.

Если исходить из представления, что мутации — это универсальная причина трансформации, то трансформация без участия

мутаций будет опровергать первоначальное представление. Существует точка зрения, что нормализация опухолевых клеток неистинна, поскольку затрагивает сугубо фенотип клетки, не затрагивая генетические дефекты. Но генетические дефекты, якобы приведшие к трансформации, проявляются функционально, поэтому данные о включении опухолевых клеток в нормальный эмбриогенез и формировании из них нормального организма свидетельствуют о «генетической реабилитации» опухолевых клеток в результате дифференцировки. Это означает, что трансформация не связана с мутациями. Выше мы приводили данные Л.Сакса (1986) о нормализации опухолевых клеток при дифференцировке, независимо от хромосомных аномалий. Из этого можно сделать вывод, что хромосомные аномалии не являются непосредственной причиной трансформации. Согласно предполагаемому механизму вирусного канцерогенеза, вирус должен содержать онкоген или его аналог, однако часть опухолеродных вирусов не содержат онкогены. С нашей точки зрения, это опровергает представление о механизме вирусного канцерогенеза.

Выше мы приводили данные (Васильев, 1986) относительно обратимости трансформации и выделили такой момент, как искажение информационного окружения клетки (соотношения: факторы роста/кейлоны). Далее сделали предположение, что измененное информационное окружение, гиперстимуляция воспроизводят искажения в структуре гомеостаза — увеличивается количество клоногенных клеток, которые происходят на тканевом уровне. Подтверждением этой закономерности являются данные о корреляции между нормализацией опухолевых клеток, увеличением степени дифференцировки и снижением, репрессией активности онкогенов. Так, экспрессия протоонкогенов *туе* и *тур* уменьшается в ходе дифференцировки некоторых гемопоэтических клеток, индуцированных фарболовым эфиром или диметилсульфоксидом (Craig, Bloch, 1984; Gonda, Metcalf, 1984). При созревании Т-клеток экспрессия гена *myb* также уменьшается (Sheiness, Gardier, 1984). В клетках нейробластомы экспрессируется ген *N-мус*, однако если в этих клетках вызвать морфологическую дифференцировку с помощью ретиноевой кислоты, то уровень м-РНК *N-мус* падает в 4 раза (Amatruda et al., 1985). Лейкозные клетки человека (линии HL-60) под воздействием витамина D дифференцируются, что сопровождается падением экспрессии гена *мус* (Campisi et al., 1984).

Индукция дифференцировки клеток тератокарциномы мыши (линия F-9) сопровождается падением экспрессии гена *туе* (Campisi et al., 1984).

Приведенные факты свидетельствуют о нормализации раковых клеток, что коррелирует с репрессией активности онкогенов

в результате дифференцировки. Данные разрушают представление о необратимых мутациях в качестве предполагаемого механизма трансформации.

### 3. Проблема предрака

Как свидетельствуют многочисленные клинические и экспериментальные данные, злокачественной трансформации предшествует длительный период тканевых изменений, связанных с повышенной хронической пролиферацией, которая вызывает эмбрионализацию ткани. Это относится к таким фоновым и предраковым состояниям, как дисплазия, гиперплазия, эрозия, и другим заболеваниям, влияющим на усиление пролиферативного режима ткани. Можно сказать, тайна рака скрыта в предраке, а именно в нарушении воспроизводства тканевого гомеостаза. Однако, пока не расшифрованы, с позиции теории онкогена, основные закономерности предрака и роль в механизме трансформации, семантика отдельных стадий развития опухолевого процесса остается неизвестной. Многие онкологи обращают внимание на характерный признак предраковых состояний — ускоренную длительную пролиферацию, которая предшествует опухолеобразованию. Причины ускоренной длительной пролиферации известны — это либо воздействия, вызывающие повышенную гибель клеток, либо митогенные воздействия, повышенная функциональная нагрузка, стимулирующие пролиферацию. Например, у больных дисплазией и раком шейки матки (Бохман, 1989) в качестве внешних патогенных факторов отмечается патогенное воздействие спирохет, гонококков, трихомонад, микоплазм, хламидий, цитомегаловирусов, которые вызывают хронические воспалительные процессы.

Для гормональнозависимых опухолей прослеживается роль эндокринно-обменных нарушений, обуславливающих возникновение гиперпластических изменений, а в дальнейшем неопластической трансформации. Клинический аспект проблемы состоит в возможности профилактики гормонозависимых опухолей путем нормализации нарушенных функций и компенсации метаболических нарушений (лечение ожирения, компенсация гиперлипидемии и гипергликемии).

Многие авторы обращают внимание на зависимость способности к развитию спонтанных и индуцированных опухолей от пролиферативного статуса ткани и интенсивности клеточного размножения (Jeney, Lapis, 1984; Oehlert, 1973).

Характерно, что ускоренная пролиферация при различных регенерационных процессах вызывает омоложение, эмбрионализацию ткани. Таким образом, просматривается закономерность:

поражение клеток либо митогенное воздействие стимулируют компенсаторную пролиферацию, которая вызывает в результате обратимой блокировки дифференцировки омоложение, эмбрионализацию ткани. Первые три звена процессов, ведущих к трансформации, найдены.

Омоложение ткани — характерная черта всех регенерационных процессов. В этом плане проявляется отличительная черта тканевой теории: на нее работают те факты, которые не имели значения в теории онкогена, т.е. она полнее охватывает клинические и экспериментальные факты.

Тканевая модель исходит из факта отсутствия специфики опухолеобразования, особенно начальных стадий, т.е. она основывается на закономерности «перехода» количественных накоплений в качественные, что связано с канцерогенным профилем,

В молекулярно-генетической теории тканевые изменения в предраке и процессы на уровне генома клетки не связаны между собой. Отсутствие связи между тканевым и клеточным уровнем объясняет, почему теория онкогена в клиническом плане (по мнению ряда авторов) не работает.

Изменения, которые наблюдаются при канцерогенном воздействии, можно разделить на два направления. Первое связано с процессами, развивающимися на уровне клетки. Сюда относятся формы клеточной атипии, хромосомные, генетические аномалии, нарушения митоза и т.д. Второе направление изменений связано с ускоренной пролиферацией, которая вызывает омоложение ткани и постепенно разрушает в результате эмбрионализации клеток структуру тканевого гомеостаза, т.е. искажается соотношение между стволовыми, коммитированными и дифференцированными клетками. Возникает вопрос, развитие какого из этих двух направлений приводит к неконтролируемой пролиферации? Ответ на этот вопрос определяет выбор между теориями. Традиционно из двух направлений выделялось только одно, связанное с клеточной патологией, нарушением генома. Второе же оставалось неизвестным и не обсуждалось как возможная альтернатива. Однако именно развитие второго направления приводит к нарушению структуры и функции тканевого гомеостаза, Первое направление исходит из необратимых мутаций онкогенов и соответственно предполагает необратимость трансформации — теория онкогена основывается на необратимости результата трансформации клетки.

Второе направление предполагает нарушение тканевого контроля и исходит из факта нормализации опухолевых клеток при дифференцировке, т.е. блокировка дифференцировки обратима и снимается при стимуляции созревания клетки.



Опровергая очевидный факт нормализации опухолевых клеток в процессе дифференцировки, сторонники теории онкогена аргументируют это тем, что якобы имеет место только фенотипическая нормализация, не затрагивающая генотипические нарушения. Однако данные, полученные Лео Саксом, свидетельствуют о том, что нормализация опухолевых клеток происходила в «обход» генетических повреждений, отсюда следует, с нашей точки зрения, что генетические нарушения не являются непосредственной причиной трансформации, т.е. трансформация клетки не определяется генетическими нарушениями.

Исходя из положения о существовании нескольких направлений развития патологии при канцерогенном воздействии следует, что генетические хромосомные нарушения являются параллельно развивающимся процессом, связанным с многоплановостью реакции клетки на канцерогенное воздействие. Данный вывод подтверждает тот факт, что частоты генных мутаций и частоты трансформации различаются на несколько порядков. Эти факты разрушают представление о необратимости трансформации, делают его несостоятельным и недостаточно аргументированным. Хорошо известны эксперименты по пересадке ядер опухолевых клеток в предварительно энуклеированные зародышевые клетки: в этом случае развивается здоровый мозаичный организм. Таким образом, вопреки представлению о якобы сохранении трансформированных онкогенов в нормализованных опухолевых клетках при дифференцировке, есть основание поставить под сомнение связь генетических нарушений с механизмом трансформации в качестве непосредственной причины. Факты говорят об обратном: представление о механизме малигнизации, основанное на мутационной гипотезе, неоправданно с точки зрения данных, свидетельствующих о нормализации опухолевых клеток при дифференцировке.

#### **4. Роль длительной повышенной пролиферации в механизме опухолеобразования**

У человека более 80—90% опухолей возникает в органах и тканях с обновляющимся клеточным составом и высоким уровнем пролиферации. Это органы кроветворной системы, покровные эпителии кожи, желудочно-кишечного тракта, трахеобронхальной и урогенитальной систем. В органах с низким числом пролиферирующих клеток развитию опухолей способствуют предшествующие гиперплазии ткани при регенераторных и воспалительных процессах. К последней группе можно отнести поджелудочную железу, печень, щитовидную железу, мочевой пу-

зырь. На эти ткани приходится остальные 10—20% из общего числа тканей.

Однако каким образом пролиферация включена в механизм рака, осталось неразгаданной тайной канцерогенеза. Анализируя этот вопрос, И.В.Урываева (1990, с.98) пишет: «Роль пролиферативного цикла в акте инициации все же не всегда ясна, хотя эмпирически твердо установлена зависимость эффективности канцерогенеза от размножения клеток, во всяком случае для митотически стабильных и медленно обновляющихся тканей... Одна из точек зрения заключается в том, что митотическое деление и особенно репликация ДНК необходимы для фиксации индуцированных канцерогеном локальных повреждений ДНК до того, как репаративные механизмы устранят эти повреждения». Принципиально новое рациональное решение этого вопроса дается в тканевой теории рака.

Если кратко сформулировать принцип тканевой теории, то он состоит в нарушении механизма тканевого контроля пролиферации как надклеточной системы в результате прогрессирующей эмбрионализации и носит негенетический характер, в результате из-под контроля выходят клоногенные клетки, обладающие активизированными онкогенами.

Выявить причину нарушения тканевой системы регуляции можно исходя из представления о природе и механизме устойчивости гомеостатических систем и тех условиях и факторах, при которых происходит их нарушение. Для того чтобы выяснить принцип и механизм нарушения контроля пролиферации, не требуется привлечения представлений о генетических мутациях, поскольку речь идет о структуре надклеточной системы — тканевого гомеостаза.

Повреждение и нарушение ткани, независимо от природы канцерогена, вызывает повышенную гибель клеток и, как ответное действие, защитную реакцию в виде компенсаторной пролиферации.

Механизм неспецифической пролиферации в качестве компенсации повышенной гибели клеток позволяет объединить, унифицировать действие различных канцерогенов с точки зрения единого тканевого ответа как вторичной реакции на патогенное воздействие. При этом хроническая гибель клеток выступает в качестве стимулятора повышенной, длительной пролиферации. Таким образом, стимулировать пролиферацию можно либо путем митотического воздействия, по типу физиологических регуляторов митотической активности (с этим связаны различные функциональные нагрузки в организме, действие факторов роста, гормональные дисбалансы), либо путем увеличения смертности клеток и ответной реакции компенсации

Неспецифическая защитная реакция ткани, компенсаторная пролиферация, подобна неспецифической физиологической защитной реакции организма — стрессу, открытому лауреатом Нобелевской премии Г.Селье (1982). Биологический смысл неспецифической защитной реакции ткани заключается в стереотипном ответе на различные внешние патогенные факторы. По своему механизму и проявлению стресс на физиологическом уровне организма отличается от тканевой пролиферативной защитной реакции, но биологический смысл у них один и тот же. Нарушение механизма гомеостаза также имеет общую основу — превышение предела нагрузки, на которую они рассчитаны, приводит к нарушению саморегуляции, т.е. отрицательной обратной связи. При сильном физиологическом стрессе это заканчивается гибелью организма, а нарушение тканевого гомеостаза приводит к опухолеобразованию. Особенностью тканевого гомеостаза является высокая способность выдерживать большие нагрузки, но и у него есть ахиллесова пята: тканевый гомеостаз боится длительных повышенных нагрузок. При повышенных нагрузках система тканевого гомеостаза долго может сохранять стабильность, т.е. необратимые изменения в структуре постепенно накапливаются до момента выхода из строя отрицательной обратной связи (кейлонный механизм регуляции). Прогрессирующее омоложение ткани приводит к искажению тканевой структуры, которая определяет функционирование тканевой системы, удерживающей под контролем стволовые клетки.

Из неспецифического характера защитной реакции ткани становится ясно, почему столь различные по природе канцерогены способны вызывать одну и ту же компенсаторную реакцию, приводящую в конечном счете при нарушении гомеостаза к неконтролируемой пролиферации. Следовательно, компенсаторная пролиферация, вызывающая эмбрионализацию ткани как ответную реакцию на канцерогенное воздействие, выступает в роли механизма общего знаменателя, который осуществляет нивелировку, унификацию канцерогенных факторов.

При таком подходе удается рационально объяснить механизм гормонального рака. Гормоны не относятся к генотоксическим факторам, поэтому в теории онкогена гормональный рак не получил объяснения. С этой точки зрения гормональный рак, а также действие трансформирующих факторов роста, вызывающих трансформацию, является убедительным аргументом против представления о генотоксичности как обязательном факторе канцерогенного действия. Иначе говоря, в прежних теориях генотоксичность отождествлялась с канцерогенностью, в тканевой теории канцерогенность определяется промоторной функцией.

Таким образом, интенсивная, длительная пролиферация, вызывающая эмбрионализацию, выступает общей мерой, или онкологическим эквивалентом, канцерогенного воздействия. В этом проявляется онкологический унифицированный эффект канцерогенов. С клинической точки зрения возникает вопрос о конкретизации канцерогенного фактора в каждом конкретном случае, инициирующего повышенную хроническую пролиферацию. Одним из таких факторов является длительная функциональная нагрузка на ткань. Канцерогенность таких воздействий определяется зависимостью между функцией органа и количеством функционально полноценных клеток.

Длительные пролиферативные нагрузки, превышающие функциональные возможности ткани, стимулируют избыточную пролиферацию. На этой зависимости основано канцерогенное действие различных гормональных дисбалансов в организме, вызывающих рак. Однако не каждый канцероген вызывает рак, поскольку развитие опухолеобразования зависит от канцерогенного профиля.

## **5. Клиническое значение новой концепции механизма общего знаменателя**

Концепция общего знаменателя, вытекающая из тканевой теории, имеет непосредственное клиническое значение для лечения опухолевых заболеваний. Исходя из тканевой концепции рака следует, что канцерогенность не определяется генотоксичностью, но канцерогенный фактор обязательно должен влиять на пролиферативный режим ткани. Это означает, что онкологическим смыслом обладает промоторный эффект определенного канцерогенного профиля, а не генотоксический. Такой подход к канцерогенному фактору решает проблему эндогенных канцерогенов, которая оставалась нерешенной в теории онкогена. Появляется рациональное объяснение многих ранее необъяснимых фактов, например гормонального рака и рака, связанного со старением и т.д. Корреляция между дисбалансами в организме и усилением пролиферации клеток органа-мишени хорошо изучена и обоснована, однако онкологический смысл хронической пролиферации впервые рационально объясним в тканевой модели. В новой теории изменено представление о природе канцерогенности, что является теоретической основой для разработки новых стратегий лечения и профилактики опухолевых заболеваний. В частности, нам хотелось обратить внимание на проблему эндогенного источника инициации хронической пролиферации в рамках нового

подхода. Становится понятным, что лечить опухоль можно путем нейтрализации источника, вызывающего пролиферацию.

Снижение функциональной нагрузки на орган нормализует пролиферативный режим ткани, что прекращает развитие опухолеобразования и вызывает регрессию. На этом основан эффект гормонотерапии и немедикаментозных методов лечения. Отметим, что положительный эффект гормонотерапии, приводящий порой к полному излечению опухоли, необъясним с позиции теории онкогена, исходящей из необратимых изменений генома.

Тканевая теория опухолеобразования, основанная на нарушении тканевого гомеостаза, органично вписывается в фундаментальные положения медицины и биологии. Роль механизмов гомеостаза в различных системах организма хорошо известна и интенсивно изучается. Нарушение гомеостатических механизмов лежит в основе многих функциональных заболеваний. Однако из всех уровней регуляции в новой теории выделяется тканевый гомеостаз, поскольку именно на этом уровне осуществляется контроль пролиферации, при этом учитываются и влияния со стороны организма. Органическая встроенность, или вписанность, тканевого гомеостаза в систему связей организма позволяет конкретно, шаг за шагом проследить цепь событий, приводящих к опухолеобразованию. Большинство из этих связей уже изучены, неизвестным оставалось лишь последнее звено — онкологическое значение длительной хронической пролиферации. Значение и смысл этого звена в общей цепи процессов, ведущих к опухолеобразованию, описано в тканевой теории.

## **6. Рак на почве старения**

Множество человеческих жизней уносит рак, частота которого с возрастом нарастает. От злокачественных образований в возрасте 20 — 29 лет умирает 11,9 мужчин на 100 тыс. человек, а в возрасте 60 лет — 963,4. По некоторым данным, среди лиц старше 60 лет распространенность всех новообразований превышает соответствующий показатель у людей младше 40 лет в 16,5 раза у мужчин и в 6,7 раза у женщин (Гарин, 1980).

Каков механизм развития рака, обусловленного старением организма? Нельзя ли избежать его либо уменьшить риск онкологических заболеваний? По мнению многих ученых, в раковой клетке прекращается деятельность механизма, ограничивающего активность биосинтеза белка, возникает новый тип регуляции генома, связанный с действием вирусов, канцерогенов. Согласно лауреату Нобелевской премии Ф.Бернету, рак возникает в результате мутаций в соматических клетках, но иммунная система

постоянно уничтожает их. В старости иммунологическая защита ослабевает, и в результате развивается опухоль. В свое время эта концепция была очень популярной, но и сейчас она разделяется многими ведущими онкологами. Ряд ученых считают, что возрастное нарастание частоты рака является результатом суммации внешних влияний (эффекты химических канцерогенов). На этом основании Р.Допл и Р.Пито (1984) отвергают роль в канцерогенезе возрастных изменений, происходящих в организме.

С данной точкой зрения не согласуется концепция канкрофилии В.М.Дильмана (Дильман, 1983). Оценивая точку зрения, согласно которой возрастные изменения занижаются и отвергаются, М.В.Дильман и соавт. (1989, с.126) пишут: «Но химические канцерогены вызывают повреждение генома, тогда как возрастные метаболические сдвиги формируют канкрофилию... нет никаких оснований ни противопоставлять инициацию канкрофилии... ни объединять эти различные по сути явления».

Таким образом, существует определенное противопоставление синдрома канкрофилии как интегрального фактора нейрофизиологических сдвигов при старении организма фактору суммации генетических изменений в клетках организма. Это противопоставление сводится к выяснению природы канцерогенных факторов, проявляющихся при старении организма, а именно возникает альтернатива идентификации их либо с промоторами, либо с генотоксическими канцерогенами.

Анализируя проблему рака, связанного со старением, В.В.Фролькис (1988, с.187) пишет: «Механизм ракового перерождения клетки связан... с изменениями взаимоотношений между генетической активностью и уровнем поляризации клеточной мембраны... В старости изменяются соотношения между биосинтезом белка и уровнем поляризации клеточной мембраны, что создает предпосылки для нарушения регуляторного механизма и деятельности генетического аппарата, перерождения клетки».

Чтобы понять механизм рака, обусловленного старением, необходимо выяснить, какие из отклонений, происходящих в организме, вызывают трансформацию. Одной из наиболее разработанных в отечественной геронтологии является концепция В.М.Дильмана. В основу концепции положено явление снижения чувствительности гипоталамуса к тормозным влияниям обратных связей, повышение гипоталамического порога к тормозящему действию ряда гормонов — эстрогенов и кортикостероидов, которое развивается с возрастом. Любое стойкое отклонение гомеостаза, согласно автору, теоретически следует рассматривать как болезнь.

Адаптация к различным повреждающим факторам осуществляется на всех уровнях организма, включая клеточный и субкле-

точный, но главным образом механизм адаптации реализуется за счет изменений в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе. Согласно концепции В.М.Дильмана, нарушения стабильности в системах энергетического, репродуктивного и адаптационного гомеостаза генетически запрограммированы, так как эти нарушения необходимы для реализации программы развития. Закономерное отклонение гомеостаза постепенно приводит к формированию специфической возрастной патологии, включая синдром канкрофилии и спектр гормональных изменений, определяющих патогенез гормонального рака.

Согласно В.М.Дильману, вероятность возникновения рака тем выше, чем больше пул пролиферирующих клеток, чем ниже активность иммунитета и функции макрофагов и чем ниже способность систем репарации восстанавливать структуру ДНК. Проанализируем значение каждого из этих факторов. Очевидно, что в результате снижения способности к репарации ДНК увеличится гибель клеток, в результате чего усилится компенсаторная пролиферация. Поэтому этот фактор представляет собой иную форму первого фактора, т.е. усиления пролиферации. Это означает, что, по существу, три фактора сводятся к двум — повышенной пролиферации и недостаточности иммунитета. Но они далеко не равнозначны. Как будет рассмотрено в другом месте, роль иммунитета при раке не является определяющей. Постулируемая чужеродность трансформированных клеток на самом деле отсутствует, поскольку из-под контроля выходят низкодифференцированные, клоногенные клетки с активизированными онкогенами (стволовые и коммитированные). Однако их выход из-под контроля обусловлен не генетическими нарушениями, а выходом из строя тканевого гомеостаза. Таким образом, из трех факторов сохранил свое онкологическое значение лишь один — избыточная хроническая пролиферация.

Совокупность возрастных изменений, способствующих канцерогенезу, В.М.Дильман определил в качестве синдрома канкрофилии. Сочетание избытка глюкозы и инсулина в крови и уменьшение потребления глюкозы мышечной тканью приводит к усилению синтеза жира, что проявляется в развитии возрастного ожирения и ведет к возникновению гормонально-метаболических сдвигов. В конечном итоге наблюдается снижение толерантности к глюкозе, реактивная гиперинсулинемия, повышение в крови концентрации свободных жирных кислот, холестерина (липопротеинов низкой плотности), триглицеридов, кортизола.

Совокупность этих сдвигов и создает синдром канкрофилии, что обозначают как предрасположенность к раку, вызываемую нарушением жируглеводного обмена. Синдром развивается в процессе нормального старения, но его возникновение может быть ускорен-

но в результате ожирения, сахарного диабета тучных, острого хронического стресса, психической депрессии, атеросклероза, беременности, акселерации, избыточного питания, синдрома канцерогенного старения.

Освещая вопрос о механизме трансформации, В.М. Дильман пишет: \*Применительно к раковой клетке основным признаком является... свойство потенциального бессмертия. Это свойство определяется изменениями в генетическом аппарате клетки... Под влиянием неканцерогенных раздражителей... данный тип клеток превращается в раковые клетки. Эта вторая фаза обозначается как стадия промоции... Вместе с тем синдром канкрофилии может оказывать выраженное промоторное влияние» (1983, с.149-164).

С позиции тканевой теории механизм рака на почве старения можно объяснить теми же причинами, что и гормональный рак. Физиологические сдвиги, обусловленные нарушением гомеостаза той или иной системы организма, компенсируются за счет функциональной нагрузки на орган, что инициирует хроническую пролиферацию.

Повышенный хронический режим пролиферации, как было показано при рассмотрении гормонального рака, разрушает тканевый гомеостаз, что обусловлено прогрессирующей эмбрионализацией клеток, в результате клоногенные стволовые клетки, обладающие активизированными онкогенами, выходят из-под контроля. Например, усиление функции яичников, которое возникает в процессе старения, — это компенсация, которая не позволяет выключиться репродуктивной функции. Эта компенсация создает пролиферативные изменения в органах репродуктивной системы (Дильман, 1983). Данные показывают, что длительное повышение уровня гонадотропинов вызывает опухоли яичников. Характерно, что увеличение с возрастом частоты рака яичников у женщин также связано с возрастным увеличением продукции гонадотропинов.

По мнению Я.В.Бохмана, эндокринные нарушения явно коррелируют с развитием рака органов репродуктивной системы, он пишет: «В проблеме рака яичников сложилась трудная ситуация: отсутствие четких представлений о патогенезе препятствует раннему обнаружению этих опухолей... накапливается все более сведений, указывающих на несомненную принадлежность рака яичников к гормонозависимым опухолям. Эксперименты на животных выявили, что у домашних старых кур-несушек рак левого яичника — самая частая спонтанная опухоль. Гиперстимуляция гонадотропной функции (повышенное освещение) приводит к увеличению продукции яиц и одновременно частоты рака яичника (Gilbert, 1971, цит. по: Бохман, 1989, с.47).



Таким образом, в процессе нормального старения, как показал В.М. Дильман, нарушается гомеостаз в системах, контролируемых репродуктивным, адаптационным и энергетическим гомеостазами. Климакс также представляет собой и нормальный физиологический процесс и болезнь, в его основе лежит нарушение гомеостаза (Дильман, 1983).

Современным концепциям старения предшествовали системные теории старения, которые берут свое начало от исследований, связавших старение с нарушением эндокринной регуляции, например с истощением функции эпифиза или половых желез. Однако необходимо выяснить, почему развиваются эти нарушения. Согласно излагаемой концепции В.М. Дильмана, регулирование гомеостаза подчиняется закону отклонения гомеостаза, где ключевое значение имеют гипоталамические изменения.

Первоначальные представления о механизме старения как повышения активности гипоталамуса постепенно расширялись. В дальнейшем механизм старения был связан с более общим явлением - феноменом повышения порога чувствительности гипоталамуса к регулирующим сигналам. При этом не имеет значения, что порог чувствительности гипоталамуса к регулирующим сигналам в одних системах снижается, а в других повышается. Для механизмов старения общими являются два ключевых патогенетических механизма нормальных болезней: 1) изменение порога чувствительности гипоталамуса к гомеопатическому сигналу и 2) компенсаторное повышение функции периферической эндокринной железы. Болезни, основанные на этих элементах, называются болезнями компенсации (Дильман, 1968).

Общий вывод теории старения о том, что с возрастом происходит разбалансировка основных гомеопатических систем организма в результате чего возникают компенсаторные явления, имеет принципиальное значение для состыковки (на основе взаимодополняющих моделей) с тканевой теорией рака.

Компенсация функциональной недостаточности осуществляется при высоких нагрузках за счет пшерстимуляции пролиферации, которая принимает хронический характер. Именно такой режим пролиферации определяет канцерогенный профиль, который вызывает прогрессирующую эмбрионализацию, в результате чего разрушается структура и функция тканевого контроля митотической активности клоногенных клеток. Таким образом, механизм рака, связанного с возрастными изменениями, аналогичен раку, вызванному гормональными нарушениями:

- 1) на первом этапе происходит искажение систем гомеостаза на уровне организма;

- 2) ткань гормонозависимого органа попадает в режим повышенной функциональной компенсации либо стимуляции;
- 3) результатом усиленного режима является хроническая гиперстимуляция пролиферации;
- 4) ускоренная хроническая пролиферация вызывает обратимую блокировку дифференцировки;
- 5) нарушение дифференцировки приводит к прогрессирующей эмбрионализации ткани;
- 6) постепенное увеличение доли низкодифференцированных клеток в ткани разрушает соотношение между дифференцированными и стволовыми (клоногенными) клетками и, соответственно, соотношение между факторами роста/кейлонами;
- 7) нарушается отрицательная обратная связь, контролирующая деление клоногенных клеток, обладающих активизированными онкогенами;
- 8) неконтролируемый злокачественный рост низкодифференцированных, клоногенных клеток определяет инвазию и метастазирование опухоли.

## **7. Концепция канцерогенного профиля**

Положение о канцерогенности повышенного режима пролиферации раскрывается в концепции канцерогенного профиля. Суть концепции состоит в том, что канцерогенное воздействие для индуктирования опухолеобразования должно соответствовать определенному временному режиму воздействия и определенному уровню дозы канцерогена. Данный режим пролиферации отражает характеристики тканевого гомеостаза, а именно способность к восстановлению при повреждениях (способности амортизировать, «буферные» свойства). Концепция канцерогенного профиля впервые конкретизировала понятие канцерогенности, объединив генотоксические канцерогены и негенотоксические. Любое воздействие канцерогенных факторов на ткань, если оно способно повышать уровень пролиферации и вызывать прогрессирующую эмбрионализацию клеток ткани, способно при определенном уровне воздействия и времени действия вызвать опухолеобразование. Таким образом, понятие канцерогенного фактора учитывает не только статичное качество, но также учитывает динамические свойства гомеостаза ткани, что подтверждается многочисленными экспериментальными и клиническими данными.

Концепция канцерогенного профиля решает проблему соотношения и различия между канцерогенами и коканцерогенами (или промоторами).

С позиции концепции канцерогенного профиля различие между «чистыми» канцерогенами и коканцерогенами (промоторами) является чисто количественным. Это означает, что коканцерогены не способны вызвать канцерогенный профиль и соответственно рак при режимах воздействия, свойственных канцерогенам, но это не означает, что они не могут вызвать опухолеобразование при других режимах, более интенсивных и продолжительных. Новая трактовка природы коканцерогенных факторов в рамках концепции канцерогенного профиля поддается экспериментальной проверке. Если концепция верна, то подтвердить ее можно путем проверки вывода о том, что при изменении режима пролиферации коканцерогены (промоторы) способны превращаться в истинные канцерогены, вызывая опухолеобразование. Этот вывод имеет экспериментальное подтверждение. Данные показали, что классический коканцероген кретоновое масло при увеличении времени воздействия на ткань вызывает канцерогенез. Этот же результат подтверждается тем, что гормоны, вызывающие пролиферацию в ткани, при одних дозах и времени действия являются нормальными регуляторами физиологических функций, а при повышенных дозах и увеличении времени действия вызывают гормональный рак, т.е. неканцерогенный, негенотоксический фактор при изменении канцерогенного профиля превращается в канцероген. Следовательно, концепция канцерогенного профиля имеет хорошее экспериментальное и клиническое подтверждение и в свою очередь объясняет многочисленные данные, не имевшие ранее рационального объяснения.

То обстоятельство, что коканцерогены способны превращаться в истинные канцерогены при изменении канцерогенного профиля, опровергает распространенную концепцию двухфазности процесса трансформации, где первая фаза — инициация — обусловлена действием генотоксического канцерогена, в вторая фаза — промоции — обусловлена действием коканцерогенов (промоторов). Рак можно вызвать за счет увеличения дозировки и времени действия промоторов, т.е. промоторное действие канцерогенов в новой теории оказывается канцерогенным.

Концепция канцерогенного профиля выступает в качестве альтернативной модели и опровергает, распространенную концепцию двухфазного механизма канцерогенеза, которая основывается на мутационной модели рака.

Следует отметить, что тканевая теория канцерогенеза хорошо стыкуется с концепцией старения В.М Дильмана. Отличие состоит в различной трактовке онкологического смысла синдрома кан-

крофилии и гормональных дисбалансов. Согласно В.М.Дильману, что также соответствует общепринятой точке зрения, возрастные нарушения, обозначаемые синдромом канкрофилии, играют промоторную функцию, т.е. создают лишь условия, истинный же канцероген по своей природе должен быть генотоксическим.

Ошибочность данного взгляда раскрывается с позиции концепции канцерогенного профиля, которая объединяет генотоксические и негенотоксические факторы. Общим у них является промоторное действие, которое и является канцерогенным при определенном уровне воздействия.

Таким образом, если предыдущие концепции рака, связанного со старением, более полно описали механизм возрастных отклонений, то оставалась нерешенной проблема, как состыковать эти возрастные изменения с механизмом трансформации, т.е. какие из обнаруженного спектра изменений обладают канцерогенностью.

Концепция рака, связанного со старением, так же как теория гормонального рака, состоит из двух связанных блоков, где первый описывает логику (принцип) процессов отклонения основных гомеостатических систем организма, в результате чего развивается гиперстимуляция пролиферации, а второй блок описывает механизм трансформации. Эту часть в прежних концепциях не удалось логично связать с промоторным действием гомеостатических отклонений в организме. Таким образом, выявленный механизм рака на почве старения показал, что тканевая теория является универсальной моделью и позволяет с единых позиций объяснить разные виды опухолеобразования.

## РЕЦЕПТОРЫ И ФАКТОРЫ РОСТА В МЕХАНИЗМЕ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

### 1. Пути передачи информации в ядро

Большие усилия были направлены на выявление биохимических механизмов, с помощью которых внеклеточные пептиды вызывают биологический ответ в клетках мишени. Успехи были достигнуты в изучении влияния факторов роста на пролиферацию клеток. Были прослежены новые внутриклеточные пути комплексов гормон-рецептор. Удалось показать, что ряд рецепторов гормонов представляет собой бифункциональные трансмембранные молекулы с каталитической функцией (тирозин-протеинкиназной активностью), которая возрастает, когда с этими молекулами связывается гормон. До середины 70-х годов ученые не предполагали, что пептидные гормоны могут попадать внутрь клетки. Теперь известно, что вслед за связыванием очень многих пептидных гормонов с поверхностными рецепторами происходит их быстрое перемещение в клетку в составе пузырьков и разрушение с помощью лизосом.

Существует два возможных пути действия факторов роста. Первый реализуется в случае таких факторов роста, как инсулин и эпидермальный фактор роста (EGF — от англ. epidermal growth factor), возможно, он начинается на рецепторах, активирующих фермент тирозинкиназу (т.е. протеинкиназу, фосфорилирующую белки по остатку аминокислоты тирозина). Он представляет собой каскад последовательного фосфорилирования нескольких белков. Другой путь связан с такими факторами, как фактор роста из тромбоцитов (сокращенно PDGF — от англ. platelet-derived growth factor), видимо, он идентичен тому пути, который начинается гормонами и нейромедиаторами (Карпенгер, Коэн, 1987). Попадая на поверхность клетки, PDGF стимулирует гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата с образованием

вторичных мессенджеров инозитолтрифосфата и диацилглицерола, которые затем участвуют в процессах фазы G<sub>1</sub>, подготавливающих клетку к синтезу ДНК. Инозитолтрифосфат, вероятно, вызывает мобилизацию внутриклеточного кальция, а диацилглицерол активизирует С-киназу, которая в свою очередь приводит в действие связанный с мембраной механизм обмена ионов. Этот механизм выкачивает ионы водорода из клетки, повышая внутриклеточный рН. Полагают, что мобилизация кальция и повышение рН вызывают синтез РНК и белков, необходимых для подготовки клетки к репликации ДНК.

Становится понятным, что продукты онкогенов образуют что-то вроде сложной сети, которая обеспечивает передачу информации от поверхности клетки к ядру. Одни онкогены (например, *sis*) кодируют факторы роста. Факторы роста активизируют другие онкогены (например, *src* и *fos*), продукты которых функционируют в ядре клетки (Берридж, 1985)

Интересная концепция относительно гормонального контроля ядерной активности появилась в результате наблюдений, согласно которым очищенный ФРЭ-рецептор и очищенная *src*-киназа осуществляют АТР-зависимое взаимодействие с ДНК (Карпентер, Коэн, 1987). В присутствии АТР эти белки способны надрезать суперспирализованную ДНК, переводя ее в релаксированную форму. Эта способность фермента к надрезанию и сшиванию в чем-то аналогична свойствам ДНК-топоизомераза

## **2. Роль факторов роста в механизме канцерогенеза**

Факторы роста и рецепторы являются непосредственными участниками механизма контроля пролиферации клеток. Поскольку нарушение этого механизма является причиной опухолеобразования, то круг подозреваемых факторов сужается. Идентификация причины рака конкретизируется. С другой стороны, факторы роста и рецепторы являются продуктами онкогенов, которые, согласно теории онкогена, выходят из-под контроля в результате необратимых нарушений. Теперь обратимся к фактам и проанализируем их

Факторы роста и рецепторы (ФРТ<sub>р</sub> и ЭФР) при длительном добавлении в среду культивирования некоторых клеток способны вызывать признаки опухолевого фенотипа, которые исчезают после прекращения добавок этих митогенов (Ивашенко, Быкорез, 1990). Данный феномен получил название «фенотипической трансформации». Факторы роста стимулируют экспрессию *p-fos* и *p-tus* на нескольких типах клеток. Протоонкоген *c-tus*, коди-

рующий ядерный белок, способный связываться с ДНК, находится под контролем факторов роста, поскольку в покоящихся клетках он практически не экспрессируется. На трансгенных мышах — носителях мышинового с-тус, соединенного с LT ММТВ, было показано, что высокий уровень экспрессии тус-трансгена в эпителии молочных желез сочетается с высокой частотой (90%) развития аденокарцином молочных желез.

Факторы роста и их рецепторы имеют высокую степень гомологии с белками, кодируемыми вирусными онкогенами, следовательно, их гены являются клеточными протоонкогенами.

Одна из первых концепций определяла опухолевый рост как извращение нормальных процессов воспаления и регенерации. Теория «раздражения» Вирхова также исходила из этой основы. Это сходство получило подтверждение на молекулярно-генетическом уровне: выявилось участие в этих процессах полипептидных факторов роста, которые играют ключевую роль в стимуляции роста как нормальных клеток, так и трансформированных. Однозначная интерпретация роли факторов роста в трансформации с позиции теории онкогена пока затруднена

Одна из основных идей молекулярно-генетической теории о механизме трансформации состоит в том, что опухолевые клетки в отличие от нормальных характеризуются автономией, т.е. аутокринной секрецией факторов роста (Sporn, Roberts, 1986) и наличием рецепторов к ним. Однако было выявлено, что аутокринная секреция факторов роста наблюдается также в клетках зародышей, эмбрионов и в некоторых регенерирующих клетках (артериальные гладкомышечные клетки из трансформированных артерий синтезируют полипептид, сходный с ФРТр, и реагируют на него) (Bowen-Pope, Sifer, 1985). Эти данные коррелируют с тем, что в клоногенных стволовых клетках обнаружены активизированные онкогены, которые репрессируются по мере созревания и дифференцировки. Известно, что аутокринная стимуляция митоза — одно из основных свойств стволовых клеток.

Определение нуклеотидной последовательности м-РНК, кодирующих рецепторы различных полипептидных факторов роста, позволило установить гомологию между ними и белками, кодируемыми вирусными онкогенами (Waterfield et al., 1984, цит. по: Тараховский, Винницкий, 1990). В этих работах была установлена гомология между белком, кодируемым v-erb B, и рецептором эпидермального фактора роста. Аналогичная гомология установлена для онкогена v-kit и рецептора фактора роста из тромбоцитов, v-fms и рецептора фактора, стимулирующего рост колоний макрофагов. Таким образом, клеточные аналоги вирусных онкогенов являются генами, кодирующими рецепторы факторов роста. На этом основании было сделано предположение, что их

структурно-функциональные изменения могут приводить к неконтролируемому делению и появлению преходящего и стабильного трансформированного фенотипа.

Существует несколько гипотез относительно участия факторов роста и рецепторов в механизме трансформации. Так, ряд авторов считает, что извращение системы регуляции деления, выражающееся в приобретении клеткой способности к аутокринной регуляции пролиферации, является одним из характерных свойств опухолевой клетки. Возможно, считают другие авторы, утрата клетками способности к старению (иммортализация) является этапом, предшествующим трансформации. С другой стороны, возможно, структурные изменения белков-рецепторов делают клетки нечувствительными к внешним воздействиям регуляции, что и приводит к стабилизации трансформированного фенотипа. Таким образом, рак определяют на молекулярном уровне как патологию механизма регуляции пролиферации, связанного с нарушением рецепторов либо факторов роста, являющихся продуктами патологически измененных онкогенов.

### 3. Биология рецепторов и их участие в контроле пролиферации

Согласно современному воззрению, рецептором является компонент, который помимо специфического связывания с лигандом обеспечивает передачу сигнала, т.е. запускает рецепторный процесс, завершающийся биологическим эффектом.

Большинство поверхностных рецепторов, активизируемых внеклеточными сигналами-лигандами, создают внутриклеточные сигналы. Они либо изменяют активность связанного с мембраной фермента, который изменяет концентрацию внутриклеточного медиатора, либо влияют на проницаемость ионных каналов, что приводит к изменению мембранного потенциала, внутриклеточной концентрации того или иного иона (Кац, Лаврецкая, 1986).

Многие поверхностные рецепторы связаны с аденилатциклазой. Присоединение лиганда запускает цепь реакций, приводящих к увеличению (иногда к уменьшению) синтеза с АМФ аденилатциклазой.

Когда специфическое связывание лиганда не сопровождается трансдукцией сигнала, говорят о связывающих лиганд белках, внецепторном связывании, акцепторах. В ряде случаев показано, что акцепторы по своей первичной структуре могут быть или полностью идентичны рецепторам, или представлять обломки последних, т.е. иметь структуру, идентичную структуре одного из



участков рецептора. Представляет интерес происхождение акцепторов за счет частичной деградации рецепторных белков.

Уже давно известно сопряжение многих рецепторов с протеазами. Функциональное значение протеолиза рецепторных молекул разнообразно. Таким путем могут регулироваться взаимоотношения с белками — участниками рецепторного процесса, число рецепторов, сродство к лиганду (Aroustam, Grunbaum, 1986). Кроме протеолиза рецепторов, установлена и возможность протеолитической деградации лигандов. Эти данные получены для инсулина, глюкагона и других лигандов. Этот процесс рассматривается как один из возможных механизмов, обуславливающих окончание действия стимула, или как способ регуляции биологического эффекта, осуществляемого на уровне взаимодействия рецептора с лигандом (Duckoworth et al., 1988).

Для большинства рецепторов, помимо обычных путей передачи сигнала, имеются альтернативные механизмы. Многообразны пути трансдукции сигналов у рецепторов, изменяющих активности ферментов, что воздействует на степень фосфорилирования белков (рецепторы инсулина, эпидермальный фактор роста, соматостатин и др.).

Имеются данные (Garbers, 1989) о том, что один из типов рецепторов натрийуретического фактора сам обладает ферментативной активностью гуанилатциклазы. Такое совмещение функций рецептора и фермента обнаружено еще у ряда рецепторов.

При взаимодействии факторов роста (лигандов) с рецепторами на поверхности клеток-мишеней рецепторы претерпевают конформационные изменения, генерирующие внутриклеточный сигнал. Структурно видоизмененная молекула называется вторичным мессенджером. К первичным мессенджерам относятся три группы факторов: местные химические медиаторы, действующие непосредственно на окружающие клетки; гормоны, секретруемые эндокринными клетками и взаимодействующие с клетками-мишенями; нейротрансмитеры, продуцируемые нервными клетками и служащие химическими медиаторами, которые действуют только на соседние клетки-мишени. Главными вторичными мессенджерами являются цАМФ и  $\text{Ca}^{2+}$ . Большая группа протеаз активизируются ионом  $\text{Ca}^{2+}$ , который является участником рецепторных процессов. Внутриклеточным рецептором для  $\text{Ca}^{2+}$  служит белок кальмодулин, играющий важную роль в митогенетическом цикле клеток. В покоящихся клетках главные резервы  $\text{Ca}^{2+}$  заключены в эндоплазматической сети и митохондриях. Концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  вне клетки в  $10^4$  раз больше, чем в клетке. Увеличение в клетках концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  происходит при клеточной активации, осуществляемой внешними стимулами. Активность многих цитоплазматических белков (например,

кальмодулина) регулируется внутриклеточным  $\text{Ca}^{2+}$  и коррелирует с повышенным содержанием этого компонента в клетках.

Связывание  $\text{Ca}^{2+}$  с кальмодулином приводит к его конформационному изменению, связанному с регулированием большого количества ферментов, включая фосфолипазу А<sub>2</sub> (Stobo, 1988). От комплекса кальмодулин- $\text{Ca}^{2+}$  зависят такие ферменты, как циклическая нуклеотид-фосфодиэстераза, аденилатциклаза, АТФаза, фосфолипазная киназа и др.

Функциональная активность многих белков регулируется фосфорилированием. Состояние активности этих белков осуществляется совместным действием белковой киназы и белковой фосфатазы, катализирующих соответственно фосфорилирование и дефосфорилирование.

Активность белковой киназы С ассоциируется с мембранным рецептором (например, рецептором инсулина) или вторичными мессенджерами (цАМФ, диацилглицерин, ИФз,  $\text{Ca}^{2+}$  и др.). Белковое фосфорилирование и дефосфорилирование играют важную роль в регуляции клеточной активности, являясь основными механизмами контроля клеточной функции.

Для глюкокортикоидов характерно непосредственное взаимодействие с ДНК (Moore, 1985, цит. по: Кульберг, 1987). Данные показали, что глюкокортикоидный рецептор взаимодействует с тем участком полного гена гормона роста, который выполняет функцию регулятора транскрипции этого гена. Модель комплекса ДНК-глюкокортикоидный рецептор напоминает структуру прокариотических репрессоров lac, Xcl, Xcgo с центрами бактериальной ДНК. Таким образом, механизм реализации эффекторных функций глюкокортикоидного рецептора, очевидно, имеет древнее филогенетическое происхождение.

Данные, полученные при изучении мутантов млекопитающих, у которых изменен рецептор стероидного гормона, показывают, что дефект в рецепторе мужского полового гормона тестостерона приводит к тому, что особи с мужским генотипом выглядят как самки. Все млекопитающие, не подвергшиеся в эмбриональный период воздействию тестостерона, развиваются по женскому пути. Мутанты-самцы имеют нормальные семенники, но ткани этих самцов не реагируют на гормоны из-за дефектности рецепторов. В результате у таких самцов развиваются все вторичные половые признаки самок и их семенники не опускаются в мошонку, а остаются в брюшной полости. Этот синдром тестпулярной феминизации встречается у мышей, крыс, крупного рогатого скота и у человека (Альберте и др., 1987).

В настоящее время бурно развивается направление практического приложения исследования рецепторов. Например, установлено, что 50 — 65% женщин, больных раком молочной железы и

имеющих рецепторы эстрогена, поддаются эндокринной терапии; женщины, лишенные таких рецепторов, излечиваются только в 10% случаев. Еще лучшими индикаторами эффективности гормональной терапии служат рецепторы прогестерона — конечного продукта действия эстрогена: корреляция между наличием рецепторов прогестерона в опухолевых клетках и эффектом эстрогена близка к 80% (Manni, 1983).

#### **4. Связь факторов роста с регуляцией митотического цикла**

В последнее время получены новые данные, которые конкретизируют представление о связи факторов роста с регуляцией митотического цикла клеток. Было показано, что у эукариот клеточный цикл в значительной степени определяется изменениями активности одного белка, обозначаемого *cdc2* (Мюррей, Киршнер, 1991).

Для клеточного цикла характерна весьма совершенная регуляция: контролируются размеры и время — клетка приступает к делению в тот момент, когда масса ее удвоилась; клетка должна также координировать различные стадии цикла.

В 1971 г. И.Масуи (Йельский университет, США) и Л.Смит (Аргоннская национальная лаборатория, США) независимо друг от друга сделали открытие. Они идентифицировали в яйцеклетках лягушки вещество, от которого зависит начало митоза и мейоза и которое они назвали фактором созревания (сокращенно MPF — от англ. maturation promoting factor). Позже этот фактор был обнаружен во всех митотических клетках. MPF, который выделили в 1988 г., является главным регулятором митоза и мейоза. Оказалось, что клеточный цикл в яйцеклетке не зависит от событий, происходящих в ядре, а управляется автономным осциллятором — набором химических реакций в цитоплазме. Этот осциллятор, наподобие часового механизма, определяет активность MPF. Активность MPF флуктуирует: постоянно обнаруживается во время митоза и отсутствует в интерфазе (Мюррей, Киршнер, 1991).

Началом генетических исследований клеточного цикла считаются работы Л.Хартуэлла (Вашингтонский университет). В конце 60-х — начале 70-х годов им были идентифицированы мутации генов, при которых наблюдается задержка той или иной стадии клеточного цикла. Эти гены известны под общим названием *cdc* (от англ. cell-division cycle). Белок *cdc2* играет ключевую роль в митозе всех эукариот. Он относится к протеинкиназам, т.е. ферментам, переносящим фосфатные группы от АТФ на молекулы белков. Присоединение или удаление фосфора является основным средством регуляции активности клеточных белков. Дальнейшие исследования по-

казали, что циклин является вторым компонентом MPF и участвует в активизации белка *cdc2* и, следовательно, MPF. Деградация циклина важна для прохождения митоза, и каждый раз этот белок должен синтезироваться заново во время активизации MPF, т.е. он индуцирует митоз, определяя общий ритм цикла. Самого по себе присоединения циклина к белку *cdc2* недостаточно для активизации этого комплекса. Для функционирования MPF необходимо, чтобы *cdc2* и циклин подверглись определенным модификациям. Эту функцию выполняют другие белки, один из которых обозначают *cdc25*, и именно он, а не циклин, определяет начало митоза в некоторых клетках.

В одних случаях активизация комплекса *cdc2-un<sup>НН</sup>* осуществляется белком *cdc25*, а в других — самим циклином, в третьих — каким-то еще неизвестным модулятором.

В соматических клетках эмбриона на поздних стадиях его развития начало репликации ДНК в интерфазе строго регулируется. Этот важнейший контрольный момент установил Хартуэлл, назвав его стартовым переходом. На стартовый переход влияют питательные вещества, гормоны и факторы роста, участвующие в регуляции накопления циклина в период до стартового перехода. Таким образом, регуляторы клеточного цикла — белок *cdc2*, циклин и модуляторы вроде *cdc25*, как выяснилось, являются основными регуляторами клеточного цикла у всех эукариотических организмов. Новые данные о механизме регуляции митотического цикла показали, что факторы роста определяют стартовый переход в интерфазе, инициируя начало репликации ДНК. Этот процесс является дозозависимым.

## **5. Пороговый характер биологического эффекта ФР. Триггерный механизм**

Следующий вопрос связан с количественным аспектом регуляции пролиферации посредством факторов роста. В работе С.Д.Казьмина (1991) было показано, что механизм регуляции внутриклеточной концентрации белка, фосфорилируемого на мембранах, имеет триггерный характер. Чувствительность клеток к факторам роста определяется не только аффинностью или числом рецепторов на мембранах, но и параметрами тех реакций, которые индуцируются в клетках после лиганд-рецепторного взаимодействия. Эти данные коррелируются с данными о дозозависимом эффекте кейлонного воздействия, осуществляющего обратную связь между дифференцированными клетками и стволовыми клоногенными клетками.

Активизация протеинкиназы приводит к фосфорилированию внутриклеточных белков — мишеней. Стационарная концентрация

этих фосфорилированных сигнальных белков определяет уровень и значимость сигнала. Анализ позволил выявить пороговый характер зависимости пролиферации от концентрации факторов роста. Как показал С.Д.Казьмин (1991), такая система регуляции обладает многими необычными свойствами, она может неограниченно долго поддерживать один из альтернативных режимов: либо режим с минимальной концентрацией фосфорилированных белков, либо — с максимальной. Переход с первого режима на второй может произойти тогда, когда концентрация факторов роста, а следовательно, и скорость фосфорилирования на мембранах превысят некоторое пороговое значение ( $V$ ). Возврат клеток со второго режима снова на первый возможен тогда, когда концентрация факторов роста и соответственно скорость фосфорилирования на мембранах снизятся настолько, что станут ниже пороговой величины ( $V''$ ). При этом  $V > V''$ . Выявление количественных кинетических закономерностей (на уровне тканевого гомеостаза) действия ФР, а также белков, непосредственно регулирующих митотический цикл клетки, подтверждает тканевую теорию опухолеобразования, в частности показывает, что различие между «фенотипической» трансформацией и «устойчивой» трансформацией не связано с генетическими повреждениями онкогенов, а носит характер тканевой разбалансировки гомеостаза, что происходит при длительных повышенных режимах пролиферации, разрушающих структуру гомеостаза. Именно о таком характере природы трансформации свидетельствуют данные, показывающие способность раковых клеток нормализоваться при инициации дифференцировки, что было бы невозможным при необратимых повреждениях генома.

С другой стороны, данные о трансформирующем воздействии факторов роста доказывают существование специализированного механизма, т.е. трансформация не определяется неспецифическим генотоксическим фактором, следовательно, представление о мутациях онкогенов как о причине трансформации разрушается. Новые данные подтверждают, что трансформация обусловлена нарушением тканевого контроля.

## **6. Последнее звено в цепи трансформации**

### ***а) Опровержение представлений о дефектности ФР как причине трансформации***

Новое направление, связанное с изучением роли рецепторов и факторов роста в канцерогенезе, можно назвать последним рубежом на пути построения общей теории рака. Данные, касающиеся молекулярного механизма контроля пролиферации, вы-

ступают в качестве своеобразного критерия для теории онкогена и тканевой теории. Одна из них получит подтверждение, другая будет разбита. Определяющее значение этого направления состоит в том, что, по существу, к настоящему моменту выявлены все звенья цепи механизма рака: 1) обнаружены онкогены, нарушение которых, как считают, определяет трансформацию; 2) изучены онкобелки — продукты онкогенов; 3) выявлены трансформирующие ФР продукты онкогенов, вызывающие трансформацию; 4) исследованы молекулы — рецепторы, принимающие трансформирующий сигнал. Можно сказать, круг подозреваемых лиц — потенциальных виновников драмы — замкнулся. Однако механизм рака в теории онкогена по-прежнему остается загадкой. Молекулярно-генетическая теория неспособна объяснить многие факты, что говорит об ошибочности ее основания. Теория онкогена прошла путь развития от открытия онкогенов до выявления молекулярного механизма контроля пролиферации — факторов роста и рецепторов, являющихся продуктами онкогенов. Однако то, что трансформация клетки осуществляется в результате воздействия трансформирующих факторов роста на рецепторы, не подкрепляет теорию онкогена, а опровергает ее. Установление того, что злокачественное перерождение клетки осуществляется с помощью специализированного, эволюционно выработанного механизма — факторов роста и рецепторов, опровергает основу теории онкогена, в частности представление о генотоксичности как необходимом условии канцерогенного эффекта.

В теории онкогена генотоксичность канцерогена отождествляется с трансформирующими свойствами. Однако факторы роста, как и гормоны, в силу регулирующей, митотической функции не относятся к генотоксическим факторам. Таким образом, удается отделить «трансформирующие свойства» от «генотоксичности», которые в теории онкогена и предшествующих концепциях отождествлялись. Заметим, что это не единственные факты, позволяющие опровергнуть общепринятую точку зрения, отождествляющую канцерогенность и генотоксичность: такая же трудная ситуация возникла по поводу гормонального рака, где также отсутствует генотоксический фактор. Гормоны не являются генотоксическими факторами, и то обстоятельство, что они вызывают при повышенных дозах и длительном введении опухолеобразование, не объясняется генотоксичностью гормона. По существу, механизм гормонального рака противоречит представлению о генотоксичности канцерогенов как условии трансформации, является опровержением теории онкогена. Чтобы сохранить теорию и представление о мутациях как причине рака, была выдвинута гипотеза о «непрямом действии» гормонов в механизме канцерогенеза,

т.е. им отводится роль промоторов и предполагается действие «истинного» канцерогена, действующего параллельно с гормонами. Наличие такого невыявляемого «истинного канцерогена» допускается в тех случаях, когда не удается объяснить механизм трансформации на основе традиционного подхода. В случае спонтанной малигнизации *in vitro* также допускается существование канцерогена, который пока не выявлен.

Установление того факта, что факторы роста способны вызывать истинную трансформацию клетки, позволяет отказаться от представления, что канцероген должен обладать генотоксичностью. Следовательно, в случае гормонального рака необязательно, чтобы гормоны были генотоксичны; при этом потребность в «истинном» канцерогене отпадает. Открытие трансформирующих факторов роста разрушило гипотезу, которая защищала теорию онкогена от противоречия по поводу объяснения гормонального рака. Таким образом, при анализе роли факторов роста, рецепторов и данных по гормональному раку появляются новые доказательства, опровергающие теорию онкогена, а именно ее основу — представление о механизме трансформации, которое базируется на мутационной концепции рака

Можно сказать, открытие онкогенов не изменило принципиально понимания природы трансформации; с этой точки зрения теория онкогена не является принципиально новой по сравнению с мутационной концепцией канцерогенеза. Конкретизированы гены, нарушение регуляции которых, как предполагается, определяет трансформацию. В новой теории, основанной на нарушении тканевого гомеостаза, разбивается ядро теорий рака — идея, что рак является результатом необратимых повреждений генома клетки.

Нормализация опухолевых клеток при дифференцировке опровергает представление о трансформации в результате генетических мутаций.

Опровержение основного положения, что канцерогенность определяется генотоксичностью, вместе с тем опровергает и связанное с ним положение о том, что раковые клетки приобретают в результате трансформации чужеродные свойства, которые опознаются иммунной системой и уничтожаются ею. Таким образом, разрушается концепция «иммунологического надзора», выдвинутая Ф.Бернеттом. Хотя критика этой концепции ведется с тех пор, как она появилась, поскольку имеется много противоречащих фактов, однако окончательно она не разбита и вошла в современное представление о раке как базисная концепция.

Разрушение представления о генотоксичности канцерогена как необходимом условии канцерогенеза уничтожает основу концепции «иммунологического надзора» — представление о трансфер-

мации как процессе, в результате которого появляются генетические изменения клетки.

Таким образом, канцерогенное воздействие вызывает двойной эффект — промоторный и генотоксический. Проллиферативный (промоторный) эффект канцерогенного воздействия известен давно, однако его онкологическое значение оставалось загадкой и было скрыто, поэтому оценивалось лишь как фоновое условие. В новой теории впервые меняется смысл и значение этих эффектов на прямо противоположное: онкологический смысл, как оказалось, связан с пролиферативным эффектом, который разрушает тканевый гомеостаз в результате прогрессирующей эмбрионализации ткани.

Парадоксальность значения открытия трансформирующих факторов роста становится более очевидной, если учесть, что огромное число канцерогенов действует неспецифически и в клетках отсутствуют рецепторы к ним. Установление трансформирующей роли факторов роста означает, что в клетке имеются специализированные, эволюционно выработанные механизмы «трансформации», или что «трансформация» не является чужеродным процессом.

Данный вывод, полученный в результате развития теории онкогена, означает, что в ходе развития теория пришла к отрицанию своего основания, т.е. теория сама себя разрушила.

Что же такое трансформация, которой, как показывают новые данные, не существует для отдельной клетки? Мы пришли к своеобразному нулю, поскольку трансформация клетки не является для нее чужеродной — для этого имеются специализированные механизмы. Парадокс указывает на необходимость принципиального изменения представления о механизме трансформации. Выход из тупика позволяет сделать тканевая теория, которая показывает, что клетки с активизированными онкогенами и злокачественными свойствами уже имеются в тканях — это стволовые, клоногенные клетки. Онкологическую опасность они представляют только при нарушении тканевого гомеостаза. Однако даже в опухолях не все раковые клетки являются трансформированными и клоногенными. Это означает, что дело не только в клоногенности раковых клеток, более важное значение имеет нарушение тканевого механизма регуляции пролиферации и дифференцировки.

Существует представление, что трансформация клетки обусловлена наличием дефекта в факторах роста или рецепторах. Поскольку факторы роста определяют трансформацию клетки при посредстве рецепторов, то либо факторы роста, либо рецепторы в чем-то дефектны. Тогда можно считать, что нормальные факто-



ры роста вызывают «фенотипическую» трансформацию, а дефектные определяют «истинную» трансформацию.

Однако эта точка зрения не подтверждается фактами. Так, обнаружена практически полная идентичность действия ЭФР и трансформирующего фактора роста типа  $\alpha$  (или типа I) — а-ТФР. Их биологическое действие практически одинаково; это позволило сделать вывод, что ТФР осуществляет биологическое действие через рецепторы ЭФР (Никольский и др., 1987). Синтез  $\alpha$ -ТФР увеличен как в трансформированных клетках, так и в эмбриональных нормальных клетках (Massaque, 1985).

Обсуждая этот вопрос, Г.Карпентер и С.Коэн (1987, с.117) пишут: «Трансформирующие факторы роста можно выделить как из нормальных, так и из злокачественных клеток или тканей; они способны индуцировать неконтролируемый рост клеток, до этого не трансформированных и подчиняющихся контактному торможению».

К такому же выводу приходят А.Д.Альштейн и Е.А.Черепанцева (1986, с.264). Они пишут: «Критического отношения заслуживает термин «трансформирующий фактор роста». Этот термин подразумевает деление ФР на трансформирующие и не трансформирующие. Для такого деления сегодня нет серьезных оснований. По-видимому, все ФР, образуемые трансформированными клетками, принципиально не отличаются от соответствующих факторов, выявленных в нормальных тканях... Имеются данные, что феномен аутокринной стимуляции характерен не только для клеток с выраженным трансформированным фенотипом».

Таким образом, гипотеза о том, что факторы роста, вызывающие истинную трансформацию, являются дефектными по сравнению с нормальными ФР, отпадает. Отсюда следует, что онкогены, которые их кодируют, также нормальны. Это положение коррелирует с ранее сделанным выводом о том, что трансформация не связана с мутациями онкогенов.

Вывод о подобии опухолевых и стволовых клеток при нарушении тканевого контроля подтверждается данными о гомологии между факторами роста трансформированных клеток, продуктами вирусных онкогенов и факторами роста нормальных клеток. Версия, что ФР несут какой-то дефект, поскольку являются продуктами мутировавших онкогенов, не подтвердилась. Ни ФР, ни рецепторы не несут какого-либо дефекта, который бы являлся причиной трансформации. Следовательно, теория онкогена опровергается с двух сторон. Во-первых, разрушается представление, что трансформация вызвана мутациями в 3—4 онкогенах; во-вторых, поскольку ФР способны вызывать истинную трансформацию, не будучи дефектными, то оказывается,

что в клетке имеется специализированный механизм для ее трансформации. Данный вывод разрушает представление о механизме трансформации, сформированное в теории онкогена и предыдущих концепциях рака. Еще один аспект состоит в том, что ФР не относятся к генотоксическим факторам, что усиливает критику теории онкогена и реабилитирует представление о канцерогенности повышенных доз гормонов.

### **б) Опровержение представления о дефектности рецепторов**

Остается вторая часть версии, согласно которой не ФР, а рецепторы опухолевых клеток являются патологически измененными, в связи с чем происходит искажение реакции на ФР. Чтобы разрушить эту версию, надо проанализировать и сопоставить данные по рецепторам в механизме гормонального рака. Выше мы рассмотрели данные о гормональном раке и трансформирующих факторах роста. Они имеют общее свойство: и те и другие не являются генотоксическими факторами. Поскольку в случае факторов роста доказана их трансформирующая способность, то отсюда был сделан вывод относительно гормонов. На основании установления общности между двумя группами фактов делается вывод о роли гормонов — выявленная закономерность переносится на вторую группу данных.

В случае установления возможной дефектности рецепторов делается обратный перенос выявленной закономерности от гормонального рака к механизму трансформации с участием ФР и рецепторов. При гормональном раке механизм трансформации не обусловлен какой-либо дефектностью молекул рецепторов. Это подтверждается возможностью излечения с помощью гормонотерапии. Этот же вывод подтверждается возможностью вызывать гормональный рак у здоровых животных путем экзогенного введения повышенных доз гормона на протяжении длительного времени. И в первом, и во втором случае рецепторы не несут какого-либо дефекта в молекуле. И соответственно снимается подозрение с онкогенов, которые кодируют рецепторы.

Как сам гормон, так и рецептор к нему не несут каких-либо дефектов, что говорит об отсутствии необходимости в генотоксическом факторе и необоснованности такого предположения для развития опухолеобразования. Понятно, что эти выводы принципиально разрушают основу теории онкогена, а именно представление о механизме трансформации. В ходе развития молекулярно-генетическая теория приходит к собственному отрицанию. Это свидетельствует об ошибках, заложенных в ее основании, т.е.

ошибочности постулируемого принципа трансформации. В новой теории, основанной на нарушении тканевой регуляции пролиферации, идея патологической активизации онкогенов сохраняется, но не как результат деструктивных повреждений онкогенов, а как выход из-под контроля в результате его нарушения клоногенных стволовых клеток, обладающих активизированными онкогенами и «злокачественным» фенотипом. Это означает, что блокировка дифференцировки определяет активизацию онкогенов и соответственно определяет злокачественный фенотип, однако она является обратимой — при индукции дифференцировки злокачественность клетки исчезает.

### **в) Роль ФР и рецепторов в механизме трансформации**

Какова же роль ФР и рецепторов в механизме опухолеобразования, если они, как показывают данные, непосредственно участвуют в механизме контроля пролиферации? В предыдущих главах была обоснована новая теория, согласно которой непосредственной причиной трансформации является нарушение тканевого гомеостаза в результате омоложения клеток при длительных повышенных режимах пролиферации.

Таким образом, если теория верна, то данные должны конкретизировать механизм нарушения тканевого контроля на молекулярном уровне, что подтвердит тканевую модель. Иначе говоря, дефект, который связывается с нарушением тканевого контроля, должен быть обнаружен на уровне факторов роста и рецепторов. Следовательно, с одной стороны, мы обосновали, что ФР и рецепторы не содержат никакого дефекта, как и онкогены, которые их кодируют, с другой стороны, мы все же утверждаем, что дефект должен быть обнаружен.

Уточнение состоит в том, что не само омоложение клетки приводит к опухолеобразованию, а количественное накопление недифференцированных клеток в ткани. Соответственно, речь идет не о повреждении молекул рецепторов или факторов роста, как предполагает теория онкогена, а о резком количественном искажении их у большой группы клеток и искажении соотношения между ФР и кейлонами.

Анализируя причину исчезновения рецепторов на поверхности мембран, я пришел к идее нового механизма, отличающегося от известного механизма *down regulation*. Известно, что клетки-мишени, подвергшиеся действию сигнального лиганда в течение длительного времени, часто теряют способность реагировать на этот лиганд. Такая адаптация, или десенсибилизация,

обратима и делает многие клетки особенно чувствительными не к абсолютной величине концентрации химического сигнала, а к изменению этой концентрации. Существует три гипотезы механизма десенсibilизации (Албертс, Брей и др., 1987). В одних случаях десенсibilизация происходит в результате уменьшения числа поверхностных рецепторов или же их инактивации; в других случаях это следствие изменения белков, участвующих в передаче сигнала после активации рецептора. Таким образом, связывание лиганда может приводить к эндоцитозу лиганд-рецепторных комплексов и их разрушению в лизосомах. Второй механизм связан с обратимой инактивацией рецептора путем конформационной модификации. Третий механизм связан с тем, что продолжительное связывание лиганда так изменяет рецептор, что он уже не может активизировать мембранный фермент или ионный канал, хотя продолжает сохранять сродство к лиганду.

Механизм уменьшения числа рецепторов с позиции тканевой концепции не похож ни на один из известных механизмов. Исчезновение рецепторов согласно этому механизму носит более стойкий, длительный характер. Механизм основан на существующей разнице в числе и составе рецепторов между дифференцированными клетками и недифференцированными (стволовыми и коммитированными). Это различие сохраняется во всех тканях, поскольку обновление связано с делением молодых клеток, не прошедших дифференцировку, как правило, за счет деления низкодифференцированных стволовых клеток. Следовательно, в тканях с ускоренной пролиферацией будет наблюдаться процесс омоложения клеток, в связи с чем число рецепторов на клеточной мембране будет уменьшаться вплоть до полного исчезновения некоторых рецепторов в результате эмбрионализации ткани, и, наоборот, будут появляться рецепторы, свойственные низкодифференцированным клеткам.

Так, используя различные способы, Wasilenko и соавт. (1987) убедительно доказали, что утрата клетками ЭФР-Р при трансформации v-src — не результат down regulation ЭФР-Р, так как образование ЭФР-подобных факторов полностью отсутствовало. Они заключили, что наличие у клеток ЭФР-Р не обязательно для трансформации, а их исчезновение — по-видимому, некий побочный эффект трансформации.

Динамика исчезновения рецепторов наглядно прослеживается на примере гормональных рецепторов в процессе опухолеобразования. Такая картина наблюдается как при вирусном канцерогенезе, так и при других видах опухолеобразования. Известно, что определенный процент опухолей теряет чувствительность к гормонотерапии. Этот эффект, с нашей точки зрения, непосредст-

венно зависит от наличия рецепторов на поверхности клеток и коррелирует со степенью дифференцировки. Так, приблизительно 40% РЭ<sup>+</sup>-опухолей оказываются резистентными к гормонотерапии. Это можно связать с тем, что в результате химиотерапии количество рецептотрицательных опухолей значительно увеличивается. Известно, что первичные и метастатические опухоли у одной и той же больной могут существенно различаться по соотношению в них эпителиальных и соединительнотканых элементов, по степени дифференцировки, в также по чувствительности к гормонотерапии (Кузьмина, 1987). Первые данные об обратной корреляции между содержанием РП и степенью дифференцировки опухолей получены F.May-Levin и соавт. (1977) (цит. по: Кузьмина, 1987).

R.Hanselman и C.Genton (1983) показали обратную зависимость между степенью злокачественности опухолей и содержанием в них РП. В рецепторном статусе дифференцированных раков I и II степени злокачественности обнаруживается тенденция к уменьшению концентрации РП и четкое снижение доли РП\* - опухолей, обусловленное уменьшением клеточной дифференцировки. Больные с опухолями III степени злокачественности по рецепторному статусу составляют особую группу, резко отличающуюся от первых двух, — в большинстве опухолей отсутствуют РП (Кузьмина, 1987).

Таким образом, в процессе эмбрионализации ткани уменьшается степень дифференцировки клеток, что отражается в снижении количества рецепторных белков. Это находит объяснение в том, что в процессе омоложения спектр синтезируемых белков резко уменьшается как в качественном, так и в количественном отношении. Следовательно, те факторы, которые усиливают пролиферативный режим ткани, будут вызывать омоложение и соответственно уменьшение числа рецепторов на поверхности клеток.

Наличие в тканях полярности между дифференцированными и недифференцированными клетками является условием функционирования обратной связи, удерживающей деление стволовых клеток под контролем. Нарушение этой поляризации в процессе омоложения ткани приводит к автономности пролиферации, снижению адгезии клеток этого участка ткани, т.е. неконтролируемому росту клоногенных клеток. На молекулярном уровне механизм нарушения обратной связи выражается в снижении количества рецепторов на поверхности клеток и нарушении пропорции между концентрацией факторов роста и (ингибирующих митоз) кейлонов, что приводит к хронической стимуляции пролиферации. Увеличение доли стволовых клеток<sup>^</sup>, обладающих аутокрин-

ной стимуляцией митоза, приводит к автономизации митотической активности.

Мы привели некоторые данные относительно рецепторов к стероидным гормонам, такая же картина наблюдается в случае рецепторов к эпидермальному фактору роста (ЭФР). По данным Gallo-Payet и Hugon (1985), наибольшее количество рецепторов имеют энтероциты из глубоких слоев крипт (в 2—3 раза больше, чем энтероциты поверхностных отделов крипт и ворсинок). И наоборот, для рецепторов инсулина наблюдается иной характер распределения: наибольшее их количество имеют зрелые энтероциты крипт и ворсинок. Эти особенности в распределении рецепторов между зрелыми дифференцированными и незрелыми клетками объясняются тем, что наличие рецепторов к ЭФР определяет способность к делению, однако в процессе дифференцировки клетки теряют эту способность, что обусловлено исчезновением рецепторов к ЭФР. Для рецепторов инсулина картина другая, наличие рецепторов в зрелых клетках определяет возможность регуляции поступления глюкозы, служащей основным источником энергии в клетках организма. Рецепторы выполняют функцию приемной антенны и передающего устройства, с помощью которых можно управлять клеткой путем экзогенных сигналов. Эти данные позволяют сделать предположение, имеющее клиническое значение: принцип гормонотерапии можно использовать не только для гормональных опухолей, но и для других опухолей, разница в конкретном экзогенном сигнале, на который реагирует клетка, ее рецептор. Это означает, что лечить рак можно не только путем уничтожения раковых клеток по принципу «золотой пули» — этот принцип не абсолютен, а для ряда опухолей ошибочен.

Абсолютным принципом является нормализация раковых клеток путем их дифференцировки и исправление нарушений регуляции гомеостаза как на уровне ткани, так и на уровне организма путем нивелировки источника повышенной пролиферации, т.е. исправления дисбаланса, создающего напряжение, повышенную пролиферацию в ткани. Речь идет о принципе, который нейтрализует источник повышенной пролиферации либо компенсирует его действие на уровне тканевого гомеостаза. К настоящему времени накоплено много данных, свидетельствующих об эффективности нового направления в клинике опухолей. Сюда относятся все виды гормонотерапии, методы, использующие стимуляцию дифференцировки клеток, введение дополнительных доз кейлона, лечение дисбалансов на уровне организма. Однако развитие этого направления потребует всестороннего изучения механизма контроля тканевого гомеостаза. И конечно, в первую очередь речь идет о тех видах опухолей, где традиционные методы лече-

ния неэффективны либо сопряжены с большими повреждениями организма.

Имеющиеся данные относительно распределения рецепторов между дифференцированными и недифференцированными клетками свидетельствуют в пользу новой концепции. Согласно Nanney et al. (1984), в верхних слоях кератиноцитов рецепторы ЭФР выявляются автордиографией меньше, чем в нижних. Аналогичный характер распределения ЭФР-рецепторов выявлен и для уротелия, где ЭФР-Р обнаруживается на клетках базальных слоев и отсутствует в поверхностных слоях клеток (Messing, Reznikoff, 1987).

Приведенные данные коррелируют с результатами, полученными при исследовании молекулярных основ процесса метастазирования. Изучая молекулярные особенности метастатических свойств клеток, Фельдман М. и Эйзенбах Л. (1989) выявили, что степень метастазирования зависит от активности онкогена *fms*, который кодирует на поверхности клеток рецептор фактора роста, что определяет высокие пролиферативные свойства таких клеток, причем у дифференцированных клеток он исчезает.

## **7. Двустадийный характер опухолеобразования**

Тканевая теория опухолеобразования также предполагает двустадийность механизма трансформации, но это иные по своей природе и механизму стадии, нежели в молекулярно-генетической теории. Первая фаза опухолеобразования связана с инициацией пролиферации — внешним для ткани источником пролиферации, эндогенным или экзогенным. Устранение причины повышенной пролиферации в этой стадии приводит к нормализации ткани и регрессии опухоли.

Если процесс опухолеобразования доходит до второй фазы, то нарушается тканевый гомеостаз, а процесс опухолеобразования приобретает спонтанность развития на собственной основе. Различие в характере инициации пролиферации имеет клиническое значение, поскольку в первой фазе процесс опухолеобразования сохраняет способность к обратимости. С другой стороны, лечение может быть неэффективным, если не учесть, что в ряде случаев опухолевая ткань находится под воздействием стимулирующего пролиферацию фактора, который может проявиться после окончания лечения, что лежит в основе механизма вторичного рака. Наиболее рельефно эти закономерности обнаруживаются в динамике гормональных опухолей, когда гормональный профиль определяет динамику развития опухолеобразования. В ряде

случаев опухоль проявляет колебания — то появляется, то вновь исчезает, регрессирует.

Определение понятия «биологического эквивалента» канцерогенного воздействия, в качестве которого выступает повышенная длительная пролиферация, вызывающая омоложение, позволяет по-новому подойти к проблеме эндогенного канцерогена. В качестве эндогенного канцерогена выступают факторы, влияющие на митотическую активность, способные инициировать повышенную хроническую пролиферацию.

## **8. Проллиферативный режим как фактор канцерогенеза**

В теории онкогена под канцерогеном понимается фактор генотоксического действия. Трансформация представляется в виде деструктивного механизма: согласно этому представлению, канцероген должен попасть в клетку и произвести необратимые изменения в ДНК. Такое представление имеет много слабых, уязвимых сторон: оно не объясняет динамики опухолеобразования, временные параметры развития опухолей, природу и различие доброкачественных и злокачественных опухолей, опухолевую регрессию. Так, например, ряд авторов связывают регрессию опухоли не с действием иммунитета, а с нормализацией опухолевых клеток в результате дифференцировки (Швембергер, 1987).

В истории онкологии известны ряд концепций, которые основывались на инициации повышенной пролиферации в результате хронического травмирования ткани. Наибольшую известность получила «концепция раздражения» Вирхова, которая связывала появление опухолей с воспалительной гиперплазией на фоне хронического повреждения тканей. В ходе развития этого направления менялся предполагаемый раздражитель, но не идея о патогенезе рака. Вскоре после открытия вирусов было высказано предположение (Bosk, 1903; Voggel, 1909), что опухолевая пролиферация возникает вследствие неспецифического повреждения клеток вирусами. Отметим, что к этой идее, но на более широкой основе мы придем в ходе анализа механизма вирусного канцерогенеза с позиции тканевой теории, в рамках которой эта идея получила обоснование.

Уже в доэкспериментальный период было обращено внимание на длительный период развития опухолеобразования. Если проанализировать факты, то часть из них подтверждает возможность вызвать рак неспецифическим раздражителем. Другие же данные давали отрицательные результаты. Таким образом, разделение



онкологов на тех, кто согласен с неспецифическим характером опухолеобразования, и тех, кто против этой идеи, возникло вполне объективно. Решение этого противоречия раскрывает концепция канцерогенного профиля. Тканевый подход к канцерогенным факторам рационализирует представление о канцерогенах различной природы. Канцерогенные воздействия объединяются, включаются в понятие «канцерогенного профиля», которое характеризует динамику воздействия в виде измененного пролиферативного режима: интенсивности, доз канцерогена, длительность воздействия и промежутков между воздействием на ткань. Таким образом, независимо от того, специфичен канцероген или нет, для индуцирования опухоли он должен вызывать определенный уровень повышенной пролиферации и омоложения ткани, Идею нарушения онкогенов заменяет идея разрушения тканевого гомеостаза за счет высокого пролиферативного режима. Это означает, что канцерогенность фактора определяется промоторным эффектом канцерогенного воздействия, а не генотоксическим.

Способность длительное время сохранять устойчивость при различных патогенных воздействиях является основным свойством гомеостатических систем. Устойчивость тканевого гомеостаза обусловлена механизмом саморегуляции на основе принципа обратной связи. Подход к механизму рака с позиции нарушения тканевого гомеостаза позволяет объяснить, почему различные по природе канцерогены вызывают общий результат. Учитывая канцерогенный профиль, который должен воспроизводить параметры тканевого гомеостаза, становится ясно, почему при применении слабого канцерогена не удастся вызвать рак либо это требует больших усилий. Например, кротоновое масло вначале причисляли к промоторам, однако в дальнейшем было показано, что длительное применение кротонного масла вызывает опухолеобразование.

В рамках тканевого подхода удастся объяснить механизм рака, вызванного имплантацией сплошной пластинки в ткань. Объясняется это тем, что в результате длительного травмирования возникает хронический очаг пролиферации и омоложения ткани, что, согласно тканевой модели, приводит к нарушению тканевого контроля и развитию опухолеобразования.

Для трансформации необходимы два условия: длительная хроническая пролиферация, вызывающая эмбрионализацию клеток, и нарушение тканевого контроля, поскольку он удерживает под контролем деление клоногенных клеток в ткани. Если учесть, что в ткани имеются клоногенные низкодифференцированные клетки с активизированными онкогенами, число которых возрастает в предраке, становится понятным определяющее значение нарушения тканевой регуляции.

## 9. Злокачественность — норма или патология клетки?

Если учитывать, что злокачественность определяется клоногенностью клетки, которая в норме контролируется в ткани на уровне тканевого гомеостаза, то потенциал злокачественности будет определяться потенциалом клоногенности. Максимальная клоногенность наблюдается у стволовых клеток, однако реализация этого потенциала может осуществиться при нарушении тканевого контроля. Отсюда следует, что злокачественность — это обратная сторона нормальных характеристик стволовых клеток: клоногенности, иммортализации, автономности деления (аутокринной стимуляции митоза) и наличия активизированных онкогенов. Что могут добавить предполагаемые мутации 3—4 онкогенов к перечисленным свойствам?

С позиции теории онкогена возникает противоречие, поскольку перечисленные свойства, определяемые как злокачественные, должны появиться в результате последовательных 3—4 мутаций в онкогенах и закрепления их в процессе промоции, однако этими свойствами обладают изначально стволовые клетки, но не в результате мутаций.

Очевидно, что злокачественность стволовой клетки как потенциальная возможность трансформации присуща каждой низкодифференцированной клетке какое-то время, пока она не вступила на путь дифференцировки и не потеряла клоногенные свойства. Каждая стволовая клетка, образно говоря, в раннем возрасте переживает состояние потенциальной «преступности», в плане возможности превратиться в раковую при создании необходимых условий: изоляции, пересадки либо нарушения тканевого гомеостаза. Данные выводы имеют экспериментальное обоснование — имеются данные, демонстрирующие злокачественность стволовых клеток при их пересадке в другой организм (Уоддингтон, 1947; Speman, 1942; Дыбан, 1988). С нашей точки зрения, к этой группе данных можно отнести также данные по спонтанной малигнизации *in vitro*.

В перечисленных случаях трансформация происходит при нарушении тканевого гомеостаза, без канцерогенного воздействия. В этих экспериментах отсутствует генотоксический фактор. Поскольку при отсутствии фактора генетических повреждений трансформация все же происходит, то единственной причиной канцерогенеза выступает нарушение тканевого контроля. Таким образом, если использовать принцип исключения при поиске подозреваемого фактора, то становится понятным, кто истинный виновник злокачественной трансформации. Что касается предполагаемой неполноценности генома опухолевых клеток, то этот ар-

гумент можно снять, если учесть, что в многочисленных экспериментах по пересадке ядер опухолевых клеток в предварительно энуклеированные зародышевые клетки из них развивались полноценные организмы.

## **10. Критика клонально-селекционной концепции рака**

Существует распространенное представление, что опухолевая прогрессия является процессом селекционного отбора клеток, напоминающим образование видов в эволюции, т.е. за счет мутаций создаются различные виды раковых клеток, которые продуцируют различные друг от друга клоны. Последние путем селекционного отбора создают новую породу клеток, резко отличающихся от обычных, в том числе стволовых. Представление о новой породе клеток развивалось еще Н.Н.Петровым. Эта модель удобна для объяснения, поскольку покоится на фундаменте эволюционной теории. В качестве подтверждения приводят такой довод, что клоны в опухоли различаются степенью злокачественности (Бахтин и др., 1987).

Имеются, однако, данные, позволяющие опровергнуть основную идею клонально-селекционной концепции. Дело в том, что появление клонов с различной степенью злокачественности предполагается как конечный результат длительного процесса канцерогенеза, что сопряжено с мутациями.

Например, для экспериментального рака необходимо 7—11 месяцев, в течение которых должны появиться новые виды трансформированных клеток, однако фактически клоны, обладающие различной степенью злокачественности, уже имеются изначально, т.е. предшествуют мутационному процессу. Существуют многочисленные данные, подтверждающие злокачественность нормальных стволовых клеток без канцерогенного воздействия. Как, учитывая эти факты, объяснить увеличение степени злокачественности в процессе опухолевой прогрессии? В силу того, что канцерогены индуцируют хроническую пролиферацию, вызывающую прогрессирующую эмбрионализацию ткани, очевидно, что степень клоногенности будет зависеть от снижения дифференцированности клона, т.е. злокачественность клеток будет увеличиваться в процессе опухолевой прогрессии. Однако выход из-под контроля определяется на уровне тканевой системы контроля. Истинно стволовых клеток в нормальной ткани содержится немного, и именно они обладают максимальной злокачественностью, при этом имеет значение степень дифференцировки клона, а не отдельной клетки. Можно поставить такой вопрос: каковы

условия, при которых стволовые клетки переходят к неконтролируемому размножению без дифференцировки? Очевидно, что такие условия создаются в ходе опухолевой прогрессии в силу того, что увеличение степени омоложения ведет к увеличению ФР и снижению концентрации кейлонов, контролирующих деление стволовых клеток. Об этом, в частности, свидетельствуют данные по снижению концентрации кейлонов в тканях при регенерации и опухолеобразовании. С другой стороны, имеются данные, свидетельствующие об увеличении в опухоли активности факторов роста. Следовательно, сдвиг соотношения между кейлонами ФР приобретает устойчивый прогрессирующий характер в ходе эмбрионализации ткани.

Тканевая модель является альтернативой мутационной концепции и теории онкогена, она решает трудности и проблемы, в которых увязла мутационная концепция и базирующаяся на ней теория онкогена. В частности, необъяснимой с позиции теории онкогена оказалась проблема обратимости трансформированного состояния клеток. Механизм мутационных изменений онкогенов предполагает наследственно закрепленные необратимые изменения. В противоположность этому явление обратимости трансформации следует из тканевой модели, поскольку она не основана на генетических нарушениях. Вместе с тем в тканевой модели преодолевается представление, что сама дедифференцировка клетки и является процессом трансформации. Это необходимое условие, но не достаточное, поскольку речь идет о разрушении тканевой системы контроля пролиферации.

# МЕХАНИЗМ НАРУШЕНИЯ ТКАНЕВОГО ГОМЕОСТАЗА

### 1. Структура и динамика в нарушении тканевого гомеостаза

Мы подошли к проблеме механизма нарушения тканевого гомеостаза. Общей реакцией на канцерогены является интенсивная компенсаторная пролиферация, вызывающая омоложение ткани. Процесс омоложения неспецифичен и сопровождается также различные регенерационные процессы. При таком режиме пролиферации клетки, появившиеся в результате деления стволовых клеток, не успевают пройти дифференцировку, поэтому ускоренная пролиферация приводит к обратимой блокаде дифференциации и ее результату — эмбрионализации ткани за счет репопуляции, т.е. замещению зрелых клеток низкодифференцированными.

В структуре обновляющейся ткани можно выделить три основных пула клеток: стволовые, коммитированные, дифференцированные. Численность состава каждого пула регулируется за счет прямых и обратных связей. Механизм тканевой регуляции митотической активности, обуславливающей воспроизводство ткани, связан с системой кейлонов и факторов роста, а также регуляцией дифференцировки.

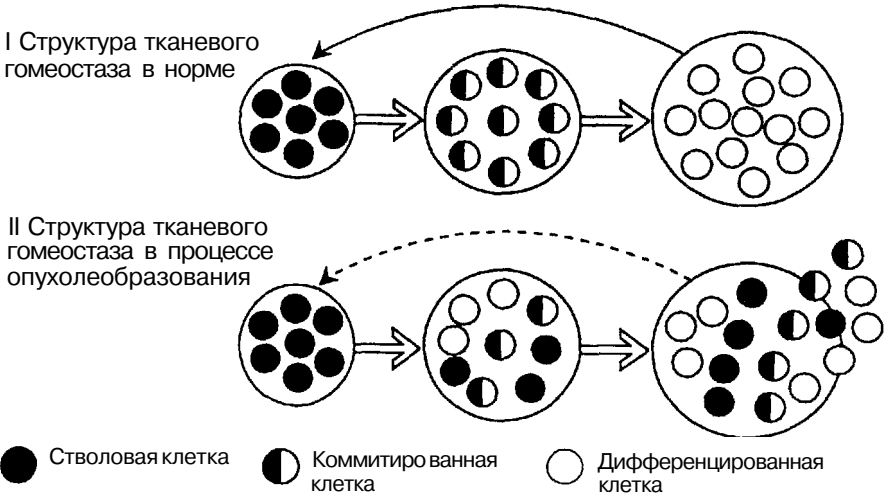
Согласно концепции тканевых ингибиторов-кейлонов (Bullough, 1975), малодифференцированные клетки способны непрерывно размножаться, но процесс сдерживается ингибиторами, выделяемыми дифференцированными клетками. Убыль количества дифференцированных клеток ведет к снижению концентрации ингибиторов, следовательно, к увеличению клеточных делений. Ускорение же клеточных делений приводит к омоложению клеточного состава, появляется слишком много

стволовых клеток. Детерминирующий механизм дифференцировки связан с выбором пути после деления стволовой клетки. Например, в коже на глубине каждой пролиферативной единицы (дифферона) лежит стволовая клетка, которая порождает все клетки этой единицы. Линия потомков ее не прерывается, в этом смысле она является бессмертной. Когда стволовая клетка делится, одна из дочерних становится бессмертной, а другая дифференцируется и в конце своего пути отмирает. После каких-то шагов дифференцировки клетка уже не может вернуться к первоначальному состоянию.

Если бы деление стволовой клетки было всегда асимметричным, то число стволовых клеток не увеличивалось бы. Но в процессе повреждения эпидермиса образуются новые пролиферативные единицы (Албертс и соавт., 1987).

Элементарную единицу тканевого воспроизводства называют диффероном. В процессе опухолеобразования происходит постепенный сдвиг в сторону увеличения числа дифферонов и искажения структуры дифферона, т.е. искажается соотношение между дифференцированными и недифференцированными клетками. Увеличение количества дифферонов и искажение структуры дифферона — это два направления, по которым идет развитие опухолеобразования. При этом возможны различные сочетания преобладания той или иной тенденции. Доброкачественная опухоль отличается от злокачественной преобладанием первого направления, т.е. увеличением количества дифферонов без существенного искажения тканевой структуры. Злокачественная опухоль характеризуется преобладанием второго пути развития — искажением структуры дифферона, что определяет потерю контроля над стволовыми клетками и соответственно инвазивный рост и метастазирование.

Таким образом, трансформация совершается в результате нарушения механизма тканевой регуляции пролиферации, что обусловлено сдвигом равновесия между стволовыми и дифференцированными клетками. Эти типы клеток (клоногенные и дифференцированные) составляют два полярных полюса тканевого гомеостаза, замкнутые друг на друга контуром обратной связи. Если увеличивается количество пролиферирующих стволовых клеток, но процесс дифференцировки не нарушен, то увеличивается масса клеток без искажения тканевой структуры. Такое состояние характеризует доброкачественную опухоль. При искажении структуры тканевого гомеостаза, соответственно структуры дифферона, происходит потеря контроля над клоногенными клетками. Схематично принцип трансформации, т.е. нарушения тканевого гомеостаза и нарушения контроля пролиферации, можно изобразить так:



Данная схема иллюстрирует искажение процесса воспроизводства, репопуляции, при повышенной хронической пролиферации, в результате которого происходит замещение дифференцированных клеток на клоногенные низкодифференцированные. Таким образом, процесс прогрессирующей эмбрионализации в результате интенсивных канцерогенных либо митогенных нагрузок на ткань, вызывающих повышенную хроническую пролиферацию, приводит к потере устойчивости системы тканевого гомеостаза. Неспособность выдерживать длительные интенсивные воздействия и является ахиллесовой пятой тканевого гомеостаза. Таким образом, несмотря на большую устойчивость, которая основана на воспроизводстве тканевой системы, существуют предельные по времени и интенсивности канцерогенные нагрузки, при которых нарушается воспроизводство системы гомеостаза, что приводит к неконтролируемому опухолевому росту.

Тканевый гомеостаз характеризуется устойчивостью, основанной на воспроизводимом динамическом равновесии, т.е. структурно-функциональная стабильность системы зависит от воспроизводства качественного и количественного состава ткани. Отсюда непосредственно следует, что можно подобрать такой режим пролиферации, при котором структура гомеостаза теряет устойчивость в результате нарушения воспроизводства, т.е. начинает, образно говоря, «течь», или «плавиться». Этот подход и принцип позволяет однозначно конкретизировать причину и механизм канцерогенеза.

Механизм общего знаменателя, в качестве которого выступает тканевый гомеостаз, его пролиферативная реакция, переводит разнообразие канцерогенных факторов на «единый язык» транс-

формирующего фактора эмбрионализации, разрушающей гомеостаз. Поэтому общим вторичным канцерогенным фактором является динамический параметр воздействия и реакции на него — режим пролиферации, что определяет канцерогенный профиль.

Канцерогенность того или иного фактора проявляется в способности инициировать повышенный режим пролиферации и прогрессирующую эмбрионализацию, при которой нарушается воспроизводство гомеостаза. Таким образом, нарушение воспроизводства тканевого гомеостаза лежит в основе неконтролируемой пролиферации.

Будет ли опухоль прогрессировать до злокачественной стадии, стабилизируется или регрессирует — зависит от динамики пролиферации. В рамках тканевой модели удастся объяснить, почему не все опухоли, а лишь часть из них прогрессирует до злокачественной формы, а предраковые состояния не всегда переходят к опухолеобразованию. Эта закономерность определяется способностью гомеостатических систем выдерживать большие нагрузки без потери устойчивости, а при прекращении патогенного воздействия восстанавливаться. В пользу такого представления говорит существование наряду со злокачественными опухолями доброкачественных опухолей. Если канцероген слабый, то для инициации опухолеобразования необходим очень длительный период воздействия. Различное возможное сочетание силы канцерогена и времени воздействия дает различную картину опухолеобразования, что обусловлено тем или иным режимом пролиферации.

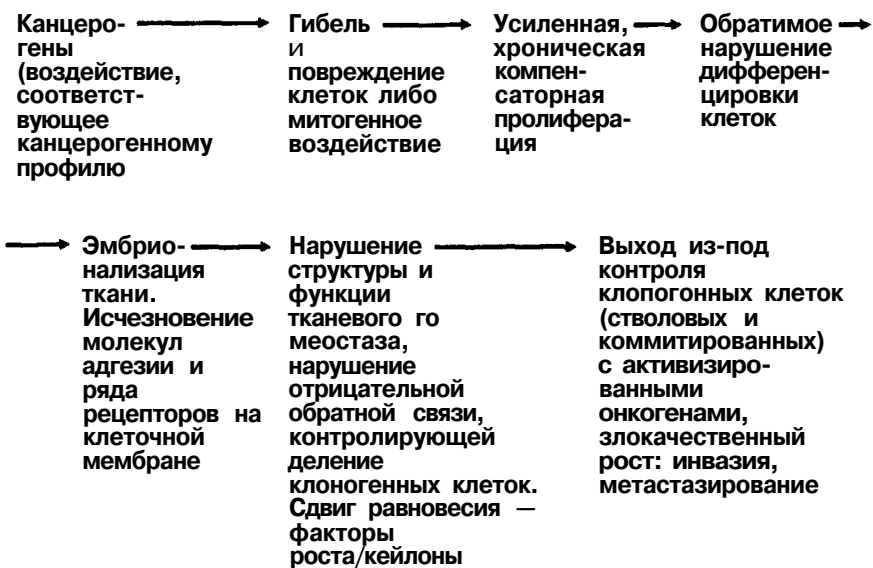
Воздействие канцерогена может быть сильным и коротким, длительным и слабым, сильным и постоянным, что определяет канцерогенный профиль. Концепция канцерогенного профиля рационально объясняет, почему не всегда удается вызвать рак в эксперименте, что вышло в свое время причиной критики идеи неспецифического воздействия как канцерогенного фактора. Суть концепции канцерогенного профиля состоит в том, что между параметрами канцерогенного профиля и параметрами устойчивости тканевого гомеостаза должна существовать корреляция, т.е. профиль воздействия должен соответствовать свойствам гомеостаза либо превосходить его.

Тканевую модель можно представить наглядно в виде модели шара с двумя оболочками, внутри которого находится ядро, обладающее большим запасом энергии пролиферации, удерживаемое этими двумя оболочками. Энергия ядра соответствует тому огромному пролиферативному потенциалу, которым обладают стволовые клетки. Вся система, поддерживающая стабильность, находится в равновесии при условии постоянного нормального воспроизводства каждого слоя ядра. Прочность или устойчивость двух оболочек, которые соответствуют пулу коммитированных и дифференцированных клеток, определяется правильной структурой (пропорциональным соотношением) всех составляющих элементов системы.



При нарушении воспроизводства ткани в каком-то локальном месте, а это происходит при канцерогенном воздействии, силы ядра перестают уравниваться, в результате происходит своеобразный медленный взрыв, «осколки» которого, образно говоря, разлетаются в виде метастазов по всему телу. Это образное представление тканевой модели рака акцентирует внимание на основных моментах теории опухолеобразования — механизме удержания контроля пролиферации в тканевой системе и условиях, при которых происходит потеря устойчивости саморегулирующейся системы. Тканевую теорию можно также назвать динамической моделью канцерогенеза, поскольку в качестве канцерогенного фактора выступает режим пролиферации и разрушение, перерождение тканевой структуры.

Общую схему процесса канцерогенеза, развивающегося согласно тканевой модели, можно представить в виде такой логической последовательности событий:



## 2. Клиническая картина опухолеобразования с позиции тканевой теории

Каковы возможности тканевой теории в плане объяснения клинической картины опухолеобразования?

Тканевая модель выгодно отличается от молекулярно-генетической теории тем, что она обходит ряд трудностей, в которых увязла теория онкогена. Предметом ее анализа является разрушение тканевого гомеостаза, поэтому тканевые изменения, характеризующие состояние предрака, попадают в поле ее внимания в качестве центральных проблем, поскольку в период предрака происходит искажение и разрушение тканевой структуры гомеостаза, контролирующего пролиферацию клоногенных клеток.

В рамках такого подхода удается рационально объяснить отличие доброкачественных опухолей от злокачественных. Прогрессия опухолеобразования в первой фазе, когда процесс определяется внешним источником стимуляции пролиферации, зависит от канцерогенного профиля, уровня которого может не хватать, т.е. он может быть ниже того, при котором процесс опухолеобразования доходит до злокачественного состояния. Темп, динамика развития опухолевой прогрессии является, как показывают данные, отображением канцерогенного профиля. С точки зрения структуры ткани, согласно клиническим наблюдениям, для доброкачественных опухолей характерна структура клеточных популяций, приближающаяся к нормальному состоянию, и наоборот — злокачественные опухоли характеризуются полной деградацией тканевой структуры, соответственно меняется соотношение «факторы роста/кейлоны». Следовательно, клиническая картина подтверждает тканевую теорию, обнаруживается хорошая согласованность. Тканевый гомеостаз как система динамического равновесия, удерживающая баланс между полюсами дифференцированных и клоногенных низкодифференцированных клеток, обладает свойством выдерживать большие нагрузки, поэтому для опухолеобразования характерны промежуточные стабильные переходные формы между доброкачественным состоянием и злокачественным. С этой точки зрения доброкачественные и злокачественные опухоли — это не разные виды или формы опухолей, а разные стадии, фазы развития, общей опухолевой прогрессии. Такая точка зрения известна в литературе, но она была получена как эмпирический вывод, основанный на фактах, но ни одна теория не могла этого подтвердить. В рамках тканевой модели она впервые получает теоретическое обоснование и описание механизма развития доброкачественных и злокачественных опухолей.

Большинство современных исследователей стоят на классических позициях, что «рак никогда не возникает в здоровом органе». Как утверждал Л.М.Шабад, «всякий рак имеет свой предрак».

Клиническое значение предраковых состояний, которые могут быть выявлены и вылечены, не требует доказательств. Признавая наличие предраковых состояний, необходимо учитывать трудности в оценке степени риска. Не существует признаков опухолеобразования, которые, будучи оценены изолированно, могут быть истолко-

ваны как безусловно указывающие на повышенный риск развития рака. Например, такие изменения слизистой оболочки и паренхимы, как метаплазия, гиперплазия и атрофия, легко распознаются и в определенной ситуации сочетаются с риском развития рака. Однако даже в тех случаях, когда эти изменения происходят в определенной клинической ситуации, риск развития рака, по мнению ряда ученых, может быть выражен лишь в общих чертах (Carter, 1984). Некоторые морфологические изменения остаются на уровне атипии многие годы, другие могут регрессировать. Многие авторы в состав предраковых поражений включают доброкачественные опухоли. Последние часто представляют явную, определяемую стадию эволюции злокачественного новообразования.

Установлено, что предраковые заболевания могут длительно существовать, не подвергаясь озлокачествлению, или до их малигнизации проходит значительный промежуток времени; одни предраковые заболевания озлокачествляются с большим постоянством, другие — довольно редко. При анализе предраковых заболеваний гортани было выявлено, что с высокой степенью озлокачествляются лейкоплакия и лейкокератоз (Ольшанский, 1988). При микроскопическом исследовании лейкоплакии представляет собой неравномерное утолщение покровного многослойного эпителия с ороговением различной степени.

Наблюдения показали, что развитию рака на фоне лейкоплакии предшествуют изменения в покровном эпителии в виде пролиферации и атипии базальных клеток. Развитие рака на фоне лейкоплакии может идти двумя путями: либо через стадию внутриэпителиального рака, либо непосредственно путем инвазии базальных клеток, находящихся в состоянии пролиферации и атипии. При гистологическом исследовании лейкоплакии обнаруживается кератоз, гиперплазия и дисплазия различной степени тяжести.

Морфологическая картина пахидермии характеризуется значительной пролиферацией покровного эпителия, которая выражается в увеличении числа слоев клеток. Поверхность эпителия неровная, образует складки и сосочки, покрытые роговым слоем.

Морфологическое исследование часто рецидивирующих папиллом обнаруживает усиление процесса пролиферации эпителия, сопровождающееся появлением глубоких акантогических тяжей. Увеличивается число слоев базальных клеток, отмечается нечеткость межклеточных границ. Ядра клеток во всех слоях эпителия становятся более гиперхромными, видны частые митозы, особенно в базальном слое.

Несмотря на небольшие отличия предраковых состояний в различных органах и тканях, общая картина опухолеобразования типична и закономерна. Общей закономерностью является наличие некоторого предсуществующего состояния патологии, определен-

ного фона, который создает повышенный уровень пролиферации в ткани. Вторым моментом является уровень инициирования пролиферации и соответственно омоложения ткани. Например, риск развития рака толстой кишки повышен у больных с длительно текущим язвенным колитом. Накопленные клинические данные указывают, что рак развивается в предсуществующих аденоматозных полипах. Независимо от размера и локализации аденомы, главным признаком является изменение клеточной кинетики в виде утраты строгого порядка деления и созревания клеток в основании крипты и миграции клеток к поверхности, где они слущиваются в просвет после завершения полного жизненного цикла. При аденоматозном характере пролиферации клетки сохраняют способность к делению, утрачивая частично или полностью способность дифференцироваться и созревать. Митотическая активность отмечается во всех участках железистых структур как следствие нарушения клеточной кинетики (Whitehead, Cosgrove, 1979). Клетки-предшественники, находящиеся в основании измененной крипты, сохраняют способность дифференцироваться и имеют тенденцию к созреванию в бокаловидные или адсорбирующие клетки, но всегда имеют степень отклонения от нормы, обладают признаками, характерными для дисплазии. Так, отмечается увеличение ядра, гипохроматоз, полиморфизм, «палисадное» расположение и увеличение митотической активности наряду с изменением цитоплазмы. При исследовании аденоматозных полипов обнаруживаются отклонения, подобные наблюдаемым в клетках опухолей; могут быть изменены число и конфигурация хромосом, и в результате дерепрессии генов и эмбрионализации клетки могут приобретать способность синтезировать карциноэмбриональный антиген или гормоны (Isseson, Le Vann, 1976; Skinner, Whitehead, 1981).

Одновременно было показано, что между полипами и раком толстой кишки отмечается выраженное сходство в связи с тем, что они содержат следующие антигены: карциоэмбриональный, хорионический, лактосоматотропный гормон (плацентарный лактоген),  $\alpha$ -фетопротеин, специфический для толстой кишки антиген, специфический для беременности  $\beta$ -липопротеин I,  $\beta$ -хорионический гонадотропин, плацентарную щелочную фосфатазу, изоферритин и трансферрин,

Deschner и Lipkin (1975), например, показали, что в предраке нормальные клетки вблизи или на поверхности кишечной крипты накапливают  $^3\text{H}$ -тимидин, что свидетельствует о недостаточности контролирующих механизмов, которые в норме строго обеспечивают деление клеток только в нижней части крипты. В нормальном эпителии фибробласты размножаются на том же уровне крипты, что и эпителиальные клетки. Как и эпителиальные клетки, фибробласты утрачивают способность делиться по достижении поверхно-

сти слизистой оболочки. В аденоматозных полипах, однако, фибробласты вблизи поверхности напоминают измененные эпителиальные клетки, так как сохраняют способность делиться и накапливать тимидин. В обычных гистологических препаратах эти изменения проявляются истончением субэпителиальной коллагеновой пластинки на поверхности полипа, обусловленным уменьшением синтеза коллагена незрелыми клетками. Таким образом, клиническая картина опухолеобразования подтверждает, иллюстрирует основные положения тканевой теории, обнаруживается полная стыковка теории и клинических данных, которые получают обоснование.

### **3. Теория гормонального рака**

Несмотря на быстрое развитие молекулярно-генетической теории, выяснить механизм гормонального рака в рамках существующей модели так и не удалось. Само явление гормонального рака представляет определенный парадокс для теории онкогена, поскольку она предполагает механизм трансформации за счет генотоксического действия канцерогенов, а гормоны негенотоксичны и осуществляют нормальные регуляторные функции в организме. Почему же изменение режима введения гормона и дозировки превращает неканцерогенные гормоны в канцерогены?

Хорошо известно, что введение избыточного количества гормонов длительного времени вызывает рак. Например, эстрогены вызывают рак в органах репродуктивной системы, пролактин — в молочных железах, тиреотропин — в щитовидной железе. По мнению большинства ученых, общим свойством канцерогенного действия гормонов является способность стимулировать деление клеток, но значение этого факта оценивается по-разному и остается неизвестным механизмом. Многие авторы считают, что увеличение пула молодых делящихся клеток повышает вероятность мутаций, приводящих к трансформации. С этой точкой зрения можно не согласиться на основании несостоятельности мутационной концепции, которая давно критикуется с разных сторон, однако сохраняется, поскольку ничего другого в качестве объяснения не было предложено.

Механизм гормонального рака условно делится на две части, или структуры. Первая часть касается механизмов нейрогормональной регуляции на уровне организма, нарушение которых в конечном счете приводит к избыточной хронической пролиферации и гормонозависимой ткани. Эта часть в настоящее время изучена достаточно полно. Тайна гормонального рака, которая не раскрыта в теории онкогена, связана со второй подструктурой, т.е. событиями, которые следуют за изменением пролиферативного режима ткани и объясняют онкологический смысл гормо-

нальной стимуляции пролиферации. Построить теорию гормонального рака с учетом всех современных достижений молекулярной онкологии означает выявить универсальный механизм трансформации, который бы на основе единого принципа объяснял как механизм трансформации в результате гормональных нарушений, так и механизм негормональных опухолей.

Какова логика или принцип нарушения гормональной регуляции, вызывающего эффект компенсаторной хронической пролиферации гормонозависимой ткани? Поддержание постоянства внутренней среды в организме осуществляется механизмом отрицательной обратной связи. Для осуществления интеграции действия гормонов служит такой регулятор, как гипофиз, который контролирует активность группы эндокринных желез. Однако гипофиз воспринимает сигналы преимущественно гормонального характера. Вся информация, поступающая через вегетативную нервную систему, не улавливается гипофизом. На уровне гипофиза не могут происходить и контролироваться регуляторные изменения, нужные для осуществления поведенческих реакций. Эти функции осуществляются в гипоталамусе, в котором происходит координация вегетативной и эндокринной деятельности.

Механизм отрицательной обратной связи проявляется в регуляции интегральной нейроэндокринной системы. Увеличение концентрации гормона на периферии приводит к соответствующему уменьшению секреции тропного гормона гипофиза. Например, увеличение тироксина ведет к снижению активности щитовидной железы и восстановлению в крови уровня тиреоидных гормонов. И наоборот, расходование тиреоидных гормонов на периферии уменьшает торможение секреции тиреотропина, что повышает его концентрацию в крови, увеличивает стимуляцию щитовидной железы, и тем самым равновесие восстанавливается.

Такие взаимоотношения осуществляются и на уровне гипофиза, и на более высоком уровне — гипоталамуса, вырабатывающего специфические для гипофизарных клеток рилизинг-факторы/либерины, т.е. стимулирующие рилизинг-факторы, и статины — тормозящие рилизинг-факторы.

Гипоталамо-гипофизарный комплекс интерпретирует влияние на организм центральной нервной системы. Нарушение функции гормонозависимого органа вызывает изменение гормонального баланса многих систем. Как правило, следует стимуляция и введение резервов компенсации, направленных на восстановление нарушенного равновесия. Возникают компенсаторные, хронические, пролиферативные процессы в эндокриннозависимом органе. Так, компенсаторное повышение секреции тиреотропного гормона вызывает гиперплазию ткани щитовидной железы с образо-

ванием узлов пролиферации. Таков механизм стимуляции паренхимы щитовидной железы при первичном гипотиреозе.

Ход событий при развитии гормонального рака происходит следующим образом: нарушение синтеза, или инактивация гормона периферической эндокринной железы, приводит к прекращению тормозящего действия на гипофиз, опосредуемому гипоталамусом; синтез гормона гипофиза активируется, происходит гиперстимуляция периферической железы. Общая черта различных типов эндокринного канцерогенеза - повышение содержания в крови гормона, стимулирующего пролиферацию в ткани, которая вследствие этого претерпевает опухолевое превращение.

Отмечено, что рак молочной железы часто сочетается с определенными пролиферативными изменениями ткани молочной железы, в ткани наблюдаются последовательные изменения эпителия от нормального до злокачественного через различные степени типичной и атипичной гиперплазии. К усилению пролиферации эпителия молочных желез приводят истинная и ложная беременность введение половых гормонов (эстрогенов, прогестерона) в дозах превышающих физиологические. Эксперименты на животных показали, что «ранние, опухоли возникают или непосредственно из нормальной ткани, или в предшествующих гиперпластических очагах трех типов - гиперпластических альвеолярных узелках, участках гиперплазии эпителия протоков и структурах, известных как фолликулы (Foulds, 1956). В исследованиях была выявлена связь патологических изменений и пролиферации эпителия протоков: в группах злокачественных опухолей пролиферативные изменения отмечены в семь раз чаще. Атипичные пролифераты встречались в 14 раз чаще в группе злокачественных опухолей (Karpas et al., 1963).

Атипичная гиперплазия молочной железы составляет большую часть пролиферативных изменений. Было показано что гормональная аннуляция необходима не только для поддержания атипичной гиперплазии, но и для прогрессировать до инфильтративного рака (Page et al., 1978).

Исходя из клинических наблюдений выявлена закономерность - нарушение гормонального профиля у больных раком молочной железы оказывает влияние на течение заболевания и дает основание предполагать взаимосвязь этих нарушений. Вывод, полученный на основе обобщения клинического материала, состоит в том, что повышенный или искаженный гормональный профиль связан с природой рака молочной железы и других гормонозависимых опухолей (Зумофф, 1984). Рассмотрим некоторые факты, гипотезы по поводу этого распространенного заболевания. Большое число данных свидетельствует о дефиците андрогенов надпочечников у женщин, больных раком молочной железы, в период пременопаузы. Данные позволяют предполагать, что не-

достаточность предшествует клиническим проявлениям заболевания. Концепция, связывающая рак молочной железы с дефицитом андрогенов, была выдвинута Allen и соавт. (1957).

Концепция «ановуляторно-лютеальной» неадекватности была сформулирована Grattarola (1964) на основании данных о морфологических изменениях в эндометрии женщин, страдающих раком молочной железы. При этом отмечалась высокая частота гиперплазии эндометрия в сочетании с гиперплазией протоков молочной железы. Был сделан вывод о том, что почти у 1/3 женщин, страдающих раком молочной железы, налицо продолжительная эстрогенная стимуляция, что может быть следствием повторных ановуляторных циклов в сочетании с воздействием эстрогенов и прогестерона.

Sherman и Kogenman (1974) предположили, что в основе всех факторов риска лежит общий патофизиологический механизм: неадекватность лютеальной фазы (недостаточная выработка прогестерона в ответ на стимуляцию эстрогенами в фолликулярной фазе цикла).

«Эстронная» гипотеза была предложена в отношении рака эндометрия и сформулирована Siiteri и соавт. (1974). Согласно этой гипотезе, длительное воздействие эстрогена на эндометрий причинно связано с развитием предопухоловой атипической гиперплазии эндометрия или рака эндометрия.

Итак, рассмотренные клинические данные и концепции, интерпретирующие их, свидетельствуют о связи между гормональным дисбалансом, компенсаторной гиперстимуляцией пролиферации и раком. Иначе говоря, длительный промоторный эффект гормонального воздействия оказывается достаточным условием для развития опухоли.

Анализируя роль пролиферативного эффекта гормонов, И.Т.Терещенко и А.П.Кашулина (1983, с.23) пишут: «Все пролиферативно активные гормоны в определенных условиях и при достаточной настойчивости экспериментатора могут стать причиной нарушения регуляторных механизмов клеточного деления и дифференцировки, приводящего к малигнизации ткани... Тем не менее некоторые авторы склонны рассматривать гормоны лишь как факторы... способствующие ему (раку. — А.Ч.)... ставится под сомнение зависящая от дозы и продолжительности введения возможность прямого перехода от физиологического действия гормонального препарата к канцерогенному».

Изучение механизма регуляции размножения клеток с помощью метода ауторадиографии позволило сделать заключение, что гормоны являются митотическими регуляторами клетки (Алов, 1964; Епифанова, 1965; Лагучев, 1970).

Влияние гормонов на процессы клеточного деления зависит как от продолжительности действия гормонов, так и от их дозировки.



Это особенно наглядно видно на примере изменения митотической активности эпителия матки на протяжении астрального цикла.

Роль пролиферации как фактора канцерогенеза выявляется на основе следующих корреляций: 1) дисгормональные опухоли вызывают лишь те гормоны, которые стимулируют пролиферативные процессы в нормальных тканях; 2) установлена связь между развитием рака молочной железы, рака матки и длительной гиперэстрогенизацией, между появлением опухоли яичника и семенников и повышением уровня гонадотропных гормонов гипофиза, между образованием опухолей надпочечников и щитовидной железы и высоким содержанием адренокортикотропного и тиреотропного гормонов гипофиза; 3) повышенная гормональная активность надпочечников, особенно секреция ими эстрогенов, вызывает усиленную пролиферацию в ткани молочной железы у кастрированных мышей, что создает условие для возникновения рака молочной железы (Самуджян, 1973).

Ряд данных демонстрирует, что гормональная стимуляция пролиферации высокого уровня и длительности является необходимым и достаточным условием для трансформации. Хорошо известны результаты опытов, в которых под капсулу селезенки кастрированной самки крысы пересаживали яичники другого животного. Орган приживлялся и продуцировал эстрогены, но они попадали в *v. porta* и сразу разрушались в печени, не достигая гипофиза. В результате нарушалась координация функций обеих желез по механизму обратной связи, что приводило к гиперпродукции аденогипофизом гонадотропных гормонов, т.е. к поддержанию постоянно действующего стимула к пролиферации фолликулярного эпителия яичников. Уже через 157 дней в трансплантате появились неопластические клетки желтого тела, превращавшиеся в лютеому на протяжении 300 дней. У некоторых животных наряду с лютеомой возникали доброкачественные гранулемы (Шапот, 1975).

Сходные данные получены при изучении гиперпластических узелков молочной железы мышей. Эти узелки возникали в результате продолжительного стимулирования пролиферации либо эстрогенами и прогестероном, либо имплантированным гипофизом. Введение метилхолантрена мышам с гиперпластическими узлами приводило к образованию опухолей в последних, причем выход опухолей зависел от интенсивности пролиферации в узлах (Adamson et al., 1971).

Длительная стимуляция пролиферации, приводящая к опухолям молочных желез, обуславливает усиление секреции гипофизарных маммотропинов, что приводит к резкой стимуляции секреции в эпителии желез. Развивается кистозное расширение железистых структур, образование незрелых долек. И наоборот, если усиленная секреция не сопровождается усиленной пролиферацией

эпителиа молочных желез, то аномальные структуры в молочных железах не появляются, а образование опухолей тормозится.

Таким образом, накопленные данные позволяют выявить цепь последовательных стадий развития гормонального рака. Начальное звено связано с нарушением гормональной регуляции на уровне организма. Результатом такого нарушения является длительная хроническая стимуляция пролиферации, которая приводит к нарушению блокировки дифференцировки клеток. Фазы ускоренной пролиферации и нарушения дифференцировки взаимосвязаны и являются общими также и для негормональных опухолей. Следовательно, специфика гормонального рака состоит в его первой фазе, т.е. механизме гормонального дисбаланса, в результате которого инициируется хроническая пролиферация в ткани гормонозависимого органа. Начиная со стадии избыточной хронической пролиферации, все виды опухолеобразования развиваются по общему механизму, описываемому тканевой моделью.

Отметим, что о роли обусловленного гормонами нарушения дифференцировки свидетельствует, в частности, предотвращение индукции опухолей препаратами ретинола, способствующего сохранению дифференцированного состояния эпителиальных клеток молочных желез (Moon et al., 1977).

Как оценивается в литературе роль гормональной стимуляции пролиферации при раке? Большинство ученых отдают предпочтение точке зрения, согласно которой гормоны лишь создают условия для реализации инициированных клеток, сама инициация при этом осуществляется пока неизвестным «истинным» канцерогеном генотоксического действия. Анализируя этот вопрос, В.И.Самойлов (1981) пишет: «Ни в одном случае эндокринного канцерогенеза нельзя исключить возможность того, что роль гормонов сводится к поддержанию определенного дифференцированного состояния и пролиферации клеток на разных стадиях их опухолевого превращения под действием какого-то неэндокринного онкогенного агента» (с. 110).

Согласно точке зрения известного французского онколога Ж.Матэ (1983), чрезмерная стимуляция гормонами размножения клеток является причиной канцерогенеза в качестве условия наряду с мутацией или вирусом, т.е. играет роль промоторов. Причем вначале опухолеобразование обратимо и зависит от гормональной стимуляции уровня пролиферации. Характеризуя роль гормонов и других канцерогенов, Ж.Матэ (1983, с.84) пишет: «ДНК клетки должна находиться в состоянии удвоения, что может облегчить внедрение в нее вирусной ДНК. Этим объясняется не только роль канцерогенных факторов (в частности, гормонов), действие которых основано на стимуляции размножения клеток чувствительной к ним ткани, но и роль некоторых воздействий, разрушающих клет-

ки (например, излучения), поскольку истощение, которое они вызывают, сопровождается компенсаторным размножением».

Обратим внимание, что Матэ объединяет митогенное и канцерогенное воздействие, вызывающее гибель клеток, поскольку ткань отвечает на эти воздействия однотипной реакцией — компенсаторной пролиферацией. Это объединение на основе ответной реакции ткани различных по характеру действия канцерогенов является первым шагом к выявлению механизма общего знаменателя, а именно реакции тканевого гомеостаза в виде компенсаторной пролиферации на самые различные канцерогенные воздействия. Такой единый ответ и является механизмом, который унифицирует действие канцерогенов, нивелирует их различие, что соответствует представлению о механизме общего знаменателя.

Согласно точке зрения В.М.Дильмана и соавт. (1989, с.119), гормоны не являются канцерогенами, а выступают в роли промоторов. Они пишут: «Гормоны.., не вызывают необратимых или стойких изменений в генетическом аппарате... Но для возникновения злокачественной трансформации клетки необходимо повреждение генетического аппарата...»

В процессе опухолевой прогрессии проявляется одно из характерных свойств опухолеобразования — увеличение степени автономности опухоли. В гормональных опухолях это явление связывают с постепенной утратой чувствительности опухолей к гормонам в результате исчезновения рецепторов гормонов на клеточной поверхности. Каков механизм этого явления? Рассмотрим вопросы, связанные с механизмом действия рецепторов, на примере стероидных гормонов.

Согласно принятой точке зрения, схема действия стероидных гормонов такова: циркулирующий в кровотоке комплекс белок крови — стероид диссоциирует на белок и свободный стероид, который является биологически активной формой гормона. Свободный стероид проникает через мембрану клетки, в цитоплазме связывается с рецептором, а образующийся комплекс переходит в ядро, что определяет специфический ответ клетки (Бассалык, Дягтярь, 1987). Данный механизм проникновения стероидных гормонов в клетку является общепринятым.

Анализируя этот вопрос, Альберте Б. и соавт. (1987) пишут: «Такая разница в растворимости обуславливает фундаментальные различия в механизмах воздействия этих двух классов молекул на клетки-мишени. Водорастворимые молекулы... связываются со специфическими белковыми рецепторами на клеточной поверхности. Напротив, стероидные и тиреоидные гормоны гидрофобны и, отделившись от белка-носителя, могут легко проходить через плазматическую мембрану клетки-мишени. Эти гормоны связываются со специфическими белковыми рецепторами внутри клетки» (с.257).

Вопрос о местонахождении рецепторов к стероидным гормонам еще не решен. С нашей точки зрения, имеются основания для выдвижения альтернативной гипотезы, согласно которой рецепторы к стероидным гормонам находятся не внутри клетки, а на клеточной поверхности. В качестве обоснования можно привести несколько аргументов и фактов.

Касаясь этого вопроса, Л.С.Бассалык пишет: «Пока нет единого мнения относительно того, происходят ли данные процессы в результате простой диффузии стероидной молекулы в любую клетку либо в мембранах клеток органов-мишеней существует специальная транспортная система» (с.8). Очевидно, если исходить из того, что гормон контактирует с рецептором внутри клетки, а не на поверхности мембраны, то нет никакого различия между гормоночувствительными клетками и остальными, т.е. гормон может легко проходить в любую другую клетку, а значит, к месту нахождения мишени он может не дойти.

В качестве аргументов можно привести данные о том, что рецепторы адреналина и инсулина располагаются на клеточной мембране (Альберте и др., 1987, с.266).

Другой аргумент состоит в том, что, как было показано, через ядерную мембрану стероидные гормоны могут проходить только в составе с рецептором (Бассалык, Дягтярь, 1987). Если исходить из физико-химических свойств молекул стероидных гормонов, то через ядерную мембрану они должны были бы проходить свободно без рецептора, однако это не так, поэтому можно отвергнуть представление о свободном проходе их через клеточную мембрану. Если допустить, что рецепторы к стероидным гормонам не находятся на поверхности клеточной мембраны, то такая клетка лишается возможности специфически вылавливать гормоны из потока проходящих молекул, при этом часть молекул может оседать в других клетках, не являющихся мишенями для гормонов. Возникает ряд трудностей, которые требуют дополнительного объяснения и противоречат представлениям о роли рецепторов в механизме гормонального воздействия.

Существенным вопросом в понимании механизма гормонального рака является утрата опухолевой клеткой чувствительности к гормонам. Это явление объясняется исчезновением рецепторов к гормонам на клеточной мембране в процессе опухолевой прогрессии. Данное явление было подтверждено в 1975 г. в Бетезде (США) на международном рабочем совещании по раку молочной железы. Оказалось, что больные, опухоли которых содержали рецепторы, в 50 — 55% случаев отвечали на гормональную терапию и только 8 — 10% больных с РЭ~ отрицательными (РЭ~) опухолями отвечали на такое лечение. Как показали многочисленные исследования, существует корреляция между concentra-

цией РЭ в опухолях молочной железы и ответом на гормональное лечение. Данные показывают, что имеется прямая взаимосвязь между наличием рецепторов и степенью дифференцировки. Так, С. Contesso и соавт. (1977, цит. по: Муравьева, 1987) отметили положительную корреляцию РЭ-статуса со степенью дифференцировки опухолей молочной железы у мужчин. По этим параметрам они также сходны с опухолями молочной железы женщин (Муравьева, 1987). Отмечено также, что содержание РЭ в первичных и метастазирующих опухолях различно: среди метастазирующих чаще встречаются РЭ~-опухоли.

В ряде работ отмечается, что уровень рецепторов прогестерона (РП) также ниже в метастазирующих опухолях, чем в первичных опухолях. Так, Y. Nomura (1983) определил содержание рецепторов стероидных гормонов как в процессе прогрессирования рака молочной железы, так и после различных видов терапии. При первичном раке 26,3% опухолей содержат РП. В первичных региональных метастазах РП найдены в 24,5% случаев. При дальнейшем прогрессировании заболевания, а также после различных видов терапии доля РП-содержащих опухолей снизилась до 19%. В претерминальных стадиях в опухолях обнаружены РП только в 3,4% случаев.

Отметим, что в результате химиолучевой терапии количество рецептотрицательных опухолей значительно увеличивается. С позиции тканевой теории это явление объясняется увеличением травмирования клеток, в результате чего усиливается компенсаторная пролиферация, которая вызывает прогрессирующую эмбрионализацию и как результат — снижение синтеза рецепторных молекул. Это означает, что в ряде случаев лечение будет давать отрицательный результат — усиление прогрессирования опухолей.

Как связаны между собой содержание РП и степень дифференцировки? Первые данные об обратной корреляции между содержанием РП и степенью дифференцировки опухолей получены F. Maulévin и соавт. (1977, цит. по: Кузьмина, 1987). Высокодифференцированные опухоли содержат большее количество РП. Наблюдается четкая корреляция между степенью злокачественности опухолей и одновременным присутствием в них двух видов рецепторов: с увеличением клеточной анаплазии уменьшается количество РЭ<sup>+</sup> РП<sup>+</sup> — опухолей и возрастает количество РЭ~ РП~- опухолей.

Как уже говорилось, характерной закономерностью является то, что в группе леченых больных основная тенденция состоит в том, что большинство опухолей переходит в разряд рецептотрицательных, что объясняется повышенной гибелью клеток и усилением компенсаторной пролиферации, которая способствует эмбрионализации клеток. И наоборот, низкая степень повреждения опухолей коррелирует с высокой степенью дифференцировки (Кузьмина, 1987).

Наличие или отсутствие рецепторов на клеточной мембране имеет клиническое значение и является существенной чертой механизма опухолеобразования. Что же лежит в основе этого явления? Анализируя этот вопрос, В.И.Самойлов (1981, с.115) пишет: «...независимость опухоли от эндокринной системы, так и скорость роста опухоли определяются, возможно, какой-то общей характеристикой, направлением и степенью дифференцировки... Можно предположить, что такая утрата рецепторов при длительном введении гормона может быть закреплена в потомстве этих клеток благодаря тому же механизму, который делает наследственными изменения клеток при неэндокринном бластомогенезе».

Для построения теории гормонального рака необходимо выявить корреляцию между такими явлениями, как изменение гормонального профиля при гормональном дисбалансе, стимуляции пролиферации ткани, т.е. изменение пролиферативного режима, изменение степени дифференцировки, или эффект прогрессирующей эмбрионализации, исчезновение рецепторов с клеточной поверхности, автономизацией, разрушением структуры и функции тканевого гомеостаза и как результат выход из-под контроля стволовых клоногенных клеток с активизированными онкогенами. Все эти проявления необходимо связать в единую цепь, показав необходимость и место каждого из составляющих звеньев канцерогенеза.

В рамках тканевой теории впервые удастся связать все основные проявления гормонального рака. Согласно тканевой теории, канцерогенность гормонов определяется способностью усиливать митотическую активность в тканях-мишенях. Но не всякое усиление вызывает гормональный рак.

Концепция канцерогенного профиля показывает, что онкологическим значением обладает лишь тот уровень компенсаторной пролиферации и длительность хронического воздействия, которые вызывают прогрессирующую эмбрионализацию клеток. Таким образом, выявляется необходимая, логически связанная последовательная цепь событий. Гормональный дисбаланс меняет гормональный профиль, это приводит к хронической пролиферации гормонозависимой ткани. Ускоренная длительная пролиферация вызывает обратимую блокировку дифференцировки, в результате развивается прогрессирующая эмбрионализация, которая и разрушает со временем структуру и функцию тканевого гомеостаза, контролирующего деление клоногенных клеток. Клоногенные стволовые клетки, обладая всеми признаками опухолевых клеток и активизированными онкогенами, при нарушении тканевого гомеостаза переходят к неконтролируемому злокачественному росту.

Замещение дифференцированных клеток на малодифференцированные в процессе эмбрионализации ткани ведет к исчезновению рецепторов с клеточной мембраны, т.е. клетки приобретают

иной состав рецепторов на клеточной мембране, характерный для низкодифференцированных клеток. Потеря рецепторов и молекул адгезии при снижении дифференцировки является вторым ударом, который наносит эмбрионализация на пути к полному разрушению тканевой системы. Таким образом, основные черты опухолевой прогрессии непосредственно коррелируют со степенью дедифференцировки клеток. Структура тканевого гомеостаза и контроль пролиферации нормально функционируют при условии постоянного воспроизводства, поэтому прогрессирующая эмбрионализация с течением времени, меняя соотношение между дифференцированными и клоногенными клетками, разрушает отрицательную обратную связь, контролирующую стволовые клоногенные клетки. Нарушение обратной связи приводит к неконтролируемому опухолевому росту низкодифференцированных клоногенных клеток. Следствия, вытекающие из тканевой теории гормонального рака, хорошо подтверждаются фактами. Хорошо известно, что чем ниже дифференцировка опухолей, тем выше злокачественность. Это положение доказывается обратным следствием из этой закономерности — факторы, которые повышают дифференцировку, способствуют нормализации ткани и прекращению опухолеобразования.

Схематично механизм гормонального рака с позиции тканевой теории можно изобразить так:

Гормональные нарушения, дисбалансы, повышенное митогенное воздействие



Изменение гормонального профиля



Ускоренная пролиферация



Обратимая блокировка дифференцировки



Прогрессирующая эмбрионализация ткани, исчезновение ряда рецепторов на мембране и молекул адгезии



Нарушение структуры и функции тканевого гомеостаза, нарушение контроля пролиферации. Нарушение соотношения факторов оака и кейлонов

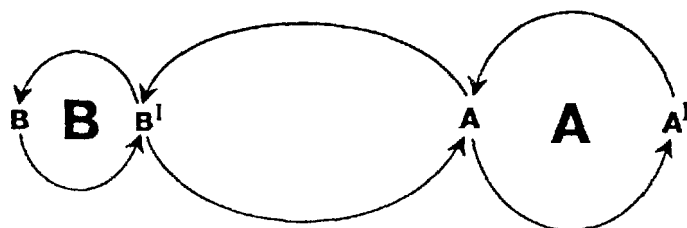


Неконтролируемый злокачественный рост низкодифференцированных, клоногенных клеток с активизированными онкогенами, инвазия, метастазирование

Таким образом, в тканевой теории учитывается не только качественная сторона канцерогенного фактора, но также количественная — интенсивность и режим воздействия (структура воздействия). Этот аспект описывается концепцией канцерогенного профиля, суть которой состоит в том, что канцерогенный профиль должен вызывать такой уровень эмбрионализации, который превышает восстановительную способность тканевого гомеостаза.

Так, в ходе изучения гормонального рака у животных многими авторами было показано, что сильное влияние оказывают такие факторы, как доза вводимых эстрогенов, длительность и непрерывность их воздействия. Латентный период развития опухолей был обратно пропорционален дозе вводимых эстрогенов.

Каким образом связан тканевый гомеостаз с целостной системой организма? Принцип взаимодействия тканевого гомеостаза гормонозависимых органов с основными системами организма можно представить схематично в виде двух связанных между собой контуров саморегуляции:



**А — основные системы гомеостаза организма**

**В — тканевый гомеостаз гормонозависимого органа**

Контур А символизирует основные гомеостатические системы организма, нарушение которых приводит к гормональному дисбалансу, в результате чего на малый контур падает нагрузка, вызывающая интенсивную хроническую пролиферацию. Контур В символизирует тканевый гомеостаз гормонозависимого органа. В результате дисбаланса в контуре А, в контуре В возникает гиперстимуляция хронической пролиферации. Следующий этап опухолеобразования реализуется в рамках тканевого гомеостаза. Для нормального функционирования тканевого гомеостаза необходимо постоянное воспроизводство структуры гомеостаза, т.е. количественное и качественное пропорциональное соотношение между стволовыми, коммитированными и дифференцированными клетками должно воспроизводиться. Это связано с тем, что синтезируемые дифференцированными клетками кейлоны, выполняющие функцию отрица-



тельной обратной связи, и выделяемые малодифференцированные клетки факторы роста удерживаются в определенном равновесии, что определяет стабильный баланс гомеостаза. Поэтому прогрессирующая эмбрионализация, развивающаяся в результате повышенной пролиферации, постепенно разрушает структуру, а затем и функцию тканевого гомеостаза.

Основные положения новой теории гормонального рака хорошо подтверждаются экспериментальными данными. Очевидно, если нарушение тканевого контроля является достаточным условием для развития неконтролируемого роста стволовых клоногенных клеток, то изолированные стволовые клетки при трансплантации будут проявлять злокачественный рост без какого-либо канцерогенного воздействия. Первое положение следует из второго, и наоборот, т.е. они взаимообусловлены. Это и будет свидетельствовать в пользу новой теории, основанной на нарушении тканевого контроля.

Эксперименты Шпемана (Speman, 1942), которые воспроизводились многими учеными, однозначно подтвердили злокачественность изолированных стволовых клеток. Он трансплантировал недетерминированные клетки бластулы в полость тела взрослой лягушки — они делились без дифференцировки и прорастали в окружающие ткани.

Согласно данным Н.Топтиклиса (Toptiklis, 1969), нормальные клоногенные клетки могут инвазивно прорасти в чужеродные ткани: например, диссоциированные клетки щитовидной железы мышей, интенсивно продуцирующие тиреоглобулин, при введении в легкие животным пролиферировали, подобно метастазирующим клеткам.

Американский ученый I.Damjanov (1991) с целью получения тератокарцином привил мышинные эмбрионы на стадии прегастрюлы под капсулу почки сингенным взрослым мышам. Организм реципиента не регулировал пролиферацию таких клеток, которые приобретали свойства злокачественных опухолей. Автор сделал вывод, что злокачественность может развиваться без участия механизмов вирусного или химического канцерогенеза и не сопровождается генетической трансформацией, т.е. злокачественность может развиваться, минуя необратимые генетические изменения. Рассмотренные данные доказывают, что тканевая теория гормонального рака имеет достаточно хорошую экспериментальную обоснованность, в частности это относится к данным о проявлении злокачественности изолированных стволовых клеток, неподвергаемых канцерогенному воздействию. К этой группе примыкает такое явление, как спонтанная малигнизация *in vitro*, где также отсутствует какой-либо канцероген. Две группы данных коррелируют между собой и подтверждают положение о достаточности нарушения тканевого контроля в качестве условия и причины трансформации.

#### **4. Роль эмбрионализации ткани в механизме опухолеобразования**

Картина морфологических изменений ткани в процессе канцерогенного воздействия характеризуется закономерными стадиями тканевой деградации. С. Brunі (1973) дает такое описание реакции клеток печени в процессе канцерогенеза, индуцированного диэтилнитрозамином. Первой реакцией (3—5 дней) на канцероген было возникновение некрозов и волны митотической активности. Один тип клеток напоминал нормальные гепатоциты, другой резко отличался от них небольшим размером, ничтожным содержанием гладкой цитоплазматической сети и не имел полигональной формы. На 98-й день они уже почти не имели гладкой и зернистой цитоплазматической сети и в них преобладали свободные, не связанные с мембранами рибосомы. Подобные клетки встречаются только в эмбриональной печени, и из них впоследствии формируются опухолевые узлы. Автор сделал вывод, что в данном случае имеет место не дедифференцировка, а, наоборот, задержанная дифференцировка, сохранение состояния морфологической незрелости.

Точку зрения, согласно которой омоложение ткани связано не с обратным развитием дифференцированных клеток, а с блокировкой нормальной дифференцировки, обосновывает также Д.С.Саркисов (1977). Хорошо известны ставшие классическими результаты Г.И.Абелева (1971). Он показал, что в регенерирующей печени мышей возобновляется синтез  $\alpha$ -фетопротейна, характерного для эмбриональной печени. Данный факт подтверждает положение тканевой модели о том, что опухолевые клетки происходят из клоногенных низкодифференцированных клеток при нарушении тканевого контроля.

Согласно В.С.Шапоту (1975), химические канцерогены действуют двояко. На первом этапе они выступают как токсические агенты, выводящие из строя большую или меньшую группу высокодифференцированных клеток. В ответ возникает волна митозов в соседних зонах, и тут же канцероген или его метаболит поражает делящиеся, относительно незрелые клетки, вызывая их неопластическую трансформацию.

Сходные данные описывает Iwasaki с соавт. (1972), изучавший канцерогенез в печени, вызванный 3-метил-4-диметиламиноазобензолом. Вначале отмечались дегенерация и исчезновение гепатоцитов, замещавшихся пролиферирующими овальными клетками уже через 2 недели после введения канцерогена, которые затем сменялись мелкими гепатоцитами, образующимися в перипортальной области, но постепенно распространившимися к центральной вене большинства печеночных долей. Эта острая фаза

гепатоканцерогенеза совпала по времени с обнаружением а-фетопротейна в сыворотке крови. Описанные мелкие гепатоциты характеризовались редуцированной гладкой цитоплазматической сетью и преобладанием свободных рибосом.

Таким образом, в процессе хронической пролиферации происходит постепенная репопуляция клеточного состава: дифференцированные клетки заменяются на недифференцированные. Нормальное функционирование гомеостаза обеспечивается при условии поддержания правильной структуры — т.е. определенной пропорции между стволовыми, коммитированными и дифференцированными клетками. Эта пропорция может колебаться до какого-то предела, превышение которого приводит к нарушению отрицательной обратной связи, контролирующей деление стволовых клеток, поскольку соотношение ФР/ кейлоны зависит от соотношения стволовых и дифференцированных клеток. Эмбрионализация ткани выступает в качестве негативного, деструктивного фактора, прогрессия которого в ходе канцерогенного воздействия и повышенной пролиферации выводит тканевую регуляцию из строя. Этот механизм имеет динамическую количественную сторону, которая прогрессирует при высокой пролиферации, соответствующей канцерогенному профилю. Какие-либо специфические признаки начальных стадий оказываются размытыми, неотличимыми от неопухолевых регенераторных процессов, поскольку накопление количественных изменений долгое время может не сказываться на функционировании гомеостаза. Это обуславливает незаметность, неспецифичность перехода от одного качественного состояния к другому. В данном случае качественный скачок определяется количественным накоплением низкодифференцированных клеток.

## **5. Концепция иммунологического надзора и ее критика**

Насколько оправданно представление о раковой клетке как о чужеродном элементе в организме? Очевидно, назрела необходимость в связи с накопившимися новыми данными пересмотреть роль иммунитета в механизме канцерогенеза.

Концепция иммунологического надзора, выдвинутая лауреатом Нобелевской премии Ф.Бернеттом, исходила из того, что причина трансформации обусловлена мутациями соматических клеток (либо раковая клетка возникает за счет внесения чужеродных генов вирусами). Иначе говоря, раковые клетки — это мутировавшая порода клеток, поэтому возникновение рака зависит от состояния иммунной системы, которая в норме постоянно уничтожает эти клетки в организме.

Одно из достижений теории онкогена — выявление того, что раковые гены присущи каждой нормальной клетке, а концепция «дозы гена» говорит о количественном изменении онкобелка. Этот факт разрушает основание теории иммунологического надзора Бернетта, поскольку изменение дозы гена не делает его чужеродным. Если онкогены, их проявление не являются чужеродными для нормальных клеток, то иммунная система и не должна опознавать эти клетки. Исчезает противоопухолевая функция иммунитета, поскольку отсутствуют чужеродные гены и их продукты.

Многочисленные экспериментальные данные показали: при сравнении опухолевых клеток с недифференцированными клоногенными клетками отличия не обнаруживаются. Если говорить о необратимых повреждениях онкогенов с позиции концепции «дозы гена», которая основывается на увеличении активности онкогена без изменения структуры синтезируемого белка, продукта этого онкогена, то, по существу, в ней разбивается старая основа, т.е. представление о чужеродности раковых клеток, на которой базировалась теория Бернетта. Иначе говоря, если отсутствует измененный онкобелок, то иммунитет не срабатывает (предполагаемая роль в канцерогенезе аннулируется), в этом смысле концепция «дозы гена» опровергает основание концепции «иммунологического надзора» Бернетта.

Аргументы против теории иммунного контроля вносят экспериментальные и клинические данные. Ж.Матэ (1983) прямо формулирует вопрос: «Если иммунитет защищает организм от раковых клеток, то почему же все-таки люди болеют раком?» Можно было бы предположить, что болеют лишь те, у кого ослабла иммунная система, но в эксперименте рак можно вызвать у организма независимо от силы иммунной системы.

Образно выражаясь, на шахматной доске оказалось несколько лишних фигур, не имеющих отношения к игре. Одной из них является представление о специфической противоопухолевой роли иммунитета в опухолеобразовании. Если учесть, что фенотип стволовой клетки идентичен фенотипу опухолевой, то иммунитет должен был бы уничтожать стволовые клетки, что парадоксально. Ситуация заключается в следующем: вначале в круг подозреваемых факторов вводится лишняя фигура, затем ее никак не извлечь, хотя аргументов против найдено много.

Основным доводом, подкрепляющим традиционное представление, служит следующий аргумент: если иммунодепрессант снижает компетентность иммунной защиты, то закономерно происходит усиление канцерогенного воздействия и увеличение роста опухоли. Однако, как заметил французский онколог Ж.Матэ (1980), «многие иммунодепрессанты являются канцерогенными факторами». Этот факт позволяет по-иному интерпретировать

данные, которые, как предполагалось, подтверждали концепцию иммунологического надзора. А именно: введение иммунодепрессанта-канцерогена усиливает опухолеобразование прямым образом, усиливая пролиферацию, а не действует опосредованно, через иммунитет.

Затрагивая этот вопрос, Ю.М.Соловьев и др. (1988, с.8) пишут: «Еще совсем недавно, казалось бы, достаточно убедительно аргументировалась концепция иммунного надзора. Но уже получены данные, свидетельствующие против важной роли иммунологического надзора в возникновении опухолей». Представление о том, что активизация онкогенов делает опухолевую клетку чужеродной для иммунитета, опровергается на основе молекулярно-генетических данных. По этому вопросу И.М.Чумак (1986, с.286) пишет: «Онкогенами могут быть только те регуляторные гены, которые при аномальной экспрессии не слишком сильно меняют набор иммунных детерминант на поверхности клетки». Этот довод вполне справедлив, поскольку сильное изменение иммунных детерминант, которое опознается иммунной системой, приведет к уничтожению опухолевых клеток.

К фактам, свидетельствующим против представлений о защитной роли иммунитета в опухолеобразовании, добавляется еще один. Следовало ожидать, что у тех организмов, у которых отсутствует тимус в связи с наследственной аномалией, чаще должен был бы развиваться рак. Однако у бестимусных мышей отсутствуют спонтанные опухоли, а частота рака не выше, чем у имеющих полную систему иммунитета (Быковская, Грутенко, 1982).

Давая общую оценку роли иммунитета в опухолеобразовании, Т.И.Авдеева и др. (1985, с.4) пишут: «Теория «иммунного надзора» в том виде, в котором была предложена Бернеттом, подвергалась справедливой критике и сейчас в значительной мере пересмотрена. По-видимому, господствующим стало представление о весьма слабой иммуногенности (или ее отсутствии) большинства спонтанных опухолей».

Рассмотрим ряд факторов, заставляющих усомниться в верности положений концепции иммунного надзора. По мере развития представлений стало известно, что основной функцией Т-лимфоцитов является реакция на опухолевые трансплантаты, которая носит двойственный характер: наряду с цитотоксическим действием было обнаружено стимулирующее рост опухоли действие (Prehn, Larpe, 1971; Prehn, 1972).

Иммунное распознавание опухолевых клеток, содержащих специфический трансплантационный опухолевый антиген, возможно при введении довольно значительного числа опухолевых клеток (обычно больше  $10^5$  клеток). Однако в литературе описано (Old et al., 1962) парадоксальное явление «проскальзывания»

(«sneaking through») опухоли, которое состоит в том, что иногда меньшие дозы введенных животным опухолевых клеток прививаются лучше, чем несколько большие дозы тех же клеток. Критики концепции иммунологического надзора считают феномен «проскальзывания» опухоли серьезным аргументом против возможности эффективного надзора в отношении небольшого числа или единичных опухолевых клеток (опухоли in situ) (Möller, 1976; Prehn, 1976).

Вопреки ожиданию частота спонтанных опухолей у бестимусных мышей оказалась такой же низкой, как и у нормальных (Stutman, 1974,1975; Rygaard, Poulsen, 1976).

Если остановиться на точке зрения, что иммунитет — это система, которая обеспечивает контроль за раковыми клетками, то такие процессы, как ускоренная длительная пролиферация, омоложение ткани, проблема предрака, а вместе с ней клиническая картина опухолеобразования, не попадают в поле внимания в теоретическом плане, поскольку это процессы тканевого уровня. Выяснить роль предрака в механизме канцерогенеза с позиции иммунного надзора также не удастся. И наоборот, если принять во внимание тканевые изменения, роль хронической пролиферации, омоложение клеток, то обращение к особой роли иммунитета для объяснения механизма рака становится излишним. Предполагаемый контроль иммунитета за появлением раковых клеток на самом деле осуществляется механизмом тканевого контроля. Как теоретически обосновать переход от одного механизма к другому? Контролируя качественный аспект постоянства организма, иммунитет не предназначен для контроля количественного состава ткани. Такие изменения для иммунитета незаметны, образно говоря, у него нет датчиков, реагирующих на количественный параметр, но, накапливаясь, эти изменения приводят к качественным скачкам — нарушению контроля пролиферации.

Тканевая теория делает переориентацию на количественное постоянство, которое определяет качественное состояние тканей, контролируемое тканевым гомеостазом. Качественному изменению контроля пролиферации предшествует длительный период накопления количественных изменений в виде замены дифференцированных клеток на недифференцированные. Если вспомнить о закономерности перехода количественных изменений в качественные, то перед нами еще один пример. Здесь уместно ввести понятие «критической массы», используемое в ядерной физике. При накоплении определенной массы недифференцированных клоногенных клеток в процессе прогрессирующей эмбрионализации тканевый гомеостаз выходит из строя, что приводит к неконтролируемому опухолевому росту.

Таким образом, чтобы сохранить иммунологическую концепцию, надо сохранить старую схему трансформации, в которой предполагаются мутации как причина рака, если же перейти к тканевой модели, то это приводит к отказу от представлений о противоопухолевой роли иммунитета в канцерогенезе. Такова альтернатива выбора моделей, поскольку существует логическая сцепленность, корреляция между фактами и теоретическими положениями.

С позиции тканевой модели эффект «проскальзывания» опухоли можно объяснить следующим образом. Необходимость введения большого числа клеток обусловлено очень незначительным числом стволовых клоногенных клеток, которые определяют успех прививания опухоли, причем часть из этих клеток находится в неактивном состоянии. Если же взять фракцию, обогащенную стволовыми активизированными клетками, то число клеток, которые необходимо ввести, резко сократится, т.е. пересчет надо вести не по отношению к абсолютному числу вводимых опухолевых клеток, а по отношению к доле активизированных, клоногенных стволовых клеток.

## **6. Неспецифический характер вирусного канцерогенеза**

В рамках тканевой модели удастся по-новому объяснить механизм вирусного канцерогенеза, в частности такой не поддающийся объяснению феномен, как отсутствие в ряде случаев вирусного генома в опухолевых клетках. В тканевой модели предполагается, что клетки, подвергающиеся деструкции, и клетки, выходящие из-под контроля, — это разные пулы клеток. В ответ на гибель клеток усиливается пролиферативная реакция, которая в конечном итоге приводит к разрушению тканевого гомеостаза и развитию опухолеобразования. Такой механизм трансформации не предполагает, чтобы в раковых клетках находился вирусный геном, встроенный в ДНК. Известно, что многие вирусы вызывают цитопролиферативный эффект, следовательно, вирусы вызывают опухолеобразование опосредованно, путем нарушения тканевого гомеостаза и неконтролируемого роста клоногенных клеток, т.е. неспецифично. Почему не все вирусы вызывают рак?

Очевидно, в рамках тканевого подхода ответ можно дать один: цитопролиферативный эффект должен соответствовать канцерогенному профилю, если он ниже необходимого уровня, то рак не возникает либо не переходит в злокачественный.

Аргументом, подтверждающим данную точку зрения, может быть тот факт, что один и тот же вирус способен вызывать разные виды опухолей. Например, вирус Эпштейна — Бара при

снижении иммунитета (Schwartz, 1979) и стимуляции деления В-лимфоцитов (вследствие перенесения малярии) вызывает лимфому Беркита. При наличии генетической предрасположенности он же индуцирует возникновение рака носоглотки. При определенной же степени иммунологической реактивности под его воздействием возникает доброкачественный пролиферативный самоограничивающийся процесс — инфекционный мононуклеоз.

Способность одного и того же вируса вызывать разные формы опухолеобразования подтверждает концепцию канцерогенного профиля.

Имеется еще ряд данных по вирусному канцерогенезу, говорящих в пользу тканевой модели. У некоторых вирусов отсутствуют трансформирующие гены, однако они вызывают рак.

Иногда вирус присутствует в цитоплазме, не внедряясь в геном опухолевых клеток, в то время как предполагаемый механизм основан на другом способе трансформации. В этом ряду фактов следует рассматривать такое парадоксальное явление, как отсутствие вирусного генома в ряде случаев при вирусном канцерогенезе в раковых клетках. Этот факт опровергает вирусогенетическую теорию и теорию онкогена, поскольку они предполагают обязательное присутствие вируса в опухолевых клетках. И, наоборот, эти факты подтверждают тканевую теорию.

## **7. Проблема тканевой регуляции пролиферации**

Вопрос о регуляции размножения клеток в механизме канцерогенеза занимает центральное место. Это обусловлено тем, что пролиферация является важнейшим процессом, обеспечивающим воспроизводство тканей и органов, а ее нарушение приводит ко многим патологиям, одной из которых является рак. Обычно акцент делается при выяснении причин канцерогенеза на повреждении онкогенов, однако регуляция размножения и дифференцировки клеток осуществляется на тканевом уровне механизмом гомеостаза. Управление клеточным размножением осуществляется стимуляторами митоза (ФР) и ингибиторами (кейлонами) пролиферации. Основным механизмом регуляции по принципу обратной связи является кейлонный механизм.

Кейлонная система ткани является важнейшим звеном управления делением клеток, через которую реализуется действие регулирующих факторов. Различные ткани характеризуются неодинаковым уровнем пролиферативных процессов, что проявляется в изменении интенсивности размножения клеток в онтогенезе и при репаративной регенерации. Проллиферативный ответ на действие стимуляторов репродукции клеток, например гормонов,



также варьирует в разных тканях. Обнаружены различия в параметрах митотического цикла клеток в быстро и медленно обновляющихся тканях. Количественные соотношения между популяциями пролиферирующих и покоящихся клеток также оказались неодинаковыми. Ткани отличаются по параметрам суточных ритмов пролиферативных процессов. Это свидетельствует о присутствии в тканях механизмов регуляции размножения клеток, которые обладают тканеспецифичностью.

В результате решения вопроса о биологической регуляции стали широко использоваться идеи кибернетического и системного подхода. Основным элементом такой регуляции является наличие отрицательной обратной связи, что делает всю систему замкнутой на саму себя, позволяет удерживать постоянство через взаимную корреляцию частей относительно друг друга. Идея регуляции размножения клеток на основе принципа отрицательной обратной связи получила развитие в работах ряда ученых (Weiss, Kavanau, 1957; Iversen, 1960). Основным итогом этих исследований явился вывод, что в тканях должны присутствовать вещества, участвующие в регуляции пролиферации клеток путем ее ингибирования.

Жизнь организма, функционирование различных систем, органов, клеток — все многообразие реакций сопровождается заменой старых структур новыми, их обновлением, или регенерацией. Регенерацию следует рассматривать в качестве основы компенсаторно-приспособительных процессов, обеспечивающих сохранение гомеостаза. Согласно Д.С.Саркисову (1977), все многообразие уровней развертывания регенерации у млекопитающих может быть представлено в следующем виде: 1) молекулярная регенерация; 2) внутриорганойдная регенерация; 3) органоидная регенерация (увеличение числа органоидов и гиперплазия ядерного аппарата); 4) клеточная регенерация (деление клеток).

Какова доля внутриклеточных и клеточных регенераторных процессов?

Например, в кишечном эпителии, в кроветворных органах и других тканях физиологическая и репаративная регенерация обеспечивается за счет клеточного размножения. В миокарде и в некоторых отделах нервной системы гибель одних клеток восполняется за счет наращивания числа ультраструктур в сохранившихся клетках (гиперплазия), т.е. органоидного типа внутриклеточной регенерации. Можно выделить три основные группы тканевых структур организма в зависимости от особенностей регенераторной реакции. В первую входят органы и ткани, в которых регенераторная реакция выражается в форме новообразования клеток. Это эпителий кожи, костный мозг, костная ткань, эпителий тонкой кишки, лимфатическая система и др. Ко второй группе, занимающей промежуточное положение, относятся органы, в которых физиологические и осо-

бенно репаративные регенераторные процессы развертываются как в форме клеточной, так и внутриклеточной регенерации; к ним относятся печень, легкие, почки, надпочечники, скелетная мускулатура и др. В третью группу включаются органы, в которых доминирует внутриклеточная регенерация, — это миокард, центральная нервная система. Для третьей группы злокачественные новообразования нехарактерны.

Принципиальное значение имеет скорость регенераторных процессов и длительность процесса, поскольку они определяют прогрессию эмбрионализации. Регенераторные процессы сопровождаются омоложением клеток. Смысл понятия дедифференцировки передается такими выражениями, как «видимое упрощение или утрата структур», «омоложение», приобретение клетками «эмбриональных признаков», «утрата клетками ряда морфологических признаков», «утрата ряда признаков специализации».

Согласно точке зрения Д.С.Саркисова (1977), дедифференцировку можно объяснить тем, что происходит блокировка созревания клеток, а не возврат зрелых клеток к эмбриональному состоянию. Анализируя этот вопрос, Д.С.Саркисов (1977, с. 155) пишет: «...возможность «дедифференцировки» зрелых клеток становится весьма сомнительной, а возникновение структурно-функциональных аномалий различных клеточных элементов должно рассматриваться как результат тех или иных «отклонений» по пути к их окончательной дифференцировке».

Еще Г.Рибберт (1905) отмечал, что «иногда прежние клетки погибают, а их место путем регенерации занимают более простые образования, и при неблагоприятных условиях остающиеся такими же простыми». Структурная перестройка слизистой оболочки желудка после ожогов ее, при хроническом гастрите (Арушанов, 1971; Шаров, 1971; Зуфаров, 1974) свидетельствует о том, что основным процессом, обуславливающим развитие хронического гастрита, является нарушение физиологической регенерации слизистой оболочки желудка, и в частности замедление и искажение дифференцировки интенсивно пролиферирующих камбиальных клеток. Таким образом, «омоложение» тканей (в частности, соединительной, крови, различных эпителиев) происходит на основе блокировки дифференциации делящихся камбиальных элементов, а не «дедифференцировки» зрелых клеточных форм, этот вывод получил экспериментальное подтверждение.

Применительно к опухолевому росту проблема «дедифференцировки» имеет принципиальное значение. Клетки опухолей характеризуются известным упрощением строения и обеднением набора ферментов по сравнению с их физиологическими прототипами. Значение эмбрионализации ткани состоит в том, что она нарушает структуру клеточных популяций, а это отражается на

функции контроля гомеостаза, накопление низкодифференцированных клеток нарушает тканевый контроль, в результате чего развивается опухоль.

## **8. Проблема конвергенции и дивергенции опухолевых признаков**

Повышенная гибель клеток при канцерогенном воздействии приводит к интенсивной пролиферации, которая блокирует дифференцировку, что обуславливает омоложение клеток. Степень омоложения постепенно увеличивается, поэтому в далеко продвинутом опухолевом процессе клетки разных тканей приобретают сходство.

Однако против концепции «конвергенции» выступил ряд авторов, ссылаясь на обнаруженное увеличение разнообразия опухолевых признаков, дивергенцию их в противоположность конвергенции. Нет ли здесь противоречия? Можно предположить следующее разрешение этой проблемы. Очевидно, что конвергенция признаков является более поздним этапом — она характерна для далеко продвинутых стадий опухоли, характеризующихся значительной степенью эмбрионализации. Однако для промежуточных, переходных состояний характерно увеличение разнообразия признаков (дивергенция). Процесс дифференцировки напоминает процесс эмбриогенеза: чтобы достичь зрелой формы, организм проходит программы предшествующих форм. Очевидно, промежуточное состояние дифференцировки клетки иногда представляет собой этапы, при которых используются программы дифференцировки другой ткани. Поэтому в опухоли можно обнаружить нередко клетки, характерные для других тканей. Наличие таких переходных состояний дифференцировки и доля таких клеток в ткани создают широкий спектр возможных сочетаний опухолевых признаков.

Таким образом, противоречие между концепцией «конвергенции» опухолевых признаков и фактами, свидетельствующими в пользу «дивергенции» признаков, разрешается, поскольку эти состояния присущи разным фазам опухолевой прогрессии: для промежуточных характерна дивергенция, для поздних стадий опухолевой прогрессии — конвергенция.

## **9. Кейлоны и механизм регуляции пролиферации**

Тканевую регуляцию пролиферции на основе обратной связи необходимо рассматривать с точки зрения функций, которые она выполняет в ткани. Среди них важнейшей функцией является со-

хранение и восстановление клеточного гомеостаза тканей. Как же осуществляется регуляция пролиферации?

Взаимоотношения между пролиферирующими и дифференцированными, неспособными к пролиферации клеточными популяциями ткани были рассмотрены в модели регуляции роста, предложенной R.Weiss и J.Kavanau в 1957 г. Согласно этой модели, ткань состоит из двух компонентов: генеративного (пролиферирующие клетки) и дифференцированного (специализированные клетки, неспособные к делению). Генеративные клетки содержат специфические внутриклеточные вещества — матрицы, стимулирующие их новообразование. Дифференцированные клетки вырабатывают антиматрицы, которые, будучи комплементарны матрицам, нейтрализуют их действие и замедляют рост ткани.

Согласно рассматриваемой модели, рост ткани регулируется путем взаимодействия дифференцированного и генеративного компонентов по принципу отрицательной обратной связи. Изменениями в соотношении количества матриц и антиматриц авторы объясняют рост тканей в онтогенезе, баланс между приростом и убылью ткани в отсутствие ее роста, а также процесс регенерации ткани.

Концепция роли отрицательной обратной связи в регуляции клеточного размножения получила дальнейшее развитие в работах W.S.Bullough и E.V.Laurence (1960), а также O.H.Iversen (1960).

Согласно W.S.Bullough и T. Rytömaa (1965), в ткани имеются четыре группы клеток: 1) размножающиеся; 2) незрелые; 3) зрелые; 4) необратимо дифференцированные, находящиеся на пути к отмиранию. Тканевый гомеостаз регулируется отрицательной обратной связью — эту роль выполняют кейлоны, которые вырабатываются в дифференцированных клетках и действуют на размножающиеся клетки.

V.Bond и соавт.(1965) в состав обновляющейся клеточной системы включают четыре категории клеток: 1) стволовые; 2) клетки, характеризующиеся параллельно протекающими процессами размножения и дифференцировки; 3) созревающие (коммитированные); 4) функционирующие.

Если зрелые и незрелые клетки отнести к резервной части, то система будет включать в себя три компонента. Трехкомпонентная модель была впервые предложена В.И.Прилуцким и Ю.А.Романовым (1968). Согласно точке зрения этих авторов, в ткани можно выделить следующие группы: 1) собственно пролиферирующий пул — совокупность клеток, которые находятся в митотическом цикле; 2) фиксированный пул — совокупность клеток, потерявших способность к пролиферации; 3) баллотирующийся пул — совокупность клеток, которые могут переходить или в пролиферативный пул с вероятностью  $P$ , или в фиксиро-

ванный пул с вероятностью I-P при тех же условиях существования, в каких находятся клетки первого и второго пулов.

При различных состояниях системы гомеостаз определяется значением P (возможность клеток вступать в пролиферацию или переходить в фиксированный пул) и величиной клеточных потерь. Модель предсказывает состояние системы: гомеостаз, рост, вырождение. Формализованное, модельное описание функционирования тканевого гомеостаза дает представление о тканевой регуляции как механизме, основанном на принципах саморегуляции, свойственных кибернетическим системам. Такой механизм может работать в определенном диапазоне нагрузок. Следовательно, правомерен вопрос о допустимых нагрузках на тканевый гомеостаз и условиях, при которых механизм контроля нарушается. Подход к проблеме рака с позиции нарушения тканевого гомеостаза совершенно по-новому объясняет суть нарушения деления и дифференцировки клеток. Например, почему различные по природе канцерогенные факторы вызывают один и тот же конечный результат. Важно отметить, что величина P в трехкомпонентной модели клеточной системы, определяющая соотношение между количеством клеток, выходящих из баллотирующего пула в пролиферативный и фиксированный пулы, зависит от состояния баллотирующихся клеток (различия в степени их чувствительности к инициаторам пролиферации или дифференцировки), а с другой стороны, от соотношения в ткани концентраций факторов, инициирующих пролиферацию или дифференцировку клеток.

Таким образом, независимо от различия в подходах общим условием равновесия между стволовыми, коммитированными и дифференцированными клетками является поддержание обратной связи между дифференцированными и стволовыми клетками, где кейлоны выполняют функцию обратной связи. Однако рассмотренные модели регуляции пролиферации не учитывают основной фактор нарушения системы гомеостаза: при интенсивной, длительной пролиферации увеличивается степень омоложения клеток, что резко изменяет условие функционирования гомеостаза. Поэтому вопрос о механизме рака с позиции тканевого контроля в этих моделях оставался открытым либо не поднимался. Рассмотренные модели тканевой регуляции не изменили концептуальной основы представлений о канцерогенезе и не ставили такой цели. Механизм трансформации по-прежнему связывался с нарушением генов, а не тканевого гомеостаза. Иначе говоря, концепции тканевой регуляции не составили конкуренции основным теориям рака. В отличие от рассмотренных концепций в тканевой теории механизм канцерогенеза конкретизируется на новой основе. В основе нарушения контроля пролиферации лежит разрушение тканевого гомеостаза в результате прогрессирующей эмбрионализации. Система тканевой регуляции

работает как интегратор: на ее вход оказывают воздействие различные патогенные факторы, возмущающие работу, на выход — компенсаторное усиление пролиферации. Следовательно, тканевый гомеостаз представляет собой механизм общего знаменателя, поиски которого длительное время велись на уровне клетки. Поскольку механизм интерграции, унификации канцерогенных воздействий, обнаружен, то вопрос о построении общей теории рака приобретает конкретизацию и сводится к нескольким проблемам: как нарушается гомеостаз и каким должен быть уровень воздействия, чтобы вызвать опухолообразование. Ускоренная пролиферация вызывает обратимую блокировку дифференцировки, что приводит к эмбрионализации ткани, процесс накопления, аккумуляирования недифференцированных клеток постепенно искажает структуру тканевого гомеостаза, от которого зависит нормальное функционирование контроля пролиферации. Нарушение тканевого контроля приводит к неконтролируемому злокачественному росту клоногенных мало дифференцированных клеток, обладающих активизированными онкогенами и злокачественным фенотипом.

Таким образом, в тканевой модели объединены динамические параметры тканевого гомеостаза (относящиеся к проблеме кинетики клеточных популяций, динамики воспроизводства тканей) со структурными характеристиками гомеостаза; количественного соотношения между клеточными пулами, образующими контур обратной связи. При этом обнаружилась закономерность: постоянство структурного компонента зависит от динамических параметров. Такая взаимозависимость структуры и функции в тканевом гомеостазе является фундаментальным свойством биологических систем. То, что эта закономерность определяет сущность и механизм опухолевого роста, говорит о том, что канцерогенез затрагивает основу жизни, сущность биологической организации, как это и указывалось видными учеными.

Многие авторы подчеркивают, что возникновение рака тесно связано с ускоренной пролиферацией нормальных клеток (Балаж, 1987). Элерт в своем обзоре (Oehlert, 1973) указал, что в опухолях постоянно обновляется свыше 80% исходной ткани. Согласно А.Балажу, это означает, что между ускорением пролиферации клеток и возникновением рака существует прямая связь. В тканевой модели отмеченная закономерность впервые получила рациональное объяснение как с теоретической точки зрения, так и с точки зрения эмпирических данных.

Отметим, что в рамках тканевой модели получает объяснение проблема поликлональности опухолей, опухолевого поля, проблема множественности фокусов трансформации *in vitro*. Учитывая наличие стволовых клеток, которые обладают фенотипом, подобным опухолевым клеткам, а также активизированными онкогена-

ми, проблема поликлональности получает рациональное объяснение, поскольку речь идет об условиях, при которых стволовые клетки активизируются, становятся клоногенными и переходят к неконтролируемому росту. При этом имеют место в ряде случаев переходные доброкачественные формы опухолеобразования. В рамках одного опухолевого поля часто обнаруживаются участки с различной степенью развития опухолевого процесса. С позиции тканевой модели эти факты получают рациональное обоснование — опухолевая прогрессия ставится в прямую зависимость от степени эмбрионализации того или иного участка ткани.

Опухолевое поле — это измененный участок ткани с измененным режимом пролиферации, т.е. это начальная фаза опухолеобразования. Обширность поражения и продвинутость процесса зависит от степени нарушения тканевого гомеостаза и определяет, сколько фокусов пролиферации возникнет в данном участке ткани. Количество же фокусов трансформации *in vitro* определяется количеством активизировавшихся стволовых клеток. Таким образом, эти проблемы получают рациональное обоснование с позиции роли стволовых клеток при опухолеобразовании в результате нарушения тканевого гомеостаза. Стволовые клоногенные клетки являются потенциальным источником опухолевых клеток.

Перейдем теперь к анализу природы и функции кейлонов. Какова природа веществ, осуществляющих тканевый контроль, что является носителем обратной связи?

Наиболее полно свойства кейлонов описаны Iversen (1976). Эти вещества продуцируются и присутствуют в тех тканях, на которые они селективно влияют; они могут действовать местно, путем диффузии через ткань или посредством систем циркуляции; кейлоны водорастворимы; обладают тканеспецифичностью, но не видоспецифичностью; действуют в поздней G<sub>1</sub>-фазе клеточного цикла, предотвращая вступление клеток в синтез ДНК, или в поздней G<sub>2</sub>-фазе, контролируя митотическую активность; действие кейлонов кратковременно и обратимо; они не повреждают клетки или клеточные мембраны. Кратковременность действия кейлонов объясняют присутствием антагонистов-антикейлонов. Можно полагать, что эту роль выполняют факторы роста (ФР), т.е. кейлоны реализуют отрицательную обратную связь, а ФР — положительную.

В 1965 г. W.S. Bullough предположил, что кейлоны, будучи веществами, влияющими на геном клетки, могут одновременно индуцировать дифференцировку и ингибировать митотическое деление клеток. Он обратил внимание на то, что эпидермоциты шиповатого и зернистого слоев, находящиеся в зоне повышенной концентрации эпидермального кейлона, не пролиферируют, но именно эти клетки активно синтезируют кератины. Одним из показателей степени дифференцированное™ клеток является их

способность синтезировать тканеспецифические белки. Показано (Attaloh, Housk, 1976), что под влиянием кейлонов изменяется интенсивность включения аминокислоты и уридина в культивируемые лимфоциты в условиях их стимуляции лектинами. J.C.Housk и соавт.(1973) показали, что добавление в культуру лимфоцитов соответствующего кейлона приводит не только к блокированию пролиферации клеток, но и к уменьшению выхода из них фактора, ингибирующего миграцию макрофагов. Н.В.Венестад и Т.Рютöмаа (1973) привели данные об ускорении созревания мышинных гранулоцитов под влиянием кейлонов. Согласно точке зрения Ю.А.Романова и др.(1984), тканеспецифические ингибиторы клеточного деления могут усиливать дифференцировку клеточных элементов ткани.

Наряду с кейлонами предполагается действие антикейлонов, которые оказывают влияние, маскирующее эффект кейлонов. Одна из гипотез относительно антикейлонов рассматривается в работе R.Bjerkness и O.H. Iversen (1974). Согласно этой гипотезе, антикейлон является химическим веществом, блокирующим действие кейлонов или связывающим их. Он локализуется в камбиальных клетках и, возможно, является одним из лизосомных ферментов. То, что антикейлон связан с ферментами лизосом, очевидно, имеет определенный биологический смысл: поскольку повышенная гибель клеток стимулирует пролиферацию, а гибель клеток связана с ферментами лизосом, то опосредованно они ингибируют действие кейлона. Более простое, рациональное объяснение состоит в том, что роль антикейлona выполняют факторы роста, синтезируемые клоногенными клетками.

Регуляция размножения клеток не ограничивается механизмами, действующими на уровне ткани. Важная роль в осуществлении контроля за пролиферацией принадлежит внетканевым уровням регуляции, действие которых реализуется через внутритканевые механизмы.

Участие кейлонов в механизме тканевого контроля пролиферации подтверждается обнаруженным ритмическим изменением пролиферативных процессов. Это предположение было высказано W.S.Bullough в 1969 г. Согласно автору, суточный ритм митотической активности зависит от состояния в тканях комплекса кейлон — адреналин, причем основное значение отводится ритмичности колебаний в тканях концентрации адреналина. Согласно этой гипотезе, ведущая роль в регуляции ритма митозов принадлежит организменному, а не тканевым факторам.

Ю.М.Романов и др.(1984) пришли к выводу, что созревание эпидермиса приводит к становлению функциональной активности клеток и что комплекс рецептор — кейлон может участвовать также в организации пространственной структуры ткани (например, эпи-



дермально-пролиферативных единиц), выполняя при этом функции контактинов (Маленков, Ямскова и др., 1977) или адгезивных факторов. Данное предположение подтверждается тем, что незначительное повреждение эпидермиса приводит к массовому перемещению клеток в верхние слои, при котором утрачиваются контакты между клетками и наступает пространственная дезорганизация эпидермиса. Через определенное время происходит восстановление структуры эпидермиса за счет клеток ростового слоя. Сходство процессов морфогенеза и регенерации отмечается многими авторами, что указывает на общность их реализации. Для обоснования этой картины S.Bertsch и F.Marks (1974) выдвинули гипотезу, согласно которой в процессе гистогенеза тканей камбиальные клетки (клетки — мишени для кейлонов) представлены в основном плюрипотентными стволовыми эпидермоцитами, нечувствительными к действию кейлонов. В процессе развития происходит замена этой популяции клеток на другую — чувствительную к ингибитору. При регенерации, согласно авторам, обратная замена популяции является следствием дедифференцировки.

В противовес приведенной гипотезе Ю.А.Романов и др. (1984) выдвинули гипотезу, которая исходит из того, что ведущим в организации пространственной структуры, появлении чувствительности эпидермоцитов к кейлонам и повреждению целостности ткани является отсутствие или наличие у клеток мембранных рецепторов к кейлонам. В случае гистогенеза должно происходить их становление, при регенерации же тканей рецепторы не утрачиваются, а наступает диссоциация кейлона и рецептора, что способствует удалению ингибитора из ткани и последующей пролиферации. Представление о кейлонах как об адгезивных факторах высказывалось и раньше, но в основу было положено представление об их сходстве. Согласно гипотезе Ю.А.Романова и др. (1984), основную роль играет кейлонспецифический рецептор, который появляется на мембране клетки в процессе гистогенеза позже, чем кейлоны, и имеет, по-видимому, определенную скорость обновления. Этот рецептор изменяется или отсутствует в определенные периоды клеточного цикла, а также в трансформированных клетках. С нашей точки зрения, необходимо учесть, что степень дифференцировки клеток определяет зрелость морфогенетической картины, поэтому при регенерации в силу омоложения клеток появляется пространственная дезорганизация эпидермиса, которая по мере созревания нормализуется. Кейлоны синтезируются дифференцированными клетками, поэтому омоложение приводит к снижению содержания кейлонов и разрушению отрицательной обратной связи между дифференцированными и недифференцированными клетками. Данные показывают, что молекулы адгезии появляются в результате дифференциров-

ки клеток. Согласно Ю.А.Романову и др., включение кейлонного механизма происходит после того, как программа гистогенеза исчерпывается и ткань переходит на саморегуляцию поддержания постоянства клеточных элементов, из которых она состоит.

Делая обобщение, Ю.А.Романов и др. (1984, с. 140) пишут: «В общем виде предлагаемая нами гипотеза сводится к тому, что в процессе гистогенеза клетки приобретают способность синтезировать кейлон, а после окончания развития ткани — отвечать на его действие, что связано с развитием в клетках рецепторов, специфически реагирующих на эндогенные ингибиторы. С этой гипотезой не согласуются данные, полученные на птицах и низших позвоночных, которые свидетельствуют о существовании чувствительности эмбриональных клеток печени, миокарда, кишки и пронефроса к действию соответствующих кейлонов, полученных из тех же органов взрослых животных».

Противоречие между гипотезой и фактами опровергает предложенную гипотезу. Факты же в данном случае подтверждают положение о том, что в тканевой системе существует отрицательная обратная связь между дифференцированными и незрелыми, низкодифференцированными клетками. Можно предложить такую модель. По мере дифференцировки клеток, в процессе гистогенеза ткани, при достижении определенного численного состава и степени дифференциации они выделяют определенную дозу кейлона, митозингибирующий эффект которого достигает необходимой силы для удержания пролиферации клоногенных клеток под контролем. Иначе говоря, количество дифференцированных клеток определяет количество кейлона и его митозингибирующий эффект. Такая взаимосвязь между количеством дифференцированных, недифференцированных клеток и дозой кейлонов и факторов роста позволяет удерживать тканевый гомеостаз и воспроизводить его.

Положение о том, что кейлоны появляются в результате дифференцировки клеток (т.е. синтезируются зрелыми клетками) и, наоборот, исчезают при омоложении ткани, подтверждается многочисленными данными. Во многих экспериментах показано, что кейлонная активность исчезает в регенерирующей ткани и в опухолевых узелках. В одном из экспериментов для повреждения эпидермиса использовали три типа воздействия: удаление дифференцированных слоев с помощью липкой ленты, аппликации кротонного масла и МХ. Во всех трех экспериментах Огкейлонная активность исчезала (Rohrbach et al., 1976). Уменьшение концентрации (или активности) кейлонов обнаружено также при гепатоканцерогенезе (Volm et al., 1969).

В ряде экспериментов было показано (Barbason et al., 1976, 1977, 1979), что на ранних этапах канцерогенеза еще сохранен кейлонный механизм регуляции, но на стадии формирования опухоле-

вых узлов этот механизм нарушается. На основании данных по изменению кейлонной активности при канцерогенезе Ю.А.Романов и др. (1984, с. 158) делают следующий вывод, они пишут: «Данные о корреляции между нормальным функционированием гомеостатического механизма и синтезом биологически активного гепатоциарного кейлона в различные периоды канцерогенеза позволяют предположить первопричинность изменений в системе кейлонной регуляции деления клеток при злокачественном росте. Например, неоднократно высказывалось предположение о том, что канцерогенный фактор избирательно повреждает кейлоны».

В данной гипотезе, с нашей точки зрения, верно отмечается корреляция между опухолеобразованием и биологической активностью кейлона, но из данных не следует, что механизм рака обусловлен повреждением молекул кейлонов канцерогенами. С позиции тканевого подхода имеющиеся данные позволяют выдвинуть следующую концепцию. Стимуляция хронической пролиферации в ткани в результате канцерогенного воздействия вызывает омоложение ткани, однако молодые клетки не синтезируют кейлоны, поэтому концентрация кейлона в регенерирующих и опухолевых тканях резко снижается.

Отметим, что отдельные положения тканевой теории в виде родственных гипотез встречаются в литературе. Однако ни в одной из гипотез нет решения проблемы механизма общего знаменателя. Согласно взглядам Г.И.Абелева (1988), мишенью канцерогенов является тканевый гомеостаз, а источником опухолевых клеток — стволовые клетки, поскольку они обладают способностью к самоподдержанию (аутокринный механизм стимуляции митоза). Однако в этой гипотезе не указывается, каков механизм повреждения тканевого гомеостаза, в частности неизвестным остается роль эмбрионализации ткани, роль генотоксического фактора также неясна. Эти проблемы и ряд других получили рациональное решение в тканевой теории рака (Черезов, 1987, 1990, 1993).

Представляет интерес гипотеза (Robinson et al., 1971), согласно которой резкое снижение в крови и кроветворных органах больных острым миелоидным лейкозом количества зрелых элементов миелоидного ряда может быть причиной дефицита факторов, выделяемых для продолжения созревания молодых миелоидных клеток.

Группа канадских авторов (Phipps et al., 1990) выдвинула новую модель канцерогенеза. Модель основана на плюрипотентных стволовых клетках (ПСК), которые взаимодействуют, воспроизводят себя, поддерживают пространственную организацию межклеточных связей (МС). Тканевый гомеостаз обеспечивается тем, что клетки поддерживают зрелый фенотип благодаря сигналам, передающимся через МС от соседних клеток и влияющим на экспрес-

сию генов. При нарушении МС (в результате повреждения ткани или некроза) клетки восстанавливают способность к пролиферации, при восстановлении МС пролиферация возвращается к норме. При постоянном нарушении МС в результате действия физических, генетических или химических факторов возникает постоянная пролиферация, что приводит к неоплазии. Такая ситуация возникает в случае извращения метаболической кооперации благодаря «положительным обратным связям», возникающим под действием паракринных или аутокринных факторов. В результате клетки оказываются «запертыми» в постоянно пролиферирующей системе. В пользу такой модели, как считают авторы, свидетельствуют данные о роли МС, осуществляемых через щелевые контакты, в регуляции метаболизма пролиферации и дифференцировки клеток и об изменениях МС при опухолевом росте.

С нашей точки зрения, в данной концепции нащупывается новый подход к механизму канцерогенеза, но, исходя из модели, неясно, что происходит в результате длительной интенсивной пролиферации, каков механизм общего знаменателя, какова роль омоложения клеточного состава ткани, отсутствует привязка к кейлонному механизму: какова роль его в механизме опухолеобразования? Можно сказать, что краеугольной проблемой при выдвигании новых концепций рака является проблема механизма общего знаменателя — без определенности по этому вопросу трудно говорить о построении новой теории и ее продвинутое™ по сравнению с конкурирующими концепциями.

Согласно многочисленным данным, тканевый гомеостаз во взрослом организме поддерживается кейлонами, осуществляющими функцию отрицательной обратной связи, и положительными индукторами, факторами роста, стимулирующими пролиферацию (Bullough, 1967; Lajtha, Schfield, 1974).

На примере птиц и низших позвоночных установлено, что кейлоны из тканей взрослых особей оказывают отчетливый ингибирующий тканеспецифический эффект на размножение эмбриональных клеток (Романов и др., 1984). Это означает, что обратная связь нарушается на уровне клеток, синтезирующих кейлон, а не клеток, воспринимающих его, т.е. нарушается передача сигнала. Следовательно, введение дополнительных доз кейлона должно приводить к нормализации ткани, что подтверждается данными.

Представление о том, что химические канцерогены специфически блокируют кейлоны (путем связывания их), было в дальнейшем опровергнуто. Серьезным доводом против представлений об избирательном блокировании кейлонов является тот факт, что исчезновение кейлонной активности наблюдали после острого лучевого (Elgio, Devik, 1978) и механического (Rohebach et al., 1977) повреждений эпидермиса, после аппликации канцерогенно-

го (Rohrbach et al., 1972, 1974; Rohrbach, Laerum, 1974; Iversen, 1975) и неканцерогенного (Rohrbach et al., 1976) соединений.

Согласно тканевой модели неспецифичность реакции на повреждающий фактор связана с компенсаторной пролиферацией, т.е. вторичной реакцией и омоложением клеток, что приводит к дефициту кейлонов. Данная точка зрения согласуется с выводом R.Rohrbach (1975) о том, что повреждения дифференцированных клеток, синтезирующих кейлон, вызывают дефицит ингибиторов, поэтому необходимо время для того, чтобы клеточная популяция, восполняющая дефект ткани, дифференцировалась и начала синтезировать кейлон.

Насколько рассмотренные факты, касающиеся кейлонного механизма, подтверждают тканевую теорию рака? Исходя из тканевой модели, можно ожидать, что поскольку опухолеобразование сопровождается омоложением, а кейлоны синтезируются дифференцированными клетками, то их активность должна снижаться в процессе канцерогенеза, а также при регенераторных процессах. Синтез биологически активных кейлонов обнаружен во многих экспериментальных онкологических моделях, в подавляющем большинстве случаев авторы отмечают снижение активности ингибиторов в опухолях. Так, имеются данные (Rohrbach et al., 1977) о том, что в индуцированных папилломах и раке кожи мышей активность кейлонов снижена на 10 — 20% по сравнению с таковой в нормальной коже. W.S.Bullough (1975) показал, что концентрация кейлонов в опухолях составляет 10% от нормальной. Меньшая концентрация кейлонов, чем в исходной нормальной ткани, была обнаружена в гепатомах крыс, клетках хронического миелолейкоза людей.

Согласно точке зрения Ю.А.Романова и др.(1984, с.164), низкая активность опухолевых экстрактов кейлонов объясняется скорее снижением содержания кейлонов в опухолях, а не уменьшением их активности. Альтернативное предположение заключается в том, что кейлоны утрачиваются опухолевыми клетками в результате нарушения проницаемости наружных мембран и выхода их в кроветок. Делая заключение, Ю.А.Романов и др. (1984, с.166) пишут: «Таким образом, нельзя признать справедливым утверждение, что в опухолях отсутствует кейлонная саморегуляция по принципу обратной связи. Однако очевидно, что по сравнению с нормальными тканями кейлонная регуляция пролиферации малигнизированных клеток ослаблена и осуществляется на качественно другом уройне».

Если положение относительно тканевого механизма канцерогенеза и участия в нем кейлонов верно, то кейлоны из опухолевых тканей и кейлоны из нормальных тканей должны быть идентичны.

Такие эксперименты были выполнены с опухолями кожи крыс, индуцированными многократными смазываниями раствором ДМБА (Окулов, 1979). При определении в них концентрации Ог-кейллона иммунодиффузионным методом оказалось, что этот показатель в 4 раза ниже, чем в нормальном эпидермисе. Однако при введении мышам спиртовых экстрактов, выделенных из нормальной кожи и плоскоклеточного рака, в дозах, содержащих эквивалентное количество эпидермальных О2-кейлонов (по 33 мкг), обнаруженный митозингибирующий эффект был одинаковым. Биохимический анализ иммунохимически чистых кейлонов, выделенных из нормальных и опухолевых тканей с помощью антител, показал отсутствие различий в молекулярной массе, изоэлектрической точке, электрофоретической подвижности и первичном строении молекул в обеих тканях.

Таким образом, снижение активности кейлонов в регенерирующих и опухолевых тканях обусловлено количественным снижением синтезируемых кейлонов ввиду омоложения ткани. Прослеживается определенный параллелизм между характером изменений кейлонов в регенерирующей ткани и опухолях. Полученные результаты говорят о хорошей согласованности между тканевой теорией и экспериментальными данными. С позиции тканевой модели кейлонный механизм регуляции нарушается не в результате генетических изменений или повреждений кейлонов канцерогенами, а в результате прогрессирующей эмбрионализации.

Ряд ученых подходили к идее нарушения тканевой регуляции как причины рака, но идея не была конкретизирована, поэтому эти концепции остались в стороне от ведущего направления молекулярно-генетической теории и предшествующих ей мутационной, вирусной, вирусогенетической концепций. Но в концепциях, не получивших широкого признания, связывающих рак с тканевыми изменениями, имеется рациональная основа, которая при развитии на современном материале в рамках тканевой теории вбирает в себя теорию онкогена. Речь идет о двух направлениях — одно из которых доминировало, а второе оставалось в зачаточном состоянии. Необходимо объединить их на новой основе тканевого подхода, при этом все ценные идеи, в каждом направлении, войдут в общую теорию опухолеобразования.

Рассмотрим ряд идей, приближающихся к тканевой модели.

Еще в 1936 г. Murphy J.V. предположил, что развитие опухолей может быть вызвано нарушением равновесия между стимуляторами и ингибиторами. В других работах подчеркивается, что при развитии опухолей нарушается дифференцировка. Согласно Pierce G.V. (1970), нарушение, вызываемое канцерогенезом, заключается в изменении регуляции дифференцировки. Sachs L. (1978) указывает на одновременное нарушение пролиферации и дифференцировки,

он пишет: 4...непрерывное размножение клеток при лейкозе обусловлено блокированием клеточной дифференцировки, что ведет к прекращению образования ингибитора, действующего по принципу обратной связи». На этом же принципе основана гипотеза Pedersen В. (1975), согласно которой на начальной стадии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) возникает гиперплазия гранулопоэтических клеток, вызванная нарушением гормональной регуляции. Предполагается, что на этом этапе образуется меньше стимулятора (колониестимулирующего фактора) и поэтому клетки задерживаются на стадии недифференцированных коммитированных клеток — прародителей гранулоцитов и моноцитов. Тот факт, что в клетках ХМЛ, культивируемых в геле, можно индуцировать нормальную дифференцировку гранулоцитов-моноцитов путем добавления указанного стимулятора, Педерсен рассматривает как доказательство выдвинутой гипотезы.

Хотя приведенные гипотезы подтверждают идею тканевого подхода, остается не выясненным до конца, каков же механизм рака. Однако факт появления таких гипотез говорит о том, что авторы опирались на данные, которые не вошли в традиционный генетический подход и могут быть интерпретированы иначе — с позиции нарушения тканевого контроля.

При молекулярно-генетическом подходе в рамках теории онкогена факты, касающиеся роли тканевого контроля, остаются за скобками. Именно эти факты стали основанием концепций, акцентирующих внимание на нарушении дифференцировки, ускоренной пролиферации, эмбрионализации, снижении активности кейлонов, т.е. процессах, затрагивающих уровень тканевой регуляции и его нарушение. Существование таких концепций говорит о том, что тканевая теория возникла не на пустом месте, она обобщила группу идей и концепций, не вписавшихся в доминирующее направление. Однако задача тканевой теории состоит в объединении двух направлений теоретической онкологии, в установлении связи изменений тканевого уровня с клеточным и генетическим (неконтролируемым опухолевым ростом, активизацией онкогенов).

Давая общее осмысление канцерогенеза, Лео Сакс отмечает основную закономерность (1986, с. 14), он пишет: «Клетки тела происходят из предшественников, называемых стволовыми клетками. Стволовые клетки могут быстро делиться, но их потомки, превратившись в результате созревания и дифференцировки в специализированные формы, обычно прекращают деление... процессы размножения и дифференцировки находятся в гармонии: размножение стволовых клеток обеспечивает образование и рост новых тканей и восполнение отмерших, при этом прекращение деления клеток после достижения ими конечной стадии своего развития держит их размножение под контролем. При раке эта гармония разрушает-

ся: появляется слишком много незрелых размножающихся клеток». Хотя это описание дает общую картину процесса, оно верно акцентирует внимание на нарушении гармонии между дифференцированными и недифференцированными клетками в структуре тканевого гомеостаза. Важно отметить, что первая фаза нарушения тканевой гармонии обратима: прекращение канцерогенного воздействия приводит к нормализации ткани — гармония восстанавливается. Нарушение дифференцировки обратимо и связано с увеличением скорости компенсаторной пролиферации, поэтому снижение уровня пролиферации до нормы приводит к нормализации дифференцировки, т.е. блокировка дифференцировки при раке обратима, следовательно, блокировка дифференцировки не связана с необратимыми изменениями генома. Во второй стадии опухолеобразования теряется способность к спонтанной нормализации, процесс опухолеобразования приобретает необратимость, если не вмешиваться извне. Это связано с устройством тканевого гомеостаза: длительное накопление количественных изменений в виде эмбрионализации ткани приводит к искажению тканевой структуры, лежащей в основе механизма саморегуляции. Можно сказать, структура гомеостаза «течет» или «плавится» при длительных повышенных режимах пролиферации. Таким образом, причину неконтролируемого злокачественного роста можно объяснить, не прибегая к представлениям о деструктивном (мутационном) нарушении онкогенов, хромосом.

Нарушением традиционных представлений о канцерогенезе являются эпигенетические концепции рака, которые можно рассматривать как промежуточный переходный этап на пути к тканевой модели.

Так, Heidelberg C. (1975) и другие авторы не рассматривают онкогенез как результат генетических мутаций; они подчеркивают, что многие канцерогены не вызывают мутаций, а большинство сильных мутагенов не онкогены. Согласно точке зрения этих авторов, онкогенез возникает вследствие обратимого изменения экспрессии генов, которое по теории Jacob F., Monod J. (1963, 1961) можно объяснить взаимодействием между канцерогеном и репрессорным белком. В этих концепциях наблюдается отход от идеи необратимого нарушения генома (онкогенов), поскольку опухолевые клетки, как показывают экспериментальные данные, способны к нормализации, с другой стороны, сохранилась идея «клеточности», согласно которой механизм рака реализуется на уровне клетки. Заметим, что данные по нормализации опухолевых клеток в результате дифференцировки позволяют отказаться от этой идеи.

Как можно доказать, что нарушение тканевого контроля при наличии клоногенных клеток, обладающих активными онкогенами, является достаточным условием для развития опухолеобразова-



ния? Об этом свидетельствуют данные, показывающие, что клоногенные стволовые клетки, не будучи подвергнутыми канцерогенному воздействию, проявляют злокачественный инвазивный рост при трансплантации в другой организм либо они малигнизируются при длительном культивировании *in vitro* (Spreen H., 1942; Уолдингтон, 1947). Данные Тортклис (1969) также показали, что нормальные клоногенные клетки инвазивно прорастают в чужеродные ткани; например, диссоциированные клетки щитовидной железы мышей, интенсивно продуцирующие тиреоглобулин, при введении в легкие экспериментальных животных пролиферировали, подобно метастазирующим раковым клеткам. Эти факты коррелируют с данными по спонтанной малигнизации *in vitro*.

Тканевая модель канцерогенеза по-новому интерпретирует данные, многие из которых не имели объяснения, при этом не происходит логических нарушений и обнаруживается разносторонняя согласованность с экспериментальными данными.

Характерно, что новая теория опирается на те факты, которые «неудобны», так как не имеют объяснения с точки зрения молекулярно-генетической теории. Целый ряд данных впервые получил объяснение, в частности факты, относящиеся к проблеме «канцерогенности» повышенных доз гормонов и механизму гормонального рака. Как соотносятся старая и новая теории, может ли тканевая теория вобрать в себя, снять молекулярно-генетическую теорию? Задача новой теории — не противопоставлять одно направление другому, а объединить их, т.е. основная идея теории онкогена должна органично войти в тканевую теорию. Для этого надо произвести идентификацию и отождествление двух идей с позиции активизации онкогенов.

Очевидно, что идея выхода из-под контроля стволовых клеток (данные показывают, что они обладают полным набором фенотипических злокачественных свойств и активизированными онкогенами) и есть альтернативная идея, способная заменить концепцию, основанную на мутационной гипотезе. В теоретическом плане если стволовые клетки обладают потенциально злокачественными свойствами, то нарушение тканевого контроля является необходимым и достаточным условием канцерогенеза. И в первом и во втором варианте альтернативных подходов результат (активизация онкогенов и неконтролируемость деления) один и тот же. Совпадение конечного результата позволяет говорить о правомерности замены, т.е. основная идея теории онкогена органично вошла в тканевую теорию, но достигается конечный результат иным путем, за счет нарушения тканевого механизма контроля пролиферации. Следовательно, тканевая теория вбирает в себя (снимает) теорию онкогена, являясь синтетической моделью.

## **10. Стволовые клетки в системе тканевого гомеостаза**

Тканевый гомеостаз обеспечивает поддержание постоянства общей массы клеток каждого типа, т.е. удерживает в постоянстве соотношение между стволовыми, коммитированными, дифференцированными клетками.

Стволовые клетки образуют самоподдерживающуюся популяцию, потомки их дифференцируются в нескольких направлениях под влиянием факторов дифференцировки, образуя клетки-предшественники и далее дифференцированные формы.

При вступлении стволовой клетки на путь дифференцировки возникают полустволовые, затем дифференцированные клетки со специфической функцией. Выход стволовой клетки из популяции служит сигналом для деления другой стволовой клетки по типу некоммутирующегося митоза. Общая численность стволовых клеток в условиях нормальной жизнедеятельности сохраняется постоянной.

Совокупность клеток, развивающихся из одной стволовой клетки, составляет стволовый дифферон. Контур обратной связи образуется между дифференцированными клетками ткани, которые синтезируют кейлоны, и стволовыми. Кейлоны ингибируют деление стволовых клеток. Степень торможения деления зависит от концентрации кейлона, которая определяется численностью дифференцированных клеток. Возникает зависимость между численностью дифференцированных клеток, концентрацией кейлона и митозингибирующим эффектом. Экспериментальные данные показывают, что омоложение клеток приводит к снижению концентрации кейлона и соответственно уменьшению ингибирующей силы кейлонов.

Возникает вопрос: что общего между гибелью клеток при канцерогенном воздействии, ускоренной пролиферацией, омоложением клеток, нарушением структуры тканевого гомеостаза и неконтролируемым опухолевым ростом? Эти кажущиеся разнородными, не связанные между собой проявления опухолеобразования в тканевой теории соединились в одну взаимоувязанную систему, в которой последовательность событий каждого из составляющих звеньев детерминирована предыдущим процессом. Выявленная в тканевой модели взаимообусловленность процессов и составляет ту логику событий, которая приводит к раку. Цепь взаимосвязанных факторов включает не только процессы, проходящие в клетке на уровне генома, как считали раньше, но и тканевые изменения.

Характерно, что процессы, определяющие опухолеобразование, являются неспецифическими. Это означает, что на начальных этапах опухолеобразования различие между регенераторным

и опухолевыми процессами чисто количественное, поэтому переход от предрака к раку зависит от степени эмбрионализации и деградации тканевого гомеостаза, что определяется канцерогенным профилем. Одна из особенностей тканевой теории состоит в том, что она позволяет объяснить многие факты, не получившие до сих пор объяснения в других концепциях, в частности почему поиски принципиальных отличий раковых клеток от нормальных (низкодифференцированных) не дали ожидаемого результата. Многие исследователи приходили к выводу после длительных поисков, что такие отличия отсутствуют.

Какие экспериментальные данные подтверждают тканевую модель?

Поскольку условием трансформации в новой теории является нарушение тканевого контроля в результате прогрессирующего омоложения ткани, то отсюда вытекают следствия, которые можно проверить. Первое следствие состоит в том, что поскольку трансформация клетки не связана с повреждением генома, то при дифференцировке раковые клетки должны нормализоваться. Отметим, что способность раковых клеток нормализоваться при дифференцировке разрушает теорию онкогена, а также эпигенетические концепции. Второе следствие сводится к тому, что поскольку обнаруживается подобие опухолевых и стволовых клеток, то это также можно проверить: следует ожидать, что стволовые клетки при изоляции и трансплантации должны проявлять злокачественный рост. И первое, и второе следствия получили экспериментальное подтверждение (Уоддингтон, 1947; Speman, 1942; Toptiklis, 1969, Дыбан, 1988). Если ввести мышам под кожу полипотентные клетки (Evans, Kaufman, 1983; Doetchman et al., 1985), полученные от нормальных зародышей, то у мышей возникают солидные тератокарциномы. Если же ввести эти клетки внутривнутрибрюшинно, образуется асцитная форма тератокарциномы.

Анализируя эти факты, А.П.Дыбан (1988, с. 35) пишет: «Таким образом, хотя эти клетки были выделены из нормальных зародышей, а не из тератокарциномы, они образуют тератокарциному (т.е. злокачественную опухоль), если попадают в эктопические места. Наряду с этим они способны участвовать в эмбриогенезе и осуществлять нормальную цитодифференцировку, если попадают в состав тела зародыша. ...Не только ЕС-клетки (стволовые клетки тератокарциномы), но и ЕК-клетки (стволовые клетки нормальных зародышей) в одних условиях проявляют себя как нормальные эмбриональные клетки, а в других условиях служат источником злокачественной опухоли». Таким образом, наше предположение о том, что опухолевые клетки — это стволовые клоногенные клетки, вышедшие из-под контроля в результате нарушения тканевого гомеостаза, подтверждается экспериментальными данными. С одной стороны,

это подтверждают известные данные по нормализации опухолевых клеток, с другой стороны, об этом свидетельствует проявление злокачественных свойств у стволовых клеток при трансплантации без канцерогенного воздействия.

Действительно, практически все известные маркеры рака обнаруживаются в эмбриональных тканях на определенных стадиях развития эмбриона (Биология маркеров рака и беременности. Киев, 1990), что доказывает идентичность опухолевых и стволовых клоногенных клеток. Иначе говоря, трансформация клоногенных стволовых клеток не результат генетических повреждений (онкогенов), а результат нарушения тканевого контроля.

Поскольку тканевый гомеостаз играет ведущую роль в механизме канцерогенеза, необходимо выяснить механизм воспроизводства тканевой системы. Что же такое ткань с позиции саморегуляции, воспроизводства?

Обратимся вначале к определению понятия ткани. Согласно точке зрения А.А.Клишова (1975), под тканью следует понимать специализированную для выполнения определенной функции систему клеток и их производных, характеризующихся специфической дифференцировкой и интеграцией, которые обусловлены однотипной фило- и онтогенетической детерминацией.

По мнению В.П.Михайлова и Г.С.Катинаса (1977), это определение «должно быть отнесено к числу наиболее удачных, отражающих современные представления, так как под однотипной фило- и онтогенетической детерминацией следует понимать программирование всего развития тканей, которое включает и синтез определяющих ее свойства белков». С нашей точки зрения, определение, предложенное А.А.Клишовым, является недостаточным, поскольку не отражает динамический характер ткани и тип тканевой системы. Самоорганизующиеся (гомеостатические) системы основаны на механизме обратной связи, что позволяет им выдерживать большие нагрузки патогенных воздействий, поэтому в определение должно войти понятие тканевого гомеостаза, что важно при анализе заболеваний, связанных с нарушением регенерации. Иными словами, ткань — это не только структура, но процесс в системе гомеостаза. Динамический аспект воспроизводства ткани является второй стороной ее структурной определенности, поскольку стабильность структуры зависит от динамики воспроизводства.

С нашей точки зрения, под тканью следует понимать надклеточную систему, выполняющую ту или иную функцию в составе органа, элементом которой являются клетки, характеризующиеся специфической дифференцировкой и интеграцией (обусловленными фило- и онтогенетической детерминацией), в основе которой лежит саморегулирующаяся система — тканевый гомеостаз, — обеспечивающая процесс воспроизводства ткани.

Достижения в изучении системно-структурной организации и биохимизма клеток отражены в определении ткани, которое дает А.А.Заварзин (1976), он пишет: «Под тканью в широком смысле понимают систему клеток и межклеточных структур, имеющих общие признаки морфобиохимической и системной организации и выполняющих общую функцию» (с. 23). В данном определении также отсутствует динамический аспект процесса воспроизводства.

Согласно В.П.Михайлову и Г.С.Катинасу (1977), «ткань — частная система организма, относящаяся к особому уровню его иерархической организации и включающая в себя в качестве ведущих элементов клетки, которые происходят от обладающих общей исторически сложившейся эпигеномной наследственностью стволовых клеток. Каждой ткани свойственны специфические функции». Хотя это верное определение, но подход к тканям с точки зрения понятия гомеостаза является более конкретным выражением функциональных свойств тканей.

Между клеточным уровнем и тканью можно выделить промежуточный уровень объединения клеток, называемый диффероном. Изучение гистогенеза ряда тканей позволило уточнить структурную организацию клеток, составляющих линии цитодифференцировки, на основе чего получило развитие учение о клеточных дифферонах.

Согласно А.А.Клишову (1984), клеточный дифферон — это совокупность клеточных форм, составляющих ту или иную линию дифференцировки. Его образуют клетки возрастающей степени зрелости одного гистогенетического ряда. Исходной формой линии клеточной дифференцировки (или клеточного дифферона) является стволовая клетка. Следующую стадию гистогенетического ряда образуют субстволовые (или коммитированные) клетки-предшественники, которые могут дифференцироваться (в отличие от стволовых) лишь в каком-то одном направлении. Дифферон (или гистогенетический ряд клеток) заканчивается стадией зрелых функционирующих клеток. Знание структуры ткани, ее организации важно с точки зрения механизма опухолеобразования. В процессе длительной стимуляции пролиферации появляются две тенденции изменения тканевой системы: увеличение количества дифферонов и искажение структуры дифферона — нарушается соотношение между стволовыми и дифференцированными клетками. Если первая тенденция характерна для доброкачественной стадии, то вторая характеризует злокачественные опухоли.

Следовательно, опухоль можно удержать в стабильном, доброкачественном состоянии, не давая перейти в злокачественную фазу путем повышения степени дифференцировки клеток и соответственно повышения концентрации кейлона. Имеющиеся данные показывают, что такие воздействия на опухоль в ряде случа-

ев приводят к полному излечению (Белоусова, 1993). Почему же не во всех случаях удается достичь успеха? Ответ можно дать в рамках концепции канцерогенного профиля. Положительный результат зависит от «пролиферативной нагрузки», т.е. имеет ли место канцерогенное воздействие, вызывающее пролиферацию, и какова сила этого воздействия. Параметры канцерогенного профиля, т.е. источника повышенной пролиферации, определяются также продолжительностью действия. За счет функциональных перестроек в организме источник пролиферации может исчезнуть, усилиться или стабилизироваться на одном уровне. Это изменчивое поведение источника повышенной пролиферации будет отражаться на поведении опухоли, определяя: 1) дальнейшую прогрессию; 2) регрессию; 3) доброкачественное состояние, т.е. стабилизацию на одном уровне. Данное положение о динамическом характере источника пролиферации и влиянии этого фактора на опухолеобразование является новым аспектом, имеющим прямое отношение к терапии опухолей.

Как же ткань реагирует на внешние патогенные воздействия и функциональные нагрузки?

Согласно А.А.Клишову (1984, с.151), с гистогенетических позиций «под реактивностью тканей следует понимать изменения основных закономерных процессов гистогенеза (пролиферации, дифференцировки и интеграции клеток), происходящие под действием внешних для ткани факторов».

При самых разнообразных воздействиях (травмы, стрессовые ситуации и т.п.) ткани реагируют прежде всего понижением или повышением пролиферативной активности клеток. Угнетение митотической активности или, наоборот, ее «вспышки» — непременные показатели реактивности тканей, наблюдаемые при действии ингибиторов или стимуляторов клеточных делений. В некоторых тканях признаком реактивного изменения пролиферации клеток является эндомиоз, приводящий к полистоидизации.

Реактивность тканей, кроме изменения степени пролиферации клеток, проявляется в изменении темпов и характера дифференцировки клеток. Например, механические воздействия на эпидермис вызывают явления гиперкератоза. Изменение соотношения клеточных дифферонов можно наблюдать в кишечном эпителии, в эпителии дыхательных путей и в других тканях при длительном воздействии на них повреждающих факторов. Реактивность тканей при таких воздействиях характеризуется явлениями дедифференцировки клеток.

При изменении функциональных нагрузок на ткань реактивно приспособительные изменения клеток проявляются в метаболических сдвигах, трофических нарушениях типа гипертрофии, дистрофических нарушениях, дистрофий, атрофии, гипо- или гипер-

секретий и т.д. При гипертрофии наблюдается гиперплазия внутриклеточных структур (митохондрий, эндоплазматической сети, специальных органелл) как морфологический эквивалент повышенной функциональной активности.

Реактивные изменения тканей во многом зависят от силы повреждающего фактора. Каждая ткань отличается генетически детерминированным диапазоном пластичности и изменчивости клеток. Например, при постоянных механических воздействиях на эпителиальную ткань она утолщается и ороговевает, а в тех участках, где клетки слущиваются вследствие постоянного давления или трения, клеточное деление происходит с очень высокой скоростью, так что утраченные клетки замещаются быстро.

Вывод о том, что должен существовать гомеостатический механизм, приводящий скорость размножения клеток в соответствие с их численностью, хорошо обоснован экспериментально и теоретически. Даже в медленно обновляющихся тканях небольшой, но постоянный дисбаланс между образованием и утратой клеток привел бы к необратимым последствиям. Например, если удалить у крысы две трети печени, то оставшаяся часть регенерирует до нормальных размеров за неделю. Сигнал для регенерации можно обнаружить в крови. Если у двух крыс хирургическим путем создать перекрестное кровообращение и у одной удалить две трети печени, то митотическая активность будет индуцирована и в неповрежденной печени второй крысы.

Постоянство ткани обеспечивается за счет постоянного клеточного воспроизводства, регулируемого тканевым гомеостазом. У позвоночных большинство популяций дифференцированных клеток подвержено обновлению. В некоторых случаях дифференцированные клетки просто делятся, образуя дочерние клетки. Примером могут служить гепатоциты печени или эндотелиальные клетки, выстилающие кровеносные сосуды.

Для быстро обновляющихся тканей характерно обновление за счет деления стволовых клеток. Эти клоногенные клетки являются главным действующим лицом в процессе канцерогенеза. Стволовым клеткам присущи следующие свойства:

- 1) стволовая клетка не является терминально дифференцированной, она не прошла дифференцировку до конца;
- 2) она способна к неограниченному делению, т.е. является иммортализованной;
- 3) при ее делении каждая дочерняя клетка стоит перед выбором: остаться стволовой или встать на путь, необратимо ведущий к полной дифференцировке;

- 4) обладает автономией при делении (аутокринная стимуляция митоза);
- 5) содержит активизированные онкогены.

Стволовые клетки нужны в тканях, где постоянно возникает потребность в новых дифференцированных клетках, а сами дифференцированные клетки делиться не могут. Клоногенные клетки предназначены не для исполнения специализированных функций ткани, а для того, чтобы производить клетки. В этом их специализация. Поэтому стволовым клеткам часто несвойствен какой-либо характерный внешний вид и их трудно опознать (Альберте и др., 1987). Отсутствие специфической дифференцировки объясняет, почему в процессе канцерогенеза возникает конвергенция опухолевых признаков, потеря тканеспецифичности. Это связано с тем, что стволовые клетки в процессе опухолевой прогрессии постепенно вытесняют, замещают дифференцированные клетки, т.е. происходит аномальная репопуляция, вызывающая эмбрионализацию ткани. Не будучи дифференцированы, стволовые клетки тем не менее детерминированы и производят при делении клетки своей ткани.

Типичная схема воспроизводства ткани характерна для эпидермального слоя кожи и эпителиальной выстилки пищеварительного тракта. Эти ткани подвержены прямым повреждающим внешним воздействиям. Зрелые дифференцированные клетки быстро снашиваются и замещаются (в результате пролиферации стволовых клоногенных клеток) менее дифференцированными. В эпидермисе имеется несколько слоев клеток. Самый глубокий из внутренних слоев образован базальными (стволовыми) клетками. Именно эти клетки делятся путем митоза.

Динамика воспроизводства ткани заключается в следующем. При делении центральной базальной клетки дочерние клетки, также поделившись, двигаются к периферии. Периферические базальные клетки выталкиваются в слой шиповатых клеток. Шиповатые клетки уплощаются и в конце концов преобразуются в ороговевшие чешуйчатые клетки, теряющие ядра по мере приближения к поверхности. В различных слоях эпидермиса синтезируются разные виды кератинов. Кератин шиповатых клеток отличается от кератинов чешуйчатых клеток. По мере того как стволовая клетка, найдя основание колонки, превращается в чешуйку наверху, она последовательно экспрессирует различные группы всего набора гомологичных Каргановых генов (Альберте и др., 1987). Этот процесс повышения дифференцировки объясняет, почему при эмбрионализации последовательно изменяется спектр белков и ферментов, вплоть до полного исчезновения части из них. В основе этого явления лежит процесс омоложения клеточного состава ткани за счет репопуляции, где



стволовые и коммитированные клетки синтезируют более обедненный спектр белков из того набора, который присущ дифференцированным клеткам. Спектр белков, синтезируемых дифференцированными клетками, и спектр белков ствольных клеток сильно отличаются друг от друга, поэтому омоложение ткани приводит к искажению количественного и качественного состава синтезируемых белков, молекул адгезии, рецепторов на мембране клетки. Такая смена спектра синтезируемых белков, ферментов решает проблему, поставленную О. Варбургом и до сих пор никем не решенную, — каков механизм и причина изменения типа энергетики в опухолевых клетках.

В глубине каждой пролиферативной единицы (дифферона) лежит базальная клетка, являющаяся иммортализованной, от которой происходят все клетки этой единицы. На пути своего развития каждая смертная дочерняя клетка, образовавшаяся при делении бессмертной ствольной клетки, проходит точку, после которой обратного пути нет (Альберте и др., 1987). Это означает, что эмбрионализация возникает не за счет омоложения дифференцированных клеток, а за счет замены дифференцированных на все менее дифференцированные, т.е. в процессе репопуляции, когда скорость репаративной пролиферации (регенерации) увеличивается и нарушается процесс дифференцировки, т.е. наступает блок дифференцировки.

Если внешние слои эпидермиса удалить, скорость деления базальных клеток увеличивается, что приводит к восстановлению нормальной толщины эпидермиса. В результате скорость деления в базальном слое снова падает. Это говорит о том, что дифференцированный слой ингибирует митотическую активность ствольных клеток. Осуществляется этот контроль с помощью эпидермального нейлона, который подавляет митозы базальных клеток так, чтобы скорость образования дифференцированных клеток соответствовала потребности. Как и любая система с обратной связью, несмотря на большую устойчивость, тканевый гомеостаз имеет предел допустимых нагрузок, связанный с продолжительностью и силой воздействия. Превышение предела приводит к нарушению тканевого контроля, следствием чего является выход из строя гомеостаза и неконтролируемый злокачественный рост.

## **11. Ранние стадии опухолеобразования**

В теоретическом плане в рамках молекулярно-генетической теории проблема предрака осталась нерешенной, неясно, какова его роль в механизме трансформации. С клинической точки зрения предрак всесторонне изучен и выступает как необходимый

этап в развитии опухолеобразования. Однако его участие в механизме трансформации осталось загадкой, тайной механизма канцерогенеза.

Многие авторы обращают внимание на зависимость развития спонтанных и индуцированных опухолей от пролиферативного статуса ткани и интенсивности клеточного размножения (Jeney, Lapis, 1984; Oehlert, 1973). У человека 80 — 90% опухолей возникает в органах и тканях с обновляющимся клеточным составом и довольно высоким уровнем пролиферации. Это органы кроветворной системы, покровные эпителии кожи, желудочно-кишечного тракта, трахеобронхиальной и урогенитальной систем. В опухолях с низким числом пролиферирующих клеток развитию опухолей способствуют предшествующие гиперплазии ткани при регенераторных и воспалительных процессах. Таким образом, между канцерогенезом и интенсивной пролиферацией имеется положительная корреляция.

Согласно точке зрения И.В.Урываевой (1990), «роль пролиферативного цикла в акте инициации не всегда ясна, хотя эмпирически твердо установлена зависимость эффективности канцерогенеза от размножения клеток, во всяком случае для митотически стабильных и медленно обновляющихся тканей». Одна из точек зрения заключается в том, что митотическое деление и особенно репликация ДНК необходимы для фиксации индуцированных канцерогеном повреждений ДНК. С нашей точки зрения, такое объяснение еще нуждается в подтверждении того, насколько репликация ДНК способствует фиксации мутаций, т.е. это не более чем гипотеза.

Необходимым компонентом фазы промоции, согласно клиническим наблюдениям, является непрерывная пролиферация клеток. Примечательно, что морфологические изменения в предраке не отличаются от таковых, связанных с неспецифическими токсическими воздействиями, что хорошо согласуется с тканевой моделью.

Клиническая картина опухолеобразования довольно типична и закономерна в своем развитии стадий. Цепь явлений, предшествующих раку пищевода, начинается с хронического воспаления и гиперплазии эпителия, переходящей в дисплазию и в рак. Согласно данным Crespi M. и соавт. (1979), эзофагоскопия и биопсия, проведенная на 430 больных в возрасте от 15 до 70 лет, выявили в 85% хронический эзофагит, сопровождающийся пролиферацией, а также расширением кровеносных сосудов подслизистого слоя. При эндоскопическом исследовании слизистая оболочка пищевода выглядела неровной, рыхлой, набухшей, гипереминированной, с рассеянными или сливающимися очагами лейкоплакии, но без изъязвления. Согласно клиническим выводам, дисплазия эпителия является предраковым состоянием.

Данные Соггеа и соавт. (1970), занимавшихся изучением заболеваемости раком желудка, говорят о положительной корреля-

ции между распространенностью кишечной метаплазии желудка и увеличением риска развития рака желудка,

В ряде случаев отмечено сочетание шистосомоза и колоректального рака (Ch'en et al., 1965) и подчеркивается, что рак развивался на месте хронических шистосомных полипов или псевдополипов и пролиферации эпителия, сочетающейся с полипами.

В исследованиях по раку кожи показано, что в результате влияния масла, дегтя, смолы в местах воздействия отмечаются множественные очаги гиперкератоза вплоть до развития рака. Среди предраковых изменений кожи отмечают: гиперкератоз, актинический кератоз, множественный кератоз, фиброз, рубцы, радиодерматит и другие заболевания.

Хронические бактериальные инфекции, приводящие к фиброзу и постоянному «регенераторному стрессу», сочетаются с повышенным риском развития злокачественного новообразования. Опухоли кожи развиваются вслед за остеомиоцитом, варикозными и трофическими язвами (Templeton, 1975).

Многие исследователи пришли к заключению, что сама по себе типичная кишечная метаплазия не является предраком. Но ее эпителий, как и эпителий желудочных ямок и шеек желез, способен приобретать предраковое значение в случае развития дисплазии в очагах кишечной метаплазии. При всех формах заболеваний рак развивается в очагах дисплазии, которая рассматривается как маркер повышенного риска развития рака.

К нарушениям дифференцировки относятся уменьшение, изменение или исчезновение секреции желудочного эпителия (главным образом покровно-язочного). В очагах кишечной метаплазии отмечается уменьшение числа или полное исчезновение бокаловидных и панетовских клеток. Отмечается, что фазу «слабая дисплазия» трудно отличить от регенераторной гиперплазии эпителия. Установлена обратимость процесса.

Согласно С.-Ч. Мингу (Ming, 1984, с. 210 — 254), когда развивается рак при хроническом гастрите и кишечной метаплазии, обнаруживается незрелый и зачастую измененный эпителий. Такой эпителий называется дисплазированным или анаплазированным. Анаплазированный эпителий построен из недифференцированных или плохо дифференцированных клеток. Злокачественные изменения редко встречаются в гиперпластических полипах, образованных зрелыми железами, но нередки в аденомах, образованных дисплазированными клетками. В дисплазированном эпителии отмечается различной степени выраженность патологической пролиферации, от регенерации эпителия в области воспаления до тяжелой анаплазии. В незрелом, или анаплазированном, эпителии метаплазированной слизистой оболочки синтез ДНК распространяется на поверхностный эпителий, время обновления значительно уменьше-

но. В то время как в норме пролиферация эпителия желудка возможна только в зоне перехода от ямочного к шеечному эпителию. Незрелые клетки могут распространяться на всем протяжении желудочных ямок, которые становятся извитыми; поверхностный и ямочный эпителий может давать мелкие сосочковые пролифераты.

При тяжелой дисплазии изменения выражены более резко. В очагах кишечной метаплазии тяжелая дисплазия характеризуется резкой атипией клеток и нарушением их дифференцировки. Тяжелая дисплазия, как и средняя, может оставаться длительное время в стабильном состоянии, иногда регрессирует, но чаще переходит в рак.

Атрофия также выступает в качестве фактора повышенной пролиферации ткани. Согласно данным Liavag I. (1968), который изучал связь атрофии мелкоацитарной пролиферации и рака предстательной железы на материале 340 вскрытий умерших в возрасте 40 лет и старше, атрофические изменения обнаружены во всех предстательных железах, пораженных раком. Liavag наблюдал мелкоацитарные пролифераты в атрофичной предстательной железе. Автор расценивал это как признак регенерации, представляющей собой замещение зон атрофии пролиферирующими клетками. Отмечена существенная корреляция между атрофическими изменениями, мелкоацитарной пролиферацией и развивающимся раком.

Таким образом, клиническая картина предрака подтверждает, что причиной опухолеобразования является повышенная пролиферативная нагрузка на ткань. Развернутое обоснование этого положения дается в тканевой теории. Факторы стимуляции пролиферации различны, но последующие изменения типичны и укладываются в тот порядок закономерных событий, который описывает тканевая модель. В рамках тканевой модели клиническая картина опухолеобразования получает теоретическое обоснование и объяснение.

В тканевой теории показывается, что развитие опухоли — предрак, доброкачественная, злокачественная — зависит от канцерогенного профиля, коррелирующего с уровнем пролиферативной нагрузки на ткань.

Многочисленные работы по исследованию нарушения метаболизма в опухолевых клетках не обнаружили никаких специфических нарушений метаболизма, а обнаружение в них эмбриональных белков и белков, в норме специфических для тканей, негомологичных опухолевых, может наблюдаться при таких процессах, как регенерация и воспаление. Как подчеркивает G.V.Pierce (1972), в фенотипе опухолевых клеток не обнаружено никаких признаков, которые бы не были запрограммированы в нормальном геноме.

## 12. Данные молекулярно-генетических исследований, свидетельствующие в пользу тканевой теории

Все ли молекулярно-генетические данные говорят в пользу теории онкогена или часть из них подтверждает тканевую модель?

Некоторые следствия тканевой модели хорошо подтверждаются молекулярно-генетическими данными по активизации онкогенов. Очевидно, если тканевая модель верна, то должна обнаружиться корреляция между активизацией онкогенов в стволовых клетках и их фенотипическим проявлением; и наоборот — репрессия активности онкогенов должна быть связана с дифференцировкой клетки. Известно, что дифференцировка нормализует опухолевые клетки, поэтому возникает вопрос: насколько имеет место корреляция между трансформированным состоянием, митотической активностью стволовых клеток и активизацией онкогенов? Экспериментальные данные подтверждают, что такая корреляция действительно имеет место. Например: 1) экспрессия онкогена *c-myc* выражена в гемопоэтических тканях и примитивных гемопоэтических опухолевых клетках (Gonda et al., 1982); 2) *c-myc* экспрессируется в самых разнообразных клетках, хотя в гемопоэтических клетках эта экспрессия выражена более сильно; 3) экспрессия *c-myc* и *c-tus* резко падает в клетках промиелоцитарной лейкемии, которые были стимулированы к дифференциации в более зрелые формы; 4) *c-erb A* и *c-erb B* транскрибируются дифференциально, первый — в костномозговых клетках, второй — в эмбриональных фибробластных; 5) шдарипотентная гемопоэтическая клетка, полученная из мышиноного костного мозга, содержит исключительно большие количества белка, кодируемого *c-gas* Кирстена; 6) в ходе эмбриогенеза мышцы экспрессия *c-gas* Харвея поддерживается на высоком уровне, экспрессия *c-abl*, *c-fos* и некоторых других — варьирует. Как отмечают И.Ф.Сейц и П.Г.Князев (1986), во многих случаях экспрессия онкогенов варьирует коррелятивно с дифференциацией. О чем это говорит? Известно, что нормализация опухолевых клеток происходит в результате их дифференцировки, следовательно, данные по активизации онкогенов и их репрессии при дифференцировке подтверждают данную закономерность. Характерно, что дифференцированные клетки не способны трансформироваться в связи с потерей либо снижением способности размножаться.

Второй аргумент, подкрепляющий эту позицию, связан с феноменом аутокринной стимуляции митоза. Если тканевая теория справедлива, то этот феномен должен быть присущ в равной мере как опухолевым клеткам, так и стволовым. Данные, которые приводят А.Д.Алытейн и Е.А.Черепанцева, подтверждают этот вы-

вод. Согласно точке зрения А.Д.Альштейна и Е.А.Черепанцевой (1986), феномен аутокринной стимуляции характерен не только для клеток с выраженным трансформированным фенотипом. Так, гладкомышечные клетки молодых животных, имеющие рецепторы к ТФР, продуцируют этот фактор, то же происходит при ранении гладких мышц. Эндотелиальные клетки аорты быка в культуре продуцируют митогенный ФР, чувствительны к нему, но остаются нормальными клетками. Делая вывод относительно «трансформирующих» факторов роста, А.Д.Альштейн и Е.А.Черепанцева (1986, с. 264) пишут: «Критического отношения заслуживает термин «трансформирующий фактор роста». Этот термин подразумевает деление ФР на трансформирующие и нетрансформирующие. Для такого деления сегодня нет серьезных оснований. По-видимому, все ФР, образуемые трансформируемыми клетками, принципиально не отличаются от соответствующих факторов, выявленных в нормальных тканях». Отсутствие различия между факторами роста в нормальных и трансформированных клетках подтверждает, что источником опухолевых клеток являются стволовые клетки при нарушении тканевого контроля.

Обнаружено также, что довольно много биологических и химических агентов вызывает реверсию опухолевого фенотипа *in vitro*. Примером такого действия является нормализующее воздействие стероидных гормонов. Показано, что дексаметазон ингибирует синтез ДНК и клеточную пролиферацию в культуре клеток гепатомы Reuber (Bösze, Venetianer, 1985).

На модели гепатомы человека PLC (PRF) 5 показано, что обработка культуры этим веществом приводит к ингибированию скорости роста, изменению морфологии клеток, увеличению секреции альбумина (Nakagawa et al., 1985). Как полагают, в этом случае происходит истинная индукция дифференцировки и наблюдаемые изменения не обусловлены снижением скорости пролиферации клеток, поскольку обработка этой культуры ингибитором орнитиндекарбоксилазы (при этом снижается уровень пролиферации) не вызывала увеличения синтеза сывороточного альбумина. Дифференцировку клеток опухолей в культуре часто вызывают высокополярные соединения (Вядро, 1983). Диметилсульфоксид индуцировал реверсию опухолевого фенотипа ряда культур клеток гепатом человека, которая прямо зависела от дозы диметилсульфоксида и выражалась в уменьшении плотности насыщения клеток в культуре, образовании фокусов, стимуляции синтеза тканеспецифических белков и увеличении количества белка на клетку (Higgins, 1981, 1982; Higgins, O'Donnel, 1982).

Существует точка зрения, что факты по нормализации опухолевых клеток говорят о фенотипической нормализации, которая не затрагивает генетические дефекты, ставшие причиной транс-

формации. В теоретическом плане этот аргумент — последняя надежда на спасение теории онкогена, поскольку если удастся доказать, что нормализация опухолевых клеток путем дифференцировки является не только фенотипической, но генетической, то это разрушает общепризнанную точку зрения на роль мутаций в трансформации. Относительно этого вопроса Ю.М.Васильев (1986, с. 258) пишет: «Наряду с фенотипической трансформацией генетически нормальных клеток существует и фенотипическая нормализация генетически трансформированных клеток... обратимую нормализацию большинства клеток популяции можно вызвать, определенным образом изменяя среду». Приведем точку зрения Л.Сакса (1986, с. 22). Он пишет: «Мы задались вопросом: восстанавливается ли нормальное состояние хромосом в лейкоэмических клетках, в которых искусственно вызваны дифференцировка и прекращение деления? Происходит коррекция генетических дефектов или же развитие клетки переключается со злокачественного на нормальное «в обход» этих нарушений? Мы обнаружили, что в лейкоэмических миелоидных клетках, принужденных к дифференцировке, аномалии хромосом сохраняются. Следовательно, с помощью индукции дифференцировки остановка злокачественного роста достигается «в обход» тех генетических дефектов, которые нарушили нормальный ход событий дифференцировки и размножения».

С нашей точки зрения, здесь есть спорное постулируемое допущение, которое состоит в том, что хромосомные дефекты, мутации в онкогенах связываются с механизмом трансформации. Тот факт, что удается нормализовать раковые клетки «в обход» генетическим нарушениям, которые, как предполагается, являются причиной трансформации, опровергает предположение о причинной связи между мутациями и трансформацией. Имеется несколько групп данных, подтверждающих это положение. В ряде случаев генетические дефекты в онкогенах и их продуктах не обнаруживаются, в частности молекулы рецепторов и ФР, которые являются продуктами онкогенов, не несут каких-либо дефектов. Имеются данные по перенесению ядра опухолевой клетки в предварительно энуклеированную нормальную яйцеклетку. При этом развивался нормальный мозаичный организм. В этих экспериментах проверяется не отдельный онкоген или группа онкогенов, а злокачественность или нормальность всего генома раковой клетки. В теоретическом и логическом плане это означает, что постулируемая теорией онкогена причинная, прямая связь между необратимыми генетическими дефектами онкогенов (хромосом) и трансформацией клетки является ошибочной и экспериментально опровергается.

Основное условие доверия к тем или иным положениям в экспериментальной науке может основываться только на эмпирическом

подтверждении этих положений. Наряду с основной линией развития процессов опухолеобразования, которые приводят к раку, параллельно идут мутационные изменения ДНК, возникает спектр линий, направлений деградации клеток, часть из этих изменений имеет приспособительный характер. Данные по нормализации опухолевых клеток позволяют отдифференцировать события, которые связаны с трансформацией, от параллельно протекающих процессов, различных проявлений деградации генома. Способность опухолевых клеток включаться в нормальный гистогенез и онтогенез и производить нормальный организм является убедительным фактом, подтверждающим данную точку зрения, т.е. нормализация опухолевых клеток в результате их созревания является фактом, опровергающим представление о необратимости трансформации в результате мутаций и других повреждений генома.

### 13. Теория онкогена

Выдвижению новой идеи, положенной в основании молекулярно-генетической теории, предшествовали работы, ведущиеся в двух направлениях. Первое направление работ свидетельствовало о том, что частым предшественником трансформации являются генетические повреждения. Другая информация пришла из вирусологических лабораторий, где изучались ДНК-содержащие опухолевые вирусы (SV40 или вирус полиомы, трансформирующие ретровирусы, например вирус саркомы Рауса). Вирусологи обнаружили, что опухолевый вирус способен переводить культуру клеток в трансформированное состояние (Вайнберг, 1987).

Решающее открытие было сделано в 1910 г. П.Раусом, который показал, что не содержащий клеток фильтрат опухолей цыплят может индуцировать саркому у других цыплят. В 1966 г. в возрасте 85 лет Раус был удостоен Нобелевской премии.

До открытия онкогенов список фенотипических опухолевых свойств был слишком велик. Поэтому возникла насущная потребность выяснить, какие свойства являются первичными, а какие производными, т.е. надо было найти гены плейотропного действия. В связи с этим открытие вирусных генов, обладающих плейотропным эффектом, т.е. способностью небольшого числа генов вызывать многочисленные фенотипические изменения в раковых клетках, и явилось спасательным кругом в море несвязанных проявлений раковых клеток.

В некоторых вирусах есть всего один ген, ответственный за способность индуцировать опухоли, иногда таких онкогенов несколько. Вирус саркомы, открытый Раусом, относится к группе ретровирусов. Среди опухолевых вирусов это единственные



РНК-содержащие вирусы. Для размножения этих вирусов их РНК должна транскрибироваться «обратно» с образованием ДНК. Этот процесс обслуживается ферментом обратной транскриптазой. В 1970 г. Д.Балтимор, С.Мицутани и Т.Темин обнаружили этот фермент в частицах вирусов типа вируса саркомы Рауса (Бишоп, 1983).

Впервые экспериментально исследовать удалось вирус саркомы Рауса. В 1970 г. Г.Мартин идентифицировал температурочувствительные «условные» мутации, изменявшие способность вируса трансформировать клетки в культуре. При рестриктивной (ограничивающей) температуре мутантный ген инактивируется. Ген, открытый Мартином (Калифорнийский университет), называют геном src.

Каким же образом продукт гена src вызывает злокачественный рост? Обнаружилось, что белок pp60v-src является протеинкиназой, т.е. ферментом, который присоединяет ионы фосфата к аминокислотным остаткам белков в реакции фосфорилирования. Т.Хантер и Б.Сефтон (Институт биологических исследований Солка) показали, что белок pp60v-src присоединяет ионы фосфата только к аминокислоте тирозину. Как оказалось, фосфорилирование тирозина — общее свойство ферментов — продуктов онкогенов. Важно отметить, что оно характерно и для регуляции роста нормальных клеток. Фосфорилирование белков — одно из основных средств регуляции активности ферментов.

В случае с белком pp60v-src было предложено два механизма. Фермент может фосфорилировать один белок, включая каскад событий, ведущих к злокачественному перерождению, либо фермент фосфорилирует несколько белков, что вызывает события второго порядка. Хантер и его коллеги показали, что в результате трансформации клетки геном src количество фосфорилированного тирозина увеличивается в десять раз. Однако ни одна гипотеза не могла объяснить неограниченный рост опухолей, индуцированных геном src (Бишоп, 1983).

В 1972 г. Д.Стахелин, Г.Вармус и М.Бишоп начали изучать «гипотезу онкогена», которую предложили Р.Хьюбнер и Дж.Тодаро. Согласно авторам, онкогены ретровирусов являются частью генетического багажа клетки и приобретены посредством вирусной инфекции в ходе эволюции. Онкогены не опасны, пока находятся в состоянии покоя. Активированные канцерогенным фактором, они могут превратить нормальную клетку в раковую.

Исследования методом молекулярной гибридизации выявили, что ген, родственник гену src, имеется у всех позвоночных, т.е. гипотеза Хьюбнера — Тодаро близка к истине. Более глубокие исследования показали, что ген, который был обнаружен у polloчных, не является геном ретровирусов. Этот клеточный ген

назвали c-src. Проблема гена c-src стала еще более загадочной, когда было обнаружено, что ген активен в нормальных клетках, т.е. транскрибируется с образованием информационной РНК, а затем РНК транслируется с образованием белка.

Пытаясь объяснить сходство между онкогенами ретровирусов и их родственными аналогами из нормальных клеток, большинство ученых считают, что онкогены ретровирусов являются копиями клеточных генов. Выяснилось, что все клеточные онкогены обладают злокачественным потенциалом.

Являются ли ретровирусные онкогены просто копиями генов из нормальных клеток и как объяснить действие вирусных генов в инфицированных клетках? Были предложены две гипотезы. По мутационной гипотезе отличия вирусных онкогенов от клеточных предков небольшие и возникли в результате мутаций, происходящих во время копирования клеточных генов с образованием геномов ретровирусов. Гипотеза дозы гена предполагает, что онкогены ретровирусов перегружают клетку, по существу, нормальными белками. С этой точки зрения развитие рака зависит от дозы трансформирующего вирусного белка. Как считает М.Бишоп (1983), клеточные онкогены входят в тонко сбалансированную систему регуляции роста и развития -нормальных клеток. Повышенная активность одного из генов системы может нарушить регуляцию и сдвигать состояние равновесия в сторону неограниченного роста. Заметим, что гипотеза «дозы гена» разрушает основу концепции «противоопухолевого иммунологического надзора» (Бернетта), поскольку исчезает «чужеродность» онкогенов, как предполагается, появляющаяся в результате мутаций, но если нет мутаций, то отсутствует и предполагаемая чужеродность, а иммунитет остается в бездействии.

Таким образом, попытки ответить на вопрос, как поврежденная ДНК может вызвать злокачественный рост, породили концепцию «раковых генов». Раковые гены — это компоненты нормального генома клетки, регуляция которых выходит из-под контроля и усиливается под действием канцерогенов. Канцерогены повреждают онкоген либо другой ген, который в нормальных условиях регулирует активность раковых генов.

Постепенно гипотеза онкогена изменилась: главную роль в ней стали играть клеточные, а не вирусные гены. Как считает М.Бишоп (1983), то, что удалось открыть, может удивить — «оказалось, что процессы, приводящие клетку к раку, в принципе неотличимы от тех, что действуют в нормальной клетке... Бесплезно изобретать средства, угнетающие процессы, которые приводят к злокачественному росту клетки, если те же самые процессы необходимы для их нормального существования». Это замечание очень важно, но в тканевой модели рака оно приняло

другую форму выражения, раковые клетки — это стволовые клоногенные клетки, обладающие активизированными онкогенами, которые выходят из-под контроля в результате нарушения тканевого гомеостаза.

В настоящее время известно более двух десятков онкогенов (Weiss et al., 1982), выявленных в геноме различных ретровирусов. Предполагают два возможных механизма включения инородной генетической информации в состав вирусного генома: 1) присоединение дополнительного участка к уже имеющимся репликационным вирусным генам; 2) замещение части вирусного генома фрагментом, несущим иную функцию. В первом случае ретровирус сохраняет способность самостоятельно реплицироваться, но приобретает новые свойства (онкогенность в случае присоединения онкогена). Во втором случае появление онкогенных свойств у ретровируса сопровождается утратой возможности самостоятельно реплицироваться (Киселев и др., 1990).

В последние годы появились работы, посвященные анализу роли онкобелков — продуктов онкогенов в различных опухолях человека. Основываясь на этом анализе, были сделаны следующие выводы (Киселев и др., 1990): 1) прямой зависимости между повышенной экспрессией онкогенов и определенным типом опухоли не существует; 2) исследованные онкогены по частоте экспрессии в опухолях человека делятся на несколько групп — а) «молчащие» или редко регистрируемые онкогены (c-abl, c-src, c-mos, c-erb B), б) умеренно экспрессируемые онкогены (c-myc, c-fms, c-sis), в) часто экспрессируемые онкогены (c-Ki-ras, c-Ha-ras, c-fos) и г) онкогены, активные в большинстве клеток (c-tyc); 3) в низкодифференцированных опухолях экспрессируется большое число онкогенов и с большей эффективностью; 4) спектр экспрессируемых онкогенов в первичных опухолях и метастазах различный.

Как считают Ф.Л.Киселев и соавт. (1990), в настоящее время экспериментальные данные, однозначно подтверждающие появление опухоли у человека вследствие повышенной экспрессии онкогенов, отсутствуют. Существует ряд причин, объясняющих неоднозначность полученных результатов. Во-первых, еще не все онкогены использованы в анализе, во-вторых, в природе могут существовать не идентифицированные пока онкогены. В-третьих, экспрессия онкогенов играет ключевую роль на определенных этапах трансформации, возможно на самых ранних, в то время как опухоль человека становится доступной для анализа на поздних стадиях. В-четвертых, не исключено, что экспрессия клеточных онкогенов отражает лишь определенный уровень дифференцировки или роста и не имеет прямого отношения к канцерогенезу.

Отметим, что при лейкозных заболеваниях экспрессия определенных онкогенов в некоторых клетках коррелирует с уровнем их дифференцировки.

Оценивая клинический выход анализа экспрессии онкогенов, Киселев Ф.Л. и соавт. (1990, с. 200) пишут: «...может ли иметь тестирование экспрессии онкогенов какое-либо практическое значение для онкологии, в частности для диагностики?.. Следует отметить, что, несмотря на то что надежды на быстрое выяснение роли этих генов в канцерогенезе в какой-то мере не оправдались, исследования последних лет показали, что работы в этой области могут иметь определенное значение для диагностики и прогноза раковых заболеваний».

В ходе дальнейшего изучения онкогенов были обнаружены гены с противоположной функцией. Их действие в нормальных клетках состоит в том, чтобы подавлять пролиферацию. Если клетка утрачивает их либо они повреждаются, снимаются ограничения роста и размножения клетки. Ключом к механизму действия антионкогенов стали исследования ретинобластомы — рака, поражающего глаза (Вайнберг, 1988). Ретинобласты — это предшественники клеток сетчатки на задней стороне глаза. Как только ретинобласт достигает определенной стадии дифференцировки, он перестает делиться, при раке нормальное созревание клеток нарушается.

В 1971 г. А.Кнудсон (Институт рака в Филадельфии) предложил гипотезу, согласно которой мутантные гены у индивидуума могут появляться двумя — путями по наследству или в результате соматических мутаций. Кнудсон заключил, что все опухолевые клетки содержат не один мутантный ген, а два. При семейной ретинобластоме первая из двух мутаций присутствует в гене-мишени с момента зачатия. Вторая необходимая мутация может быть соматической. В противоположность этому при несемейной ретинобластоме обе необходимые мутации возникают локально в одной клетке сетчатки.

Дальнейшие исследования Й.Юниса (Миннесотский университет) с помощью микроскопического изучения хромосом дали новые результаты. Обнаружилось, что в длинном плече (q-плече) одной из хромосом, а именно 13, часто бывают делеции: отсутствует та или другая полоса. Корреляции между изменениями в области 13q14 и ретинобластомой наблюдались слишком часто. К 1983 г. были получены результаты, свидетельствующие о том, что вторая генетическая мишень находится на парной хромосоме 13. Ген хромосомы 13, который, очевидно, участвует в процессе опухолеобразования, был назван Rb (Вайнберг, 1988).

Логично было предположить, что, если вначале в клетке сетчатки имелся один нормальный ген и один мутантный вариант Rb, это

могло иногда заканчиваться появлением двух мутантных копий гена. Гипотеза Кнудсона могла быть сформулирована иначе. Мишенями двух «выстрелов», необходимых для возникновения рака, являются две копии гена Rb. Каждое попадание выводит из строя одну копию гена. Дети\* получившие от родителей мутантный ген Rb, нормальны, но у них повышен риск возникновения рака. Эта мутация рецессивна, поэтому она проявляется, только если уцелевший аллель гена утрачивается в той или иной клетке сетчатки.

Методом гибридизации была исследована структура хромосомного участка гена Rb. Для 30% препаратов были получены данные, свидетельствующие, что структура одной или обеих копий клонированного гена значительно изменена из-за делеций. Результаты исследований, подтверждающие существование генов — подавителей пролиферации, делятся на 2 группы (Klein, 1987): 1) во многих опухолях с генетической предрасположенностью были обнаружены делеции в хромосомах; 2) в соматических гибридах нормальных и опухолевых клеток преобладал нормальный фенотип. Таким образом, функционирование гена Rb, а именно подавление его функций, связано с возникновением таких опухолей, как ретинобластома, остеосаркома и саркома мягких тканей.

Кроме описанных опухолей существует еще несколько опухолей, ассоциированных с гомозиготной потерей специфического хромосомного локуса, но в которых пока какого-либо супрессорного гена идентифицировать не удалось. К ним относятся (Friend et al., 1988): множественные эндокринные неоплазии типа 2 и хромосома 1, меланома языка и хромосома 2, карцинома почки и карцинома легких — хромосома 3, карцинома кишечника, семейный полипоз — хромосома 5, множественная эндокринная неоплазия типа 2a — хромосома 10, опухоль Вильмса, гепатобластома, рабдомиосаркома — хромосома 11, рак протоков молочной железы — хромосома 13, карцинома кишечника — хромосома 17, нейрома слухового прохода и менингиома — хромосома 22.

Таким образом, теперь известны 3 группы генов, участвующие в процессах злокачественного превращения согласно теории онкогена: 1) онкогены, 2) вирусные гены, 3) гены-супрессоры (подавители пролиферации). Однако многие вопросы пока остались без ответа.

Касаясь нерешенных проблем, Ф.Л.Киселев и соавт. (1990, с. 113) пишут: «К сожалению, данные, касающиеся коканцерогенных факторов, носят в основном эпидемиологический характер и практически ничего не известно о механизме действия этих факторов... Даже при наличии в клеточной ДНК... интегрированно-вирусного генома, содержащего трансформирующий ген... злокачественный фенотип проявляется только при нарушении работы генов, контролирующих дифференцировку и пролиферацию

клеток... Основные вопросы, которые остаются неясными для понимания роли вирусов в этиологии рака, сводятся к вопросам: почему не всегда персистирующий вирусный геном способен осуществить злокачественное перерождение клеток, почему это превращение занимает столь длительный период... какие механизмы контролируют переход от первичной поликлональности к конечной моноклональности?»

Итак, мы рассмотрели основные проблемы молекулярно-генетической теории. Как уже говорилось, ряд данных, по существу, разбивают теорию онкогена. Проанализируем аргументы и факты, свидетельствующие против теории онкогена, которые разбивают основу — представление о механизме трансформации. Характерно, что предложенные в теории онкогена механизмы трансформации основаны на необратимых изменениях генома клетки, что предполагает необратимость трансформации. Однако представлению о необратимости трансформации противоречат известные факты, касающиеся нормализации раковых клеток в результате дифференцировки. Даже в самой опухоли часть клеток проходит стадии дифференцировки, включая терминальную дифференцировку, теряя в результате этого злокачественные признаки. Это положение доказывают и другие факты. При пересадке ядра опухолевой клетки в нормальную энуклеированную яйцеклетку или в зародышевые клетки на самых ранних стадиях развития возникает нормальное химерное потомство, что подтверждает способность к нормализации опухолевого генотипа.

Механизм трансформации в теории онкогена основан либо на генотоксическом действии канцерогенов, либо на интеграции вирусного генома в геном клетки. Однако трансформирующие факторы роста и гормоны не обладают генотоксичностью, но вызывают трансформацию.

Поскольку все канцерогены обладают либо двойным эффектом (генотоксическим и промоторным), либо только промоторным, то отсюда следует, что общим трансформирующим свойством канцерогенов является не генотоксический эффект, а промоторный.

С другой стороны, изолированные и трансплантированные стволовые клетки, не будучи подвергнуты канцерогенному воздействию, проявляют злокачественный рост. С этой группой фактов коррелируют данные по спонтанной малигнизации клеток при длительном культивировании *in vitro*, где также отсутствуют канцерогенные воздействия. В теории онкогена эти факты являются парадоксом, и они не имеют рационального объяснения в рамках старой схемы трансформации. С позиции тканевой теории рака приведенные факты получают рациональное объяснение: поскольку стволовые клоногенные клетки обладают полным набором злокачественных свойств, нарушение тканевого контро-

ля приведет к злокачественному росту. При этом активизация онкогенов в стволовых клетках не является результатом генотоксического действия канцерогенов на геном.

Установление тождества между раковыми и стволовыми клоногенными клетками при нарушении тканевого контроля позволяет принципиально изменить основу теории рака. Речь идет о новой парадигме опухолеобразования, в основу которой положена тканевая теория канцерогенеза. Мы назвали это изменение основой теории рака парадигмой в том смысле, что оно также касается изменения клинических подходов к терапии опухолей. По существу, тканевая модель является выходом из тупика, в который зашла теория онкогена, например в объяснении механизма гормонального рака или трансформирующих факторов роста. В новой тканевой модели данные хорошо коррелируют между собой, что создает логическую сцепленность между всеми группами данных. Идею необратимого нарушения генома клетки онкогенов как причины рака заменила новая идея — нарушения тканевого контроля, что является причиной неконтролируемого деления стволовых, клоногенных клеток. При рассмотрении альтернативы причины неконтролируемого опухолевого роста — нарушения тканевого контроля или необратимые изменения онкогенов — имеющиеся факты свидетельствуют в пользу тканевой модели. Новая теория позволяет объяснить, почему раковые клетки нормализуются при дифференцировке. Это свидетельствует о том, что механизм трансформации разворачивается по сценарию тканевой теории, т.е. трансформация клетки не обусловлена необратимыми нарушениями онкогенов.

Несмотря на критику теории онкогена в вопросе механизма трансформации, ее заслуга в открытии онкогенов и развитии направления молекулярной онкологии является неоспоримой и составляет революцию в изучении природы канцерогенеза. Учитывая, что центральная идея молекулярно-генетической теории относительно активизации онкогенов как причины злокачественных свойств трансформированной клетки сохраняется в тканевой теории, но в иной форме, можно сказать, что между двумя теориями существует глубокая преемственность относительно центральной идеи. В новой теории сохранилась идея активизации онкогенов, но изменился механизм трансформации; если в теории онкогена она связана с необратимым действием генотоксических факторов, то в тканевой модели трансформация связана с выходом из-под контроля стволовых клоногенных клеток, обладающих активизированными онкогенами и злокачественным фенотипом при нарушении тканевого гомеостаза.

Оценивая современную ситуацию в развитии теории онкогена, И.Ф.Сейц (1990, с.14 — 16) пишет: «В настоящее время мино-

вал пик оптимизма, вызванный открытием онкогенов, исчезли иллюзии... что возможно простое и легкое объяснение онкогенеза как следствия активности одиночных уникальных генов».

Непрерывным условием как нормальной жизнедеятельности, так и опухолеобразования являются пролиферация и дифференцировка. Результаты исследований указывают на способность большинства онкогенов модулировать рост и на их участие в развитии эмбрионов и тканей. Многие продукты с-о<sub>n</sub> с-генов удалось идентифицировать, доказано их участие в регуляции роста. Некоторые из них оказались рецепторами факторов роста (например, с-erb-B — рецептор эпидермального фактора роста (EGF); с-fms — рецептор колониестимулирующего фактора; l<sub>1</sub> (CSF-I); с-erb-A — рецептор тиреоидного гормона (ТЗ) или самими факторами роста (например, с-sis-B — цепь тромбоцитарного фактора роста (PDGF). Сейц, 1990).

Проанализируем представление о возможной дефектности ФР как причине трансформации и попытаемся найти аргументы против такого представления. Очевидно, тот факт, что факторы роста действуют опосредованно, через рецепторы на мембране, делает невозможным дефектность самой молекулы ФР, поскольку ФР должен «подойти» к своему рецептору — наподобие взаимодействия между ферментами и субстратом. Иначе говоря, если дефектный ФР вызывает реакцию рецептора, то дефект никак не проявится. Механизм рецепторного связывания, очевидно, действует по принципу «все или ничего», т.е. либо он узнается рецептором или рецептор не реагирует на него. Это напоминает радиоэлектронные схемы защиты от помех и шумов, где лишняя часть сигнала вырезается. К теоретическому обоснованию следует добавить экспериментальные данные, свидетельствующие об отсутствии различий между ФР нормальных и трансформированных клеток (Карпентер, Коэн, 1987; Альштейн, Черепанцева, 1986; Белоусова, 1993).

Открытие трансформирующих факторов роста не является подтверждением теории онкогена, а скорее опровергает ее, поскольку они не генотоксичны, следовательно, ни один из механизмов трансформации в теории онкогена не подходит, так как они основаны на мутациях. С другой стороны, ФР действуют через специализированные, эволюционно выработанные механизмы, что противоречит представлению о некоем чужеродном перерождении в результате изменения ДНК. Это ставит проблему переосмысления принципа механизма трансформации — старое понимание трансформации не объясняет новые факты и входит в противоречие с ними. Если трансформация осуществляется за счет трансформирующих ФР, то отсутствует «чужеродность» раковых клеток, которая должна была бы появиться в результате мутаций, следовательно, разрушается концепция «иммунологиче-



ского надзора», выдвинутая Ф.Бернеттом, которая в настоящий момент разделяется многими авторами. Предполагаемая «чужеродность» раковых клеток может появиться в результате мутаций, следовательно, для трансформации необходим генотоксический фактор как условие перерождения клетки — негенотоксичность ФР и гормонов разрушает эту версию.

Решение проблемы плейотропного эффекта трансформирующих генов в тканевой теории связано с решением проблемы «конвергенции» опухолевых признаков в результате прогрессии. Одно и то же решение удовлетворяет критериям двух разных концепций, которые, как показано в новой модели, связаны между собой. Решение состоит в следующем: поскольку стволовые, клоногенные клетки выходят из-под контроля в результате нарушения тканевого гомеостаза, а они обладают унифицированными признаками, идентичными раковым клеткам, и лишены тканеспецифических свойств, то это удовлетворяет, с одной стороны, критериям концепции «конвергенции», а с другой — достигается плейотропный эффект трансформации, т.е. появляется набор злокачественных признаков раковых клеток. Таким образом, в рамках тканевой модели решаются эти две проблемы, одна из которых была поставлена при открытии онкогенов как возможный механизм, объясняющий плейотропный эффект. Однако только в тканевой теории этот эффект получает рациональное объяснение.

## МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ОПУХОЛИ

### 1. Молекулярные основы метастазирования клеток

Исходя из общей картины постепенного выхода из строя тканевого гомеостаза, обнаруживаются промежуточные стабильные состояния опухолевой прогрессии, называемые доброкачественными опухолями. Теоретически можно представить следующие стадии развития опухоли. Первая ступень деградации связана с доброкачественным ростом опухоли, с сохранением до определенной степени нормальной структуры ткани. Вторая ступень деградации тканевого гомеостаза характеризуется разрушением тканевой структуры и потерей равновесия (баланса) между стволовыми и дифференцированными клетками. При этом нарушается обратная связь, т.е. контроль пролиферации. Таким образом, злокачественность опухоли зависит от стадии деградации тканевой структуры, что коррелирует со степенью дедифференцировки клеток, ее целостность определяет нормальное функционирование тканевого контроля. Можно сказать, что в данном случае структура тканевого гомеостаза определяет функцию контроля пролиферации.

Степень дифференцировки клеток определяет силу адгезии между ними и служит барьером для проникновения их в другие ткани, который при эмбрионализации клеток исчезает. Это связано с исчезновением в результате дедифференцировки молекул адгезии на мембране, обуславливающих адгезию в дифференцированных клетках. Иначе говоря, существует закономерная корреляция между пролиферацией клетки, активизацией онкогенов, степенью дедифференцировки, исчезновением молекул адгезии на мембране и метастазированием.

Развитие опухоли принято характеризовать как неустойчивое равновесие между ней и организмом, которое в любой момент может быть нарушено. Неустойчивость такого равновесия, согласно

общепринятой точке зрения (Грех, 1971), зависит от ряда факторов, среди которых наиболее изучены: злокачественность, присутствующая опухоль, степень пассивности среды, в которой она развивается, и выраженность противоопухолевых защитных механизмов.

В тканевой теории этот вопрос получает иное решение: равновесие между опухолью и организмом ставится в зависимость от равновесия, имеющего место внутри опухоли между дифференцированными и стволовыми клетками, которые представляют как бы два полюса полярности тканевой системы. Иначе говоря, равновесие непосредственно зависит от стабильности тканевого гомеостаза, его структуры. Следовательно, взаимоотношение между опухолью и организмом можно описать как отношение между тканевым гомеостазом, находящимся в процессе разрушения, и теми влияниями, которые оказывает организм на него, а именно нагрузкой на тканевый гомеостаз, которая инициирует повышенную пролиферацию.

Характерно, что низкодифференцированные мелкоклеточные формы рака (и особенно крайне анаплазированный их вариант) характеризуются чрезвычайно бурным метастазированием.

Согласно принятой точке зрения, способность к метастазированию клетки приобретают не сразу, а постепенно, что соответствует представлению о последовательности 3—4 мутаций в онкогенах. С позиции тканевой теории потенциальная способность к метастазированию стволовых клеток имеется изначально, что связывается со «злокачественным» фенотипом клоногенных низкодифференцированных клеток. Если выделить клетки из пролиферирующих узлов на начальной стадии канцерогенного воздействия и трансплантировать, то они проявляют типичный злокачественный рост. Однако при прекращении канцерогенного воздействия ткань нормализуется, и опухоль не возникает. Становится ясно, что стволовые клетки обладают злокачественностью при изоляции, т.е. при нарушении тканевого контроля. С этих позиций потенциальная злокачественность стволовых клеток является обратной стороной их характеристик — клоногенности, аутокринного митоза, активных онкогенов.

Анализируя молекулярные основы метастазирования, М.Фельдман и Л.Эйзенбах (1989) подчеркивают, что главной проблемой в лечении рака остается метастазирование, которое заключается в том, что раковые клетки мигрируют по кровеносной и лимфатической системе и дают начало новым опухолям в различных тканях.

Первые указания на то, что клетки одной и той же опухоли могут различаться по способности к образованию метастазов, были получены в 1970-х годах А.Фидлером и М.Крипке, работавшими в Национальном институте рака США (Фельдман, Эйзенбах, 1989). Оказалось, что некоторые клоны образовывали гораздо больше метастазов, чем другие, а некоторые вообще не приводили к раку.

Поиск различий между метастазировавшими и неметастазировавшими клетками прошел несколько этапов. Вначале подозрение пало на фермент коллагеназу типа IV, который «прогрызает» стенки кровеносных сосудов, осуществляя деградацию главного структурного компонента — коллагена IV. Однако выяснилось, что типы клонов, различающихся по метастазированию, мало чем различались по уровню синтеза коллагеназы.

Основная версия М.Фельдмана и Л.Эйзенбах состояла в том, что метастазирующие и неметастазирующие клетки в различной степени распознаются иммунной системой — Т-киллерами. Данная гипотеза учитывает разницу другой группы молекул, располагающихся на поверхности клеток и участвующих в обычном иммунном распознавании. Это так называемые молекулы главного комплекса гистосовместимости МНС (от англ. major histocompatibility complex). Молекулы МНС — это гликопротеины, играющие роль отпечатков пальцев, поскольку их структура уникальна. Однако является ли этот фактор единственным? Чтобы получить ответ, понадобилось сравнить количество метастазов, возникающих у мышей с подавленной иммунной системой после трансплантации им клеток метастазирующих и неметастазирующих клонов. Если соотношение различных молекул МНС является единственным фактором, определяющим способность к образованию метастазов, то количество метастазов в обоих случаях должно быть одинаковым. Действительно, неметастазирующие клетки образовали метастазы в легких, однако метастазирующие клетки у тех же животных давали больше метастазов. Авторы сделали вывод, что потенциальная способность к метастазированию зависит еще от какого-то другого свойства клетки.

Поиск ответа перешел в другое русло: к исследованию продуктов онкогенов. Так, онкогены туе в клетках карциномы присутствовали в необычайно большом числе копий (до 60 копий на клетку), однако степень амплификации в метастазирующих и в неметастазирующих клетках оказалась близкой и поэтому не была связана с различиями.

Другой онкоген, называемый *fos*, вызвал большой интерес. В неметастазирующих и в слабо метастазирующих клонах его экспрессия наблюдалась, а в активно метастазирующих — нет. Выяснилось, что активность гена *fos* связана с изменениями молекул МНС. При индуцировании созревания лейкозных клеток человека, так что они превращались в макрофаги, происходила экспрессия гена *fos* и вслед за этим на поверхности появлялись антигены МНС. Таким образом, были установлены связи между экспрессией генов МНС, онкогенами *fos* и способностью клеток к образованию метастазов. Однако авторы поставили задачу определить специфические свойства метастазирующих клеток, не связанные с их иммуно-

генностью. И в конце концов это удалось. Нашелся неидентифицированный ген, который экспрессируется преимущественно в метастазирующих клонах карциномы 3LL и саркомы ТЮ.

С помощью ДНК-зонда, позволяющего выделить экспрессию онкогена *fms*, который кодирует расположенный на поверхности клетки рецептор фактора роста, стимулирующего созревание клеток крови, было обнаружено, что этот ген кодирует белок более крупный, чем продукт онкогена *fms*, но близкий по структуре к нему. Может быть, неидентифицированный ген кодирует рецептор фактора роста? Исследование мембран метастазирующих клеток показало, что они действительно обладают биохимическими свойствами, типичными для поверхностных рецепторов факторов роста. В дальнейшем было показано, что в метастазирующих клетках экспрессируется ген, близкий к онкогену *fms*. Авторы предполагают, что этот ген кодирует рецептор фактора роста специально для ткани легкого. Становится понятным, почему одни клетки лучше, чем другие, образуют опухоли: они несут рецептор для фактора роста, что способствует их пролиферации. Учитывая, что клоногенные стволовые клетки обладают аутокринным митозом, наличие рецептора к ФР означает автономность деления.

Таким образом, на основе длительных экспериментов авторы пришли к выводу, что степень метастазирования зависит от пролиферативных (клоногенных) свойств клеток. Данная идея хорошо вписывается в тканевую модель, поскольку клоногенность клеток связана со степенью дифференцировки, низкодифференцированные клетки обладают высокой клоногенностью. В экспериментах было показано: при дифференцировке лейкозных клеток происходила экспрессия онкогена, характерного для зрелых клеток, и одновременно наблюдалось снижение метастазирующих свойств. Установлена зависимость между активностью онкогена *fms* и наличием рецептора фактора роста. Следовательно, получило подтверждение положение, согласно которому злокачественность определяется пролиферативным потенциалом клетки, коррелирующим с низкой степенью дифференцировки, наблюдаемой у стволовых клеток, и наличием рецепторов к факторам роста.

Вывод о том, что злокачественность коррелирует с низкой степенью дифференцировки, подтверждают следующие данные. Изучая клетки экспериментальных опухолей (спонтанный рак молочной железы у мышей), дававших метастазы и неметастазировавших, Хайсман (1980) показал, что в клетках опухолей, давших метастазы, более выражен неспецифический синтез белка, т.е. синтез белка в свободных рибосомах (полирибосомах), предназначенный для внутренних нужд клетки. В отличие от этого, в клетках неметастазировавших опухолей преобладал синтез белка, происходящий в связанных рибосомах и отражающий специфици-

ческую деятельность клетки (продукция антител, различного рода секретов). Таким образом, данные подтверждают, что злокачественность выражена у низкодифференцированных клеток.

## 2. Нарушение адгезии у опухолевых клеток

Установлено, что нарушение адгезии при злокачественной трансформации носит сложный характер (Терещенко, Кашулина, 1983). Отмечается, что снижение сцепленности между опухолевыми клетками сочетается у них с повышением способности прилипать к чужеродному субстрату. Ряд авторов подчеркивает разницу между физико-химическими процессом, составляющим суть явления «адгезии» как связи между однородными клетками, и «прилипаемостью» — способностью фиксироваться к другим клеткам или структурам. Это обозначают соответственно как гомо- и гетерологическую адгезию, или когезию и адгезию (Winkelhake, Nicolson, 1976). Изменение адгезивности опухолевых клеток в сторону уменьшения гомологического и повышения гетерологического компонентов становится одним из существенных факторов, обеспечивающих диссеминтацию злокачественных элементов по организму (Терещенко, Кашулина, 1983). Высвобождение отдельных клеток из опухолевого узла предполагает ослабление их связей друг с другом, тогда как успех поступательного движения в окружающих тканях будет зависеть от способности устанавливать кратковременные контакты с прилежащими образованиями, выполняющими в данном случае функцию опоры.

С нашей точки зрения, поскольку опухолевые клетки входят в контакт с разными тканями, то клетка должна либо обладать большим набором специфических свойств, либо не обладать спецификой. В последнем случае это означает, что она должна быть недифференцированной. Учитывая другие данные, показывающие, что метастазирующие свойства характерны для низкодифференцированных клеток, можно заключить, что вывод сделан верно.

В качестве одной из причин разобщения в опухоли на протяжении многих лет рассматривается нарушение метаболизма кальция. Однако имеются работы, в которых не обнаружена корреляция между содержанием  $Ca^{++}$  в опухолевой ткани и наличием метастазов.

Сопоставление метастазирующих и неметастазирующих опухолей выявило определенные различия, касающиеся структур, ответственных за образование межклеточных контактов, в частности десмосом, количество которых меньше в опухолях, склонных к метастазированию (Лейкина, 1970).

Делая заключение, И.Т.Терещенко и А.П.Кашулина (1983, с.144) пишут: «Таким образом, в основе ослабления межклеточных связей в опухолевом узле могут лежать различные механизмы, включающие, наряду с повреждениями структуры и функции поверхностных мембран, изменения состояния интерстициальной ткани».

Однако в перечисленных множественных проявлениях нарушения адгезии необходимо найти то, которое интегрирует эти проявления в определенную систему, что является основанием. Наша концепция, вытекающая из тканевой модели, состоит в том, что различные проявления злокачественности имеют общую основу и являются производными от прогрессирующего омоложения ткани в процессе опухолеобразования. Нормальные адгезивные свойства характерны для дифференцированных клеток, эмбрионализация же ткани приводит к снижению адгезивных свойств клеток. Это можно объяснить тем, что молекулы, осуществляющие функцию межклеточных контактов, синтезируются в процессе дифференцировки, поэтому по мере созревания адгезивные свойства будут увеличиваться, а по мере эмбрионализации уменьшаться. В приведенных работах отмечены отдельные проявления изменений адгезивных свойств клеток, но необходимо выявить взаимосвязь между отдельными проявлениями. В тканевой концепции выявлена корреляция между снижением адгезивных свойств и эмбрионализацией ткани. Данный процесс объединяет в одну систему различные признаки опухолеобразования: изменение энергетического обмена, исчезновение рецепторов и молекул адгезии, изменение спектра ферментов и т.д. Данная закономерность опровергает положение теории Foulds о независимости развития опухолевых признаков в процессе опухолевой прогрессии.

Повышение способности опухолевых клеток к установлению контактов с гетерогенными структурами в организме можно объяснить эмбрионализацией клетки, в результате которой она становится дедифференцированной. Это изменение обозначают тенденцией к конвергенции, монотении опухолевых клеток в процессе прогрессирующего омоложения. Отмечено, что для метастазирующих ноообразований характерно большее антигенное упрощение по сравнению с аналогичными неметастазирующими. L.L.Ghast и соавт. (1981) показали снижение содержания гликокаликса и поверхностных антигенов в клетках метастазов рака молочной железы человека и животных по сравнению с первичными опухолями. Таким образом, данные свидетельствуют о том, что изменение злокачественности опухолевых клеток напрямую коррелирует со степенью дедифференцировки клетки, поэтому она может не только повышаться, но и снижаться, такое изменение злокачественности трудно объяснить с позиции необратимых мутаций, поскольку они предполагают изменение только в одну сторону.

### 3. Фибронектины

Как было показано с позиции тканевой модели, адгезивные свойства опухолевых клеток изменяются в ходе прогрессирующего омоложения ткани при канцерогенном воздействии, т.е. закономерно уменьшается синтез белков и других молекул, осуществляющих функциональный межклеточный контакт. Что это за молекулы, какова их молекулярная природа? Согласно Ричарду О. Хайнсу (1986), стабильная и вместе с тем динамическая организация клеток обеспечивается разнообразными гликопротеинами — белками с присоединенными к ним углеводными цепями. Эти белки связывают клетку с неклеточным матриксом. Лучше всего из гликопротеинов изучено семейство белков, называемых фибронектинами.

Молекулы фибронектина могут собираться в волокна (фибриллы), связываться с клетками и прикреплять клетки к фибриллам другого типа во внеклеточном матриксе. Фибронектин играет важную роль во внутренней организации клеток. Кроме того, благодаря своим адгезивным свойствам фибронектин является одним из компонентов, участвующих в процессе свертывания крови и в обеспечении путей, по которым мигрируют клетки.

Первое указание на значение фибронектина в организации поведения клеток было получено в 1973 г. при исследовании рака. Р.О.Хайнс, занимаясь сравнением поверхностей опухолевых клеток и нормальных клеток, «привязывал» к поверхностным клеточным белкам радиоактивную метку и затем анализировал белки с помощью метода геле-электрофореза. Оказалось, что на поверхности нормальных клеток в большом количестве присутствует белок, которого совсем нет на поверхности опухолевых клеток. К.Ямада и А.Пастан со своими коллегами в Национальном институте рака (США), а также И.Али, работавший в Массачусетском технологическом институте, подтвердили значение фибронектина для клеточной адгезии. Оказалось, что, если к культивируемым опухолевым клеткам добавить фибронектин, выделенный из нормальных клеток, адгезия резко улучшается. В обработанных фибронектином опухолевых клетках изменяется внутренняя структура. Форма клетки определяется цитоскелетом — внутриклеточным каркасом, образованным структурными и сократительными белками. В опухолевых клетках цитоскелет дезорганизован. Добавление фибронектина приводит к восстановлению нормального высокоупорядоченного распределения одного из основных элементов цитоскелета — сети филаментов, состоящих из белка актина.

Как исчезновение фибронектина связать с проблемой рака? Согласно Р.О.Хайнсу (1986), опухолевые клетки перестают синтезировать фибронектин или производят его значительно меньше, чем нормальные. В свою очередь, уменьшение синтеза фиб-



ронектина влияет на трансмембранный комплекс — многомолекулярную структуру, включающую ответственный за связывание с клеткой домен фибронектина. Нарушение в этом комплексе в связи с нехваткой определенного компонента приводит к появлению особенностей, характерных для злокачественной трансформации: отсутствию наружного фибронектина, потере способности к адгезии и дезорганизации цитоскелета. Эти особенности, наблюдаемые *in vitro*, имеют отношение к нарушению механизма, регулирующего расположение клеток, и их перемещению. Могут ли все эти факты пролить свет на причину утраты фибронектина опухолевыми клетками? Как считает Р.О.Хайнс, ответ на этот вопрос мог бы раскрыть механизм рака. Согласно его точке зрения, простейшее объяснение такой утраты состоит в том, что опухолевые клетки перестают синтезировать фибронектин. Однако с нашей точки зрения, остается невыясненной причина резкого снижения синтеза молекул фибронектина. Окончательный ответ на этот вопрос дает тканевая модель канцерогенеза: в процессе эмбрионализации ткани адгезивные свойства резко снижаются в результате того, что недифференцированные клетки не синтезируют фибронектины, как и другие адгезивные молекулы. Это укладывается в более общую закономерность изменения состава синтезируемых белков, часть из которых исчезает из клетки в результате прогрессирующего омоложения.

#### **4. Гликофинголипиды**

Другим классом молекул, представляющих интерес с точки зрения молекулярных механизмов, определяющих поведение опухолевых клеток, являются Гликофинголипиды. В последние годы стало известно, что они располагаются в клеточной мембране и регулируют взаимодействия клетки с ее окружением.

Согласно Сен-Итиро Хакомори (1986), Гликофинголипиды служат маркерами и таким образом участвуют в процессах узнавания и контактов клеток. Экспрессия молекул на клеточной поверхности изменяется при делении и дифференцировке клеток, что указывает на важную роль гликофинголипидов в процессах роста и развития организма. Предполагаются два механизма их участия в регуляции роста клеток. Реагируя на плотность расположенных в непосредственной близости друг от друга клеток, гликофинголипиды могут стимулировать или подавлять деление клеток. С другой стороны, взаимодействуя с рецепторными белками на клеточной поверхности, они могут ингибировать ответ клеток на действие факторов роста, находящихся в окружающей среде.

Эксперименты свидетельствуют об изменении количественного состава гликофинголипидов в процессе канцерогенеза. Более 90% всех раковых заболеваний у людей начинается с перерождения эпителиальных клеток. Иммунохимический анализ гликофинголипидов опухолевых клеток показал, что многие опухолеспецифические антигены представляют измененные формы антигенов групп крови.

Согласно исследованиям Т.Ямакава (1952) из Токийского университета, характер распределения ганглиозидов — важной группы гликофинголипидов — связан с типом клетки и зависит от вида животных.

В лаборатории Сен-Итиро Хакомори было показано, что некоторые гликофинголипиды присутствуют на поверхности клеток определенных типов только в течение коротких промежутков времени, отвечающих конкретным стадиям эмбрионального развития. Результаты позволили Хакомори предположить, что гликофинголипиды имеют самое близкое отношение к механизмам деления и дифференцировки клеток.

Сложилось представление о двух аспектах участия сфинголипидов в жизнедеятельности клеток. Они могут как модулировать активность белков, находящихся на клеточной мембране, так и служить наряду с белками в качестве поверхностных маркеров, необходимых для межклеточных взаимодействий и их регуляции.

Рецепторные белки, находящиеся в плазматической мембране, часто выступают в роли важного звена цепи событий, которая приводит к митозу. Э.Бремер из лаборатории Хакомори в сотрудничестве с Д.Буэн-Поупом, Э.Рэйне и Р.Россом из Вашингтонского университета показали, что некоторые гликофинголипиды могут разрывать цепь событий, оказывая влияние на рецепторы, и таким образом подавлять деление клеток.

Обычно клетки животных делятся путем митоза и пролиферируют только в присутствии факторов роста, которые связываются с рецепторами на клеточной мембране. После этого рецепторы вместе со связавшимися с ними молекулами факторов роста переходят внутрь клетки.

Э.Бремер обнаружил, что добавление гликофинголипидов GM1 или GM3 к пролиферирующим клеткам останавливает их деление. Рецепторы клеток, пролиферация которых была остановлена таким образом, хуже присоединяют фосфатную группу. Эти эффекты специфичны для данного типа гликофинголипида. С.Хакомори (1986) считает, что функционирование рецептора зависит от его гликофинголипидного окружения в составе мембраны. Когда клетки трансформируются в некоторых видах злокачественных опухолей, они характеризуются резко сниженным содержанием GM3, а в других видах опухолей — пониженным со-

держанием GM1. Предполагается, что эти изменения коррелируют с потерей контроля над размножением клеток, который осуществляется при участии гликофинголипидов.

Как считают авторы, не всегда гликофинголипиды связаны с подавлением деления и дифференцировки клеток. Исследования Й. Нагаи и его коллег из Токийского университета показали, что добавление другого сфинголипида GQ1b к раковым эмбриональным клеткам нервной ткани, напротив, индуцирует образование зрелых нервных клеток. Согласно авторам, гликофинголипиды участвуют в механизме пролиферации и дифференцировки, направление которых они сами не определяют. С нашей точки зрения, можно иначе интерпретировать эти данные: поскольку остановка деления клеток сопряжена с повышением дифференциации клетки, то между данными, полученными ранее, и новым результатом нет противоречия.

Я. Фукуси и К. Абе из лаборатории Хакомори получили моноклональные антитела, избирательно взаимодействующие с эмбриональными антигенами Le<sup>x</sup> и Le<sup>y</sup>, которые имеют прямое отношение к гликофинголипидам. К антителам присоединялась метка, вызывающая окрашивание клеток, с которыми они связывались. Была выявлена значительная экспрессия димерной формы Le<sup>x</sup> в клетках эпителия желудка 35—45-дневных эмбрионов, а у 100-дневных эмбрионов этот антиген обнаруживался только в глубоких слоях эпителия пищевода и желудка. У новорожденных и взрослых антиген «FN» практически исчезает.

Онкоэмбриональные антигены обнаружались примерно в равных количествах в раковых клетках и в нормальных клетках определенных типов на некоторых кратковременных стадиях эмбриогенеза.

Антитела FN6 окрашивают эмбриональные ткани, но не окрашивают ткани желудочно-кишечного тракта взрослых. В то же время антитела FN6 вызывают специфическое интенсивное окрашивание клеток раковых опухолей пищевода и желудка.

Согласно Хакомори (1986), эти результаты являются весьма сильным подтверждением точки зрения, согласно которой раковые клетки по своим свойствам похожи на недифференцированные клетки, характерные для ранних стадий эмбрионального развития. Этот вывод, с нашей точки зрения, имеет принципиальное значение, он получен на основе молекулярно-генетических данных и хорошо коррелирует с данными относительно подобия раковых и стволовых клоногенных клеток.

В нормальных тканях взрослых организмов также выявляются эмбриональные антигены, но они находятся в глубине ткани и в гораздо меньших количествах. Такая ситуация хорошо укладывается в представление о функционировании стволовых клеток в тканях

кишечника. Получается, что одним антигеном окрашиваются эмбриональные клетки, стволовые клетки зрелых тканей и опухолевые клетки. Этот тройной параллелизм является убедительным подтверждением положения тканевой модели о том, что раковые клетки — это стволовые клетки, которые перешли к неконтролируемому росту в результате нарушения тканевого контроля.

## **5. Топобиология тканей и нарушение адгезии при раке**

Адгезия клеток играет важную роль в формировании тканей и органов в процессе эмбриогенеза. При эмбриональном развитии происходит дифференцировка клеток, их сортировка в организованные скопления сходных клеток, транслокация клеток в окончательно сформированные органы. Эти процессы зависят от специфического межклеточного узнавания и избирательной адгезии клеток (Хьюз, 1985).

Интегральный результат опухолеобразования связан с нарушением формы, топологической структуры ткани в результате избыточного, неконтролируемого роста клеток. Очевидно, к проблеме опухолеобразования можно подойти с точки зрения нарушения контроля формообразования и структуры ткани, т.е. рак — это нарушение топобиологии ткани, т.е. пространственной организации ткани. Лауреат Нобелевской премии Дж.М.Эдельман (1984, 1989) предложил назвать направление эмбриологии и гистологии, изучающее взаимодействия, проходящие на поверхности клеток и осуществляющие регуляцию их жизнедеятельности, топобиологией. Исследования этих проблем привели к открытию молекул клеточной адгезии — САМ (от англ. cell-adhesion molecules), которые представляют собой белки, опосредующие взаимодействия клеток в зародыше. В адгезии клеток участвуют несколько семейств молекул. Это молекулы адгезии к субстрату — SAM (от англ. substrate-adhesion molecules), молекулы клеточных контактов — SJM (от англ. cell junctional molecules) и молекулы САМ.

САМ находятся на клеточной поверхности и опосредуют межклеточные взаимодействия; SAM секретируются в межклеточную среду, где входят в состав сложного матрикса, к которому клетки могут прикрепляться; SJM участвуют в формировании сложных структур, соединяющих клетки в тканях, в частности так называемых плотных контактах, щелевых контактах и адгезионных контактах. Почти все известные САМ взаимодействуют друг с другом по гемофильному механизму: САМ одной клетки связывается с САМ того же типа соседней клетки.

Рассмотрим вначале генетический аспект эмбриогенеза, а затем фенотипический и топобиологический. Любой орган взрослого организма образован специализированными тканями и выполняет определенную задачу. В клетках проявляется лишь небольшая часть генетического потенциала, имеющегося в оплодотворенной яйцеклетке. За последнее время удалось идентифицировать некоторые гены-регуляторы, принимающие участие в управлении развитием (Геринг, 1985). В ходе развития эмбриона время различных событий и пространственная организация должны быть точно отрегулированы. Такие гены были идентифицированы у прозрачных круглых червей *Caenorhabditis elegans* — эти гены включаются в определенные моменты дифференцировки.

В экспериментах на плодовой мушке *Drosophila melanogaster* было обнаружено, что многие гены, контролирующие пространственную организацию, содержат один и тот же сегмент ДНК, который был назван гомеобоксом. Гены этого сегмента регулируют активность других генов. При трансляции гомеобокса образуется полипептид, который, как полагают, связывается с ДНК, в результате чего соответствующие гены «включаются» или «выключаются». Если в одной из групп эмбриональных клеток включается специфический набор генов, эти клетки направляются по пути развития крыла; активация иного набора генов формирует ноги и т.д. Гомеобокс выявлен у многих организмов — от червей до человека.

При образовании специализированных структур взрослого организма *C.elegans* в точно определенное время происходит разветвление клеточной родословной. Гены, изменяющие характер своей деятельности по достижении клетками определенной позиции, получили название хроногенов. В результате анализа мутаций было выяснено, что функция хроногена *lin-14* состоит в обеспечении дифференцировки клеток, образующих кутикулу, в результате чего клетки образуют кутикулу, характерную для взрослого организма. Сейчас известны многие другие хроногены, оказывающие влияние на дифференцировку клеточных линий.

В последнее время наблюдается прогресс в понимании деятельности генов сегментации и гомеозисных генов. Каждая мутация сегментации определенным образом влияет на упорядоченное разделение эмбриона на повторяющиеся сегменты. Одна из мутаций сегментации — мутация *fushi tarazu*, что по-японски означает «недостаточное число сегментов». У таких эмбрионов в определенных сегментах не хватает некоторых частей, и такие сегменты соединены с соседними сегментами.

В случае гомеозисных мутаций вместо одних частей тела развиваются другие, расположенные в норме в иных сегментах. На месте глаз у них вырастают крылья, там, где должен быть хоботок, развиваются ноги, вместо ног — антенны и т.д.

Все изученные гомеобоксы могут транслироваться в аминокислотные последовательности, и поэтому предположили, что гомеобокс кодирует домен-фрагмент белковой молекулы (его назвали «гомеодомен»). Гены, содержащие гомеобокс, регулируют множество других генов, но тем не менее они должны как-то регулировать самих себя. Выявление механизма регуляции регуляторов было еще одним достижением на пути идентификации факторов яйцеклетки, участвующих в определении позиционной информации. Согласно Герингу (1985), открытие гомеобокса у самых различных видов дает основание полагать, что механизмы, лежащие в основе развития, гораздо более универсальны.

Процессы эмбриогенеза очень сложны, они регулируются не только взаимодействием генов, но и сопутствующими эпигенетическими событиями, которые не определяются непосредственно индивидуальными генами, Адгезию и дифференцировку можно назвать фенотипическим проявлением генетической детерминации. Адгезия обусловлена молекулами белков, а белки кодируются генетически. Эти белки находятся на поверхности клеток и представляют собой гликопротеиды, т.е. белки с ковалентно присоединенными остатками Сахаров. Наиболее изученные из них — фибронектины — относятся к SAM.

На всех нейронах центральной и периферической нервной системы присутствуют молекулы клеточной адгезии (Н-МАК). Для уточнения вопроса, как влияет содержание МАК на агрессию клеток, были проведены эксперименты с искусственными липосомами; оказалось, что, когда липосомы содержали вдвое больше Н-МАК, скорость слипания возрастала в 30 с лишним раз. Таким образом, варьирование содержания МАК на поверхности клетки и замена эмбриональной формы на взрослую могут существенно влиять на темп агрегации клеток. Регуляция количества МАК и смена их форм происходят плавно, поэтому возможны промежуточные состояния с различной эффективностью связывания клеток (Эдельман, 1984).

На основе изучения динамики синтеза МАК Эдельман (1984) показал, что экспрессия их проходит в динамике: распределение и количество МАК меняются как при первичных, так и при вторичных индукциях. При превращении эпителия в мезенхиму МАК, по-видимому, исчезают с поверхности.

Мы подошли к главному вопросу, который связан с опухолеобразованием. Находятся ли процессы межклеточной адгезии в регуляторной обратной связи с цитодифференцировкой и клеточным делением? Согласно Эдельману, это пока неизвестно. А между тем это принципиальный вопрос в свете проблемы прогрессирующего омоложения при опухолеобразовании. С нашей точки зрения, имеющиеся факты позволяют дать положительный

ответ на него, т.е. констатировать, что клеточная адгезия напрямую зависит от состояния молекул адгезии на мембране, а они зависят от эмбрионализации ткани. Так, Р.Брэкенбери, М.Гринберг и Дж.М.Эдельман показали, что Н-МАК исчезают из нервных клеток, трансформированных вирусом (Эдельман, 1984). Фибронектины, относящиеся к САМ при невирусных формах рака, постепенно исчезают с поверхности опухолевых клеток (Фултон, 1987; Хайнс, 1986). Накопились многочисленные данные, показывающие, что прогрессирующее омоложение ткани при канцерогенезе приводит к резкому сужению спектра синтезируемых белков (ряд белков исчезает) и количественному уменьшению их содержания, что сближает трансформированные клетки с эмбриональными клетками (Ходосова, 1988), с позиции тканевой модели это получает объяснение, поскольку источником опухолевых клеток являются стволовые клетки.

Для объяснения связи тканеспецифических белков и молекул адгезии Эдельман предложил морфорегуляторную гипотезу. Согласно этой гипотезе, клетки управляются механохимическими циклами экспрессии САМ и окружающими САМ. Экспрессия этих генов определяет форму клеток и их реакцию на внешние сигналы, регулируя образование групп клеток, обменивающихся между собой сигналами, и влияет на другие гены тканеспецифических белков. Согласно концепции Эдельмана, механохимические силы, создающие группы клеток, регулируются взаимодействием клеточных поверхностей. Образование таких групп клеток сопровождается изменением сигналов, подаваемых клеткам, и их уровня дифференцировки. Такое влияние со стороны САМ и САМ должно играть важнейшую роль в формообразовании живого организма и в пространственной организации тканей.

Значительным открытием является обнаружение структурной гомологии между N-САМ и молекулами антител. На основании обнаруженной закономерности в 1969 году Эдельман сформулировал «доменную» гипотезу. В дальнейшем гипотеза полностью подтвердилась. Обнаружились новые члены постулированной им группы родственных молекул, названной суперсемейством иммуноглобулинов: рецепторы факторов роста и антигены тканевой совместимости. Эдельман предположил, что вся адаптивная иммунная система, характеризующаяся наличием суперсемейства иммуноглобулинов, возникла из более древней системы клеточной адгезии. В качестве основания он приводит тот факт, что адаптивная иммунная система есть лишь у позвоночных, т.е. сложилась на поздних этапах эволюции, а система клеточной адгезии распространена гораздо шире.

Мы касаемся не всех проблем и деталей, поскольку нас интересует проблема под определенным углом зрения: как изменяется ад-

гезия клеток в процессе опухолеобразования и какую роль в этом играет эмбрионализация тканей? Морфорегуляторная гипотеза Эдельмана хорошо дополняет и конкретизирует тканевую модель канцерогенеза. И наоборот, тканевая теория дополняет и конкретизирует морфорегуляторную гипотезу Эдельмана, в частности уточняет, каким образом связана межклеточная адгезия с цитодифференцировкой и клеточным делением. Согласно данным других авторов (Хайнс, 1986; Фултон, 1987), фибронектины, относящиеся к SAM, в опухолевых клетках резко уменьшаются и исчезают с поверхности. Следовательно, с позиции тканевой теории снижение количества молекул адгезии в результате эмбрионализации ткани должно привести к нарушению адгезивных свойств трансформированных клеток, что и наблюдается при опухолеобразовании. Эта картина дополняется и такими данными, что замена эмбриональной формы МАК на взрослую усиливает агрегацию клеток. Следовательно, процесс прогрессирующей эмбрионализации клеток приведет к ухудшению адгезионных свойств.

С позиции тканевой модели опухолеобразования возникает простое объяснение закономерности изменений адгезионных свойств опухолевых клеток. Поскольку форма, структура ткани определяется состоянием клеточной поверхности (ведущую роль в этом играют молекулы клеточной адгезии), а повышенная, ускоренная пролиферация вызывает прогрессирующее омоложение, эмбрионализацию ткани, то в том месте, где происходит стимуляция пролиферации, клетки постепенно будут терять молекулы адгезии. На каком-то этапе прогрессирующей эмбрионализации возникает потеря контроля над формой: появляются выпячивания (папилломатоз, полипоз) и разрастания, переходящие при дальнейшей прогрессии в инвазивный рост и метастазирование. Как известно, чем ниже степень дифференцировки клеток (что коррелирует с высокой пролиферативной активностью, клоногенностью), тем выше злокачественность.

Таким образом, имеются две взаимосвязанные системы контроля постоянства ткани: 1) тканевый гомеостаз и 2) топобиологические, адгезионные свойства, которые определяют межклеточные контакты, сцепленность клеток, что связано с состоянием молекул адгезии на поверхности мембран. Длительная хроническая пролиферация постепенно нарушает и первую, и вторую системы. Можно сказать, на пути опухолеобразования стоят две преграды, которые преодолеваются в ходе прогрессирующего омоложения, вызванного длительной избыточной пролиферацией. Следует отметить, что не только белки мембран, осуществляющие функции адгезии, исчезают при опухолеобразовании, но и другие белки также изменяются в количественном и качественном отношении (Ходосова, 1988).



С нашей точки зрения, изменение спектра синтезируемых белков в опухолевых клетках связано не с генетическими повреждениями онкогенов, что предполагается в теории онкогена, а является следствием прогрессирующего омоложения ткани. Это положение можно аргументировать тем, что прогрессирующее омоложение свойственно не только опухолеобразованию, но и длительным регенераторным процессам, связанным с различными повреждениями ткани.

## **6. Факторы метастазирования и проблемы гетерогенности опухолевых клонов**

Факторы, стимулирующие пролиферацию, которые вызывают трансформацию, определяют также и характер метастазирования опухоли. Основным механизмом действия половых гормонов на развитие рака, как считают многие авторы, является их митогенный эффект (Терещенко, Кашулина, 1983). Бурная пролиферация опухолевых клеток, в основе которой лежит избыточный уровень половых стероидов, служит одной из предпосылок инвазивного роста первичной опухоли.

В тканевой теории эти проблемы получают новое освещение, поскольку рассматриваются не в контексте «гормон — клетка», а в системе «гормон — тканевый гомеостаз». В этом контексте связей ткань рассматривается как саморегулирующаяся относительно автономная система, находящаяся в системе регуляции организма. Поэтому независимо от природы канцерогенных факторов результат воздействия на ткань проявляется в виде того или иного уровня функциональной нагрузки, определяющей пролиферативный режим ткани. Ответные реакции ткани на изменения внешних воздействий более однотипны, чем характер воздействия различных канцерогенных факторов. При этом эндогенное канцерогенное воздействие функционального характера осуществляется через те связи, которые действуют также и в норме. Следовательно, канцерогенные воздействия, которые явились причиной опухолеобразования, сохраняют свое канцерогенное действие на стадии прогрессии опухоли вплоть до злокачественной фазы.

Что касается влияния иммунитета, то многие авторы констатируют иммунологическую несостоятельность организма при раке, что способствует диссеминации опухоли. Под иммунологической несостоятельностью понимают не только недостаточный уровень иммунных реакций организма, но и способность опухолевых клеток «ускользать» от их повреждающего действия. В большей мере такой возможностью обладают слабоантигенные анаплазированные элементы опухоли. Хотя иммунологическая несостоятельность при

раке и признается многими авторами, однако в теоретическом плане проблема до конца не решена. В тканевой модели эта проблема получает новое освещение и решение. Поскольку из-под контроля выходят стволовые клоногенные клетки, которые обеспечивают в норме тканевое воспроизводство, то проблема их чужеродности в отношении иммунитета снимается. С позиции новой модели тканевый контроль осуществляет функцию контроля пролиферации, которую раньше связывали с иммунной системой. Следовательно, нарушение контроля деления клеток связано с состоянием тканевой системы, а не вызвано мутацией онкогенов.

Распространенной точкой зрения является представление, согласно которому опухолевая прогрессия отражает постоянную карิโอтипическую изменчивость популяции опухолевых клеток и появление в пределах опухоли субпопуляции с новыми фенотипическими свойствами (Лобко, Порубова, 1989). Исходя из нового понимания механизма трансформации, согласно тканевому подходу, опухолевая прогрессия представляет собой процесс прогрессирующей эмбрионализации, в результате которой нарушается тканевый контроль, а стволовые и коммитированные клетки переходят к злокачественному росту. Степень злокачественности клетки определяется степенью клоногенности или пролиферативным потенциалом, который максимален у стволовых и минимален у дифференцированных клеток. По мере дифференцировки опухолевых клеток их злокачественность исчезает у дифференцированных форм.

Первые убедительные доказательства гетерогенности популяций опухолевых клеток в отношении метастатических потенций были представлены в работах Fidler и Kripke (1977). Авторы пришли к заключению, что в пределах первичной опухоли предсуществуют субпопуляции опухолевых клеток с различным метастатическим потенциалом. Метастатическая гетерогенность клеток первичных опухолей была затем подтверждена во многих экспериментах.

Как считают Fidler, Poste (1985), для возникновения метастатической гетерогенности в популяции опухолевых клеток не требуется длительного латентного периода. Создается впечатление, что гетерогенность клонов имеется в ткани еще до канцерогенного воздействия. Это предположение можно корректно обосновать тем, что при изоляции и трансплантации стволовые клетки проявляют злокачественный рост в силу имманентных свойств.

Процесс метастазирования начинается с локальной инвазии стромы хозяина клетками первичной опухоли. Процесс может происходить под действием механического давления, в результате повышения подвижности опухолевых клеток либо вследствие продукции опухолевыми клетками специфических белков, нарушающих строму опухоли.

Усиленное прорастание в опухоль кровеносных сосудов обычно способствует процессу метастазирования. Стимуляция роста сосудов происходит, очевидно, согласно тому же механизму, который обеспечивает их рост в норме. Для кровеносных сосудов опухоль — это дополнительная масса клеток, которая требует снабжения кровью и поэтому роста дополнительных сосудов. Очевидно, существует определенное соответствие между клеточной массой и развитием кровеносных сосудов. Нарушение такого соответствия формирует сигнал, стимулирующий развитие сосудов.

Как проверить, какая из концепций относительно наличия в опухоли клеток с различным потенциалом метастазирования верна? Если верна мутационная концепция, то выделенные клетки с большой метастатической потенцией и клетки с низкой потенцией должны давать клоны с теми же признаками, как это следует из клонально-селекционной концепции рака. Если же верна тканевая модель, то каждая стволовая клетка создает клон, в котором клетки различаются степенью дифференцировки, что проявится в их различной метастатической способности. Согласно имеющимся фактам, опухолевые клетки не теряют способности к дифференцировке (Белоусова, 1993; Швембергер, 1987).

Клетки колоний эмбриональных фибробластов, трансформированные *in vitro* вирусом саркомы мышей, вводили внутривенно мышам сингенной линии (Fidler, Poste, 1985). Установлено, что исследованные линии образуют различное количество фокусов в легких. Затем клоны из двух колоний (с низким и высоким метастатическим потенциалом) были реклонированы, и их метастатические возможности были исследованы. Оказалось, что каждый из исследованных клонов давал гетерогенную картину по количеству фокусов в легких. Причем клоны с высокими метастатическими потенциями проявили большую вариабельность, чем слабо метастазирующие клоны. Авторы делают вывод, что, несмотря на уницеллюлярное происхождение трансформированных клонов, каждый клон уже содержит субпопуляции клеток с различными метастатическими свойствами. Таким образом, результаты исследований подтвердили выводы, сделанные на основании тканевой модели, и разрушили представления, сделанные на основании мутационной гипотезы.

Показано, что через 24 часа после попадания клеток в кровь только 1% из них сохраняет жизнеспособность, и только 0,1% обнаруживает способность давать метастазы (Fidler, 1970). Очевидно, это можно объяснить тем, что такое процентное содержание соответствует количеству активизированных стволовых клеток в ткани, поскольку именно стволовые клетки являются источником раковых при трансформации.

В настоящее время метастазирование рассматривается как многоступенчатый процесс. Выделяются последовательные этапы: 1) местная инвазия опухоли; 2) разрушение внеклеточного матрикса протеазами; 3) передвижение опухолевых клеток в измененном внеклеточном матриксе. Обнаружена система регуляции активности протеолитических ферментов, затрагивающая синтез и выделение ферментов из клеток.

Широко распространена гипотеза о положительной корреляции между показателями нестабильности генома, мутациями и злокачественностью. Выше мы попытались показать, что злокачественность опухолевых клеток имеет другую основу, связанную со свойствами стволовых клеток. Еще одним доводом, подкрепляющим нашу позицию, служат данные (Кравцов и др., 1990), которые позволили авторам утверждать, что связь между злокачественностью и некоторыми показателями нестабильности генома не является обязательно положительной. Высказывается предположение, что, возможно, чрезмерно высокие частоты генетической изменчивости приводят к снижению жизнеспособности клеток и как следствие этого — к снижению их способности метастазировать.

Таким образом, в понимание процесса метастазирования тканевая теория вносит ряд принципиально новых положений: 1) она меняет представление о природе злокачественных клеток, показывая, что злокачественность обусловлена не мутациями, а клоногенностью стволовых и коммитированных клеток, обладающих активизированными онкогенами, при нарушении тканевой регуляции; 2) новую трактовку получает проблема нарушения адгезии опухолевых клеток, что связывается со снижением дифференцированности клеток в результате эмбрионализации ткани при ускоренной пролиферации и снижением синтеза молекул адгезии; 3) новое освещение получила проблема гетерогенности клонов с различными потенциями к метастазированию, она связывается со структурой дифферона и степенью дифференцированности клеток клона.

## **7. Дедифференцировка и изменение ферментативного спектра при раке**

Тканевая модель исходит из того, что основные составляющие факторы и проявления канцерогенеза в начальной стадии носят неспецифический характер. Однотипный характер изменения ферментов в ответ на воздействие различными канцерогенами, сходство этих изменений с таковыми при воздействии неканцерогенными изомерами свидетельствуют о том, что специфичность определяется особенностями реагирования ткани, а не особенностями химического агента (Колосова, 1976).

При рассмотрении изменений активности ферментов в опухолях привлекает внимание тот факт, что имеются упорядоченные изменения, повторяющиеся, как правило, в разных опухолях и коррелирующие со скоростью роста опухоли. К последним можно отнести черты дедифференцировки, появление эмбриональных белков и сдвиг изозимных спектров ряда ферментов в сторону состава, характерного для эмбриональной ткани.

На ранних стадиях гепатоканцерогенеза изменения активности ферментов, регистрируемые при анализе целого гомогената печени, заключаются в снижении уровней активности тканеспецифических ферментов и появлении изозимов, характерных для эмбриональной печени. При введении крысам гепатоканцерогенов (ДАВ, 3-МЕ-ДАБ, ДЭНА, афлатоксина В) в печени отмечено падение активности тканеспецифических ферментов (глюкозо-6-фосфатазы, глюкокиназы, аргиназы, пируваткиназы L) и увеличение активности эмбрионального изозима пируваткиназы (K), а также ГК, преобладание которой по сравнению с глюкокиназой характерно для низкодифференцированных гепатом и эмбриональной печени (Саямон, 1974; Кильдема, 1978; Yanagi et al., 1984). С позиции тканевой теории рака эти явления можно объяснить репопуляцией клеточного состава ткани, в результате чего он обновляется и омолаживается.

В результате повреждения гепатоцитов токсическими метаболитами канцерогенов происходит частичная гибель дифференцированных клеток и их замена обновленными гепатоцитами, возникающими вследствие овальноклеточной пролиферации (Ogawa et al., 1974a, 1974b и др.).

При скормливания крысам диеты, содержащей 0,06% 3-МЕ-ДАБ, самыми ранними изменениями в составе клеток печени была дегенерация предсуществующих дифференцированных гепатоцитов, которые заменялись клетками овальноклеточных пролифератов, через 11 недель исходные гепатоциты были почти полностью заменены обновленными, при этом наиболее резкое падение активности глюкозо-6-фосфатазы в гомогенате печени приходилось на первые 2—3 недели опыта, когда происходили дегенерации исходных гепатоцитов; параллельно с овальноклеточной пролиферацией наблюдалось увеличение в печени активности эмбрионального изозима альдолазы (А) (Iwasaki et al., 1972; Ogawa et al., 1974a, 1974b).

Регистрируемые в гомогенате ткани печени крыс снижение активности ферментов, специфичных для дифференцированных гепатоцитов (аргиназа, глюко-6-фосфатаза, альдолаза В), и увеличение активности фермента (альдолаза А), характерного для низкодифференцированных клеток печени, после воздействия как канцерогеном, так и его неканцерогенным аналогом свидетельствуют о

независимости наблюдаемых изменений от канцерогенных свойств агентов. Одной из причин этого явления, согласно И.А.Ходосовой (1988), могут быть вызванные повреждающим действием агентов дегенеративные изменения дифференцированных гепатоцитов и увеличение доли низкодифференцированных клеток. Однонаправленность выявленных морфологических и биохимических изменений отражает снижение уровня дифференцированности ткани.

Наблюдаемые на ранних стадиях гепатоканцерогенеза изменения активности маркерных ферментов являются обратимыми. Более или менее стабильные изменения наблюдаются в энзимдефицитных областях, гиперпластических очагах или узелках, появляющихся через достаточно отдаленное время после начала хронического введения животным канцерогенов (Farber, 1976).

Клетки большей части гиперпластических узелков со временем подвергаются дифференцировке и становятся неотличимыми от нормальных гепатоцитов. Важно отметить, что в то же время имеются работы, в которых доказывается образование гепатокарцином из части узелков (Roomi et al., 1985). Если рассматривать эти данные с позиции традиционного подхода, то из двух вышеприведенных положений надо исключить одно: либо справедлива первая точка зрения, согласно которой гиперпластические узелки способны нормализоваться, если снять канцерогенное воздействие, и поэтому не имеют отношения к канцерогенезу, основанному на мутациях, либо надо признать вторую точку зрения, т.е. что из узелков формируется опухоль. В рамках тканевой теории такого противоречия не возникает: справедливы и первая, и вторая точка зрения, все зависит от уровня канцерогенного профиля, от фазы продвинутое™ опухолеобразования. Первая фаза канцерогенеза обратима, поэтому прекращение канцерогенного воздействия приводит к нормализации — опухолевой регрессии. Если же канцерогенное воздействие не прекращается, то опухолевый процесс приобретает спонтанность, неконтролируемый рост. Отметим, что положение об обратимости опухолеобразования в начальной фазе имеет клиническое значение: опухоль можно лечить путем устранения (нейтрализации) источника повышенной пролиферации. Один из аспектов клинического значения тканевой теории заключается в том, что она конкретизирует природу канцерогенного фактора, выявляя «эквивалент» (т.е. общий знаменатель) канцерогенного воздействия.

В процессе канцерогенного воздействия происходит изменение реагирования на гормональную регуляцию, появляется сходство с таковой в эмбриональных тканях. В ряде случаев это выражается в нечувствительности к гормонам тканей взрослого организма.

С нашей точки зрения, потерю способности опухоли реагировать на гормоны можно объяснить следующим образом. Необходи-

димо принять во внимание, что рецепторы к гормонам синтезируются дифференцированными клетками, поэтому омоложение клеток приведет вначале к частичной, а затем к полной потере рецепторов и, как следствие, потере чувствительности к гормональной регуляции. Отметим, что данный механизм не представляет генетических нарушений ДНК.

На основании изучения изменений активности ферментов и изозимного состава в опухолях был сделан вывод о происходящей в ходе малигнизации дисдифференцировке клеток. На основе этих фактов была создана концепция, рассматривающая рак как болезнь дифференцировки (Фель, Швембергер, 1968; Ашмарин и др., 1972; Markert, 1968; Sugimura et al., 1972).

Таким образом, тканевая теория — это иной «архитектурный» принцип механизма трансформации, включающий в себя основные конструктивные подходы, она интегрирует их в единую теорию, в которой находит место как идея молекулярно-генетического подхода, связывающая рак с ненормальной активизацией онкогенов, так и идея, основанная на нарушении дифференцировки клеток, эпигенетические модели и другие концепции.

## **8. Теория лейкоза**

Считается, что 60—90% злокачественных новообразований у людей обусловлены влиянием факторов окружающей среды. Одним из сильнейших факторов, вызывающих лейкоз, является радиация. Онкогенный эффект лучевого воздействия общепризнан. Его считают этиологическим фактором в увеличении новообразований разной локализации — гемобластозов и рака кожи у работающих с  $\gamma$ -облучением, рака легкого у шахтеров урановых и других рудников, остеосарком при работе с радием, лимфом при действии урана. Взрыв атомной бомбы в Хиросиме привел к широкому распространению лейкозов и привлек внимание общественности к этому виду рака крови. Такая же трагедия произошла в Чернобыле и ряде других мест.

Рак крови начинается с симптомов, кажущихся безобидными: катаральные поражения слизистых оболочек, кровоточивость, незначительное повышение температуры, утомляемость, малокровие. Особое место занимают острые лейкозы — наименее излечимые онкологические заболевания, поражающие кроветворную систему. Частота возникновения острых лейкозов во всем мире растет.

По мнению Л.А.Стрелкова (1992), на сегодня нет полной, окончательной концепции, объясняющей возникновение и развитие лейкозного процесса.

При лейкозе в кровь попадают молодые незрелые или частично недифференцированные лейкоциты, недифференцированные гранулоциты, моноциты или клетки — предшественники эритроцитов. Имеется несколько видов лейкоза: миелоидный, лимфоидный, моноцитарный лейкоз и лейкоз плазматических клеток. Считается, что форма лейкоза определяется тем, в каких форменных элементах развивается патология. Согласно точке зрения Балажа (1987), лейкоз возникает вследствие патологической пролиферации клеток костного мозга — самого важного органа кроветворения.

Хронический лейкоз характеризуется тем, что в крови одновременно появляются клетки почти на всех стадиях созревания. Так, при хроническом миелоидном лейкозе в крови обнаруживаются миелобласты, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты и гранулоциты. Различают две формы лейкоза — острую и хроническую. При острой форме в крови и костном мозге появляется большое количество молодых бластов. Это могут быть миелобласты, тогда это определяется как острый миелоидный лейкоз, лимфобласты — острый лимфоидный лейкоз, моноцитобласты и т.д. Остальные клетки крови представляют зрелые формы. Для хронического лейкоза характерно медленное появление в крови клеточных форм всех степеней зрелости. В крови такого больного можно обнаружить миелобласты, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты и дифференцированные конечные клетки — гранулоциты.

Чтобы разобраться в механизме лейкоза, необходимо проанализировать теоретические основы нарушения гомеостатических систем. Защитно-приспособительные реакции органов и тканей организма, обеспечивающие постоянство их функций, сформировались в процессе эволюции. На тканевом уровне таким механизмом неспецифической защиты является тканевый гомеостаз. При избыточных длительных патогенных, канцерогенных или функциональных воздействиях, превышающих норму «изнашиваемости клеток», в ткани развивается компенсаторный процесс в виде регенерации внутриклеточных структур либо усиления пролиферации клеток. Таким образом, канцерогенное воздействие вызывает повышенную пролиферацию клеток, биологический смысл которой состоит в компенсации отмирающих клеток.

Рассмотрим, как развивается лейкоз при воздействии радиации и бензола. При длительном воздействии радиации и бензола (Захаров и др., 1990) через несколько лет от начала воздействия наблюдаются признаки гипопластического состояния кроветворной ткани, проявляющиеся в умеренной цитопении в сочетании с компенсаторным напряжением в системе крови. При более интенсивном хроническом лучевом воздействии (ЛВ) и воздействии бензола (ВБ) развивается выраженная гипоплазия костного мозга и стойкая цитопения в крови.



При хроническом воздействии бензола отмечается уменьшение доли зрелых и созревающих клеток — палочко- и сегментоядерных нейтрофилов, полихроматофильных и оксифильных нормобластов — и относительное увеличение молодых форм — миелобластов, промиелоцитов, миелоцитов, проэритробластов, базофильных и полихромных эритробластов (Фраш, 1972). По мнению В.Н.Захарова и др. (1990), обнаруженные изменения в созревании кроветворных клеток, по-видимому, имеют определенное значение в развитии нарушений кроветворения, обусловленных длительным ЛВ и ВБ.

Рассмотрим развитие лейкоза с иных позиций — не как результат мутаций стволовой кроветворной клетки, а как результат нарушения саморегулирующейся гомеостатической системы с обратной связью. В последние годы появились новые направления исследования динамических систем, где используется аппарат теории динамических систем. В ряде работ система крови рассматривается как сложный осциллятор (Егармин, 1982; Morleyetal, 1970; Kazarinoff, Driesche, 1979), причем параметры осцилляции — размах и частота — отражают качество регулирования систем. Показано, что начальные стадии угнетения пролиферации в костном мозге при введении цитостатиков сопровождаются увеличением осцилляции, т.е. размаха колебаний нейтрофилов. В период выраженной депрессии костного мозга средний уровень нейтрофилов и размах их колебаний уменьшаются.

Согласно Л.Глассу и М.Мэки (1991), подход к заболеваниям кроветворения с позиции циклического функционирования позволяет выявить новые аспекты развивающейся патологии. При многих заболеваниях нормальная организация нарушается и заменяется аномальной динамикой. Заболевания, в основе которых лежит нарушение ритмического характера, Л.Гласе и М.Мэки (1991) предложили назвать динамическими болезнями. Во многих клинических ситуациях, в которых встречается аномальная динамика, ей предшествуют патологические структурные нарушения и изменения параметров физиологического регулирования.

Исследования клеточного цикла и систем регуляции содержания клеток в крови привели к ряду предположений. Клинические данные и изучение динамики систем с обратной связью в регуляции гемопоэза привели к выводу, что у пациентов с заболеваниями крови можно ожидать появления колебаний и хаотической динамики. В исследованиях периодического гемопоэза (циклической нейтропении) Маскеу (1973) установил связь динамических изменений, обнаруживаемых в популяциях кровяных клеток у больных, с бифуркацией в динамическом поведении популяции полипотентных стволовых клеток (ППСК), предсказав период колебаний, а также ряд других характеристик. Им была

высказана гипотеза о том, что бифуркация возникает в результате аномальной гибели клеток во время пролиферативной фазы в популяции ППСК. Эта гипотеза была подтверждена. Полагают, что больные с апластической анемией страдают этой патологией и у некоторых возникают колебания в численности стволовых клеток и более зрелых гемопоэтических клеток во время восстановления. Установлено, что у пациентов с заболеваниями крови часто возникает цикличность. В отсутствие терапии у больных с ХМЛ обнаруживается заметное колебание уровней белых кровяных клеток. Тот факт, что цикличность может быть либо регулярной, либо хаотической, осложняет лечение.

Как известно, лечение лейкозов не всегда приносит успех. Как считают Л. Глазе и М.Мэки (1991, с.196), «некоторые пациенты умирают из-за того, что подверглись терапии, гораздо скорее, чем если бы их оставили в покое, в то время как у других жизнь продлевается». Возникает необходимость в использовании подходов нелинейной динамики в терапии лейкозов. Например, один из выводов состоит в том, что у больных с гипоплазией костного мозга различного происхождения чем больше снижать потребность в продуцировании дифференцированных клеток популяции ППСК, тем более выгодным это оказывается для восстановления ППСК и их костномозговых потомков. Иными словами, снижение пролиферативной нагрузки способствует нормализации тканевого гомеостаза.

Рассмотрим кратко систему крови с позиции воспроизводства тканевого гомеостаза. Кровь содержит разные типы клеток, выполняющие функции транспорта кислорода, выработку антител и другие функции. Время существования у всех клеток ограничен, но, поэтому их воспроизводство осуществляется за счет общей стволовой клетки. Гемопоэтическая, или кроветворная, стволовая клетка является плюрипотентной, т.е. дает начало всем типам терминально дифференцированных клеток. Красные кровяные клетки — эритроциты — переносят гемоглобин. Белые кровяные клетки — лейкоциты — борются с инфекциями, осуществляют санитарную функцию. Тромбоциты регулируют свертывание крови, помогают восстанавливать поврежденные участки кровеносных сосудов. Различные клетки крови образуются в различных количествах, и образование каждого их типа регулируется отдельно в соответствии с потребностями. Из этого следует, что в гемопоэзе действуют сложные управляющие механизмы. Клетки всех типов для замены погибших должны создаваться с нужными скоростями. Когда клетка дифференцировалась как эритроцит, гранулоцит и т.д., обратный путь для нее закрыт: состояние дифференцировки необратимо (Албертс и др., 1987). Как же происходит регуляция нужных количеств клеток? Недостаток эритроцитов после каких-либо повреждений по-

буждает клетки почек к синтезу эритропоэтина, а избыток эритроцитов снижает секрецию гормона. Поскольку поступление в кровь новых эритроцитов происходит через один-два дня после повышения уровня эритропоэтина, то, очевидно, он действует на очень близких предшественников зрелых эритроцитов. Клетки эритроидного ряда, путь дифференцировки которых определен, должны пройти несколько последовательных циклов деления, во время которых они становятся все более и более чувствительными к эритропоэтину. Помимо эритропоэтина существует ряд аналогичных гормонов, вырабатываемых в ответ на возникающую потребность в лейкоцитах разного рода. Очевидно, для каждого вида коммитированных клеток-предшественниц нужен специфический гликопротеиновый фактор, действие которого определяет размножение предшественников и продуцирование дифференцированного потомства (Албертс и др., 1987). Данные позволяют предполагать, что в процессе развития общего предшественника гранулоцитов и макрофагов имеется стадия, на которой осуществляется выбор одного из двух направлений более узкой специализации и этот выбор определяется концентрацией особого фактора (*granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF*) в среде.

Согласно Л.Глассу и М.Мэки, гормональное регулирование гомеостаза нейтрофилов происходит на уровне между циркулирующей нейтрофильной массой и миелоидными стволовыми клетками. Уменьшение числа циркулирующих нейтрофилов приводит к образованию и высвобождению гормона гранулопоэтина, который действует на популяцию стволовых клеток, увеличивая пролиферацию и поток клеток в популяцию предшественников миелоцитов. Математическая модель, которая отражает динамику такой системы, учитывает корреляцию между скоростью распада клеток и скоростью их образования, а также варианты значений параметров, при которых достигается устойчивость.

Однако математические модели динамики системы крови — это все же не сама теория лейкозов, а лишь определенный аспект, срез качественного явления, биологическая сущность которого сформулирована специалистами, занимающимися природой рака крови. Появление таких моделей позволяет по-новому подойти к природе рака и убеждает, что механизм канцерогенеза реализуется не в отдельной клетке, а представляет собой нарушение тканевой системы регуляции гомеостаза. Причина нарушения контроля пролиферации не связана прямым образом с мутациями онкогенов или иными необратимыми изменениями генома. Даже в случае наследственных генетических дефектов лейкозогенез реализуется по схеме, описываемой тканевой теорией, где мутации выполняют роль неспецифических факторов, усиливающих пролиферативный режим тканевого гомеостаза.

Существуют ли объективные критерии, на основании которых можно обосновать, что механизм лейкозогенеза развивается согласно тканевой модели? Если механизм лейкоза осуществляется согласно тканевой модели, то это должно обнаруживаться по характерным признакам: 1) механизм трансформации должен быть неспецифичен в том смысле, что огромное число канцерогенов способно вызвать трансформацию; 2) действие канцерогенов должно вызывать длительную повышенную пролиферацию, соответствующую канцерогенному профилю, в качестве компенсаторной реакции; 3) хроническая пролиферация должна инициировать прогрессирующую эмбрионализацию, поскольку она связана с обратимой блокировкой дифференциации; 4) если тканевая модель справедлива в целом, то в качестве следствия из нее вытекает положение, согласно которому результат трансформации должен носить обратимый характер, т.е. в результате дифференцировки лейкозные клетки теряют злокачественные свойства. Альтернативная модель, теория онкогена, приводит к противоположному результату — необратимой трансформации и соответственно необратимой блокировке дифференцировки в результате мутаций и иных изменений генома.

Отличие тканевой теории в том, что она связывает различные по природе проявления канцерогенеза в логически стройную систему последовательности событий, которые приводят к неконтролируемой пролиферации. Она связывает динамику пролиферации с процессом воспроизводства тканевой структуры клеточных популяций, т.е. структуры гомеостаза, от состояния которого зависит контроль деления клеток. Прогрессирующая эмбрионализация клеток постепенно нарушает воспроизводство тканевого гомеостаза, поэтому выходит из строя контроль пролиферации, т.е. структура и функция органично взаимосвязаны в системе тканевого гомеостаза.

Анализ предлейкозных состояний, проведенный И.Г.Акоевым (1987), позволил сделать ряд интересных принципиальных выводов, которые подтверждают тканевый подход к механизму лейкоза: 1) процессу малигнизации клеток в абсолютном большинстве случаев предшествует период активной пролиферации; 2) в условиях измененного режима пролиферации клетки приобретают черты эмбриональных клеток, вследствие недостатка времени на полноценное прохождение этапов дифференцировки; 3) появление и закрепление злокачественности происходит, по-видимому, не путем генных и хромосомных мутаций, а путем принципиально обратимого фиксирования на уровне генетической регуляции; 4) вероятность злокачественного заболевания определяется состоянием организма и его физиологических систем, которое зависит от возраста, наследуемых конституционных и психофизиологических особенностей организма.

Следует отметить, что распространенная точка зрения на механизм лейкоза как результат мутаций стволовой кроветворной клетки содержит в себе противоречие, поскольку наряду с этим признается способность лейкозных клеток проходить стадии дифференцировки, теряя злокачественность. Известно, что и нормальные стволовые кроветворные и опухолевые лейкозные стволовые клетки обладают способностью к длительному самоподдерживанию и дают потомство более дифференцированных клеток при воздействии индуцирующих факторов (Бутенко, 1983). S.L.Sach (1981) показал, что неопластические клетки при ХМЛ обладают признаком стволовых клеток и способны дифференцироваться как в гранулоциты, так и в В-клетки. Представление о трансформации в результате мутации стволовой клетки и данные по нормализации лейкозных клеток в результате созревания противоречат друг другу. Столкновение этих положений невольно ставит вопрос о доверии к экспериментальным данным и теоретическим выводам, сделанным на их основе. По существу, необходимо сделать выбор и отбросить как ошибочное либо первое положение, либо второе. В рамках теории онкогена это противоречие неразрешимо, поскольку заключение о принципиальной обратимости трансформации означает опровержение молекулярно-генетической теории, в основе которой лежит мутационная концепция. Следовательно, в рамках теории онкогена это противоречие не поддается решению. В рамках тканевой теории обнаруженный парадокс получает рациональное объяснение, что опровергает теорию онкогена.

Особое место в ряду онкологических заболеваний крови занимает острый лейкоз. Известно, что процесс острого лейкоза (ОЛ) сопровождается гемодепрессией и дисгемопозозом. Как считает Л.А.Стрелков (1992), формирование лейкозной опухоли сопряжено с дисбалансом иммунной и кроветворной систем. Существующий в норме баланс миелоидной и лимфоидной ткани, определяемый нормальным функционированием Т-лимфоцитов, в значительной степени предупреждает развитие лейкоза. Сбой в иммунной системе связан с дисфункцией Т-лимфоцитов, нарушением баланса и провоцирует развитие лейкозных клеток. При ОЛ характерно ослабление или извращение функции Т-лимфоцитов, появляются незрелые их формы, т.е. нарушена дифференцировка. С другой стороны, известно, что зрелые Т-лимфоциты проявляют противоопухолевую активность, а незрелые усиливают опухолевый рост. По мнению Л.А.Стрелкова (1992), «синдром угнетенного кроветворения не только обязательный признак ОЛ (и ОМЛ): он может быть ведущим патологическим фактором, определяя развитие рака крови».

Проанализируем ряд закономерностей при лучевом и бензольном воздействии малой интенсивности. Ранние реакции системы

крови представляют комплекс изменений отдельных ростков кроветворной ткани, в которой преобладают неспецифические реакции: нейтрофильный лейкоз, лимфопения, эозинофилопения, ретикулоцитоз, различные качественные изменения клеток крови.

Более специфическим проявлением являются гиперклеточные реакции в периферической крови — лейкоцитоз, ретикулоцитоз, тромбоцитоз, эритроцитоз. Такие гиперклеточные реакции считают признаком активации соответствующих ростков под воздействием канцерогенов. Как считают Захаров и др. (1990), причина гиперцитозов связана с компенсаторно-приспособительной реакцией, В условиях уменьшения продукции клеток в костном мозге компенсаторно-приспособительные реакции организма направлены на поддержание уровня клеток в крови. Это достигается за счет ускоренного выхода клеток из костного мозга и регистрируется в виде «омоложения» состава крови. При радиационном и бензольном воздействии отмечается уменьшение доли зрелых и дозревающих клеток, связанное как со снижением продукции, так и с усилением выброса клеток в кровь. Показано, что повышение пролиферативного пула стволовых клеток является ранней компенсаторной реакцией на лучевое воздействие (ЛВ) и воздействие бензола (ВБ).

Нарушение контроля пролиферации и дифференцировки клеток является общим проявлением канцерогенеза. Каковы причины блокировки дифференцировки клеток крови? Согласно Истамановой и др. (1973), гематологическая картина гипоплазии зависит от уровня кроветворения, на котором происходит задержка созревания. Если поражаются родоначальные кроветворные клетки, то возникает панмиелопатия, если же поражаются более дифференцированные клетки, то возникают соответствующие виды гипоплазии. Согласно Бахтину и др. (1987), «...механизм действия вирусов и невирусных лейкемогенных факторов — активация клеточных протоонкогенов и превращение их в трансформирующие онкогены. Это может быть связано с внутриклеточными процессами — точечными мутациями, генными перестройками и амплификацией генов...». С позиции другой группы авторов, гипоплазия обусловлена чрезмерным хроническим раздражением и гиперфункцией гемопоэза, что приводит к снижению продукции клеток, затем к истощению кроветворной ткани (Данилов и др., 1969; Moeshlin, 1958; Venestad, 1975). Эта последняя точка зрения, связывающая лейкоз с хроническим усилением распада клеток периферической крови и истощением гомеостаза, в тканевой теории получила дальнейшее развитие.

У больных острым лейкозом в стадии предлейкоза выявлены: резкое снижение колониеобразующей и колониестимулирующей активности костного мозга и периферической крови; угнетение пролиферации и извращение созревания миелоидной ткани, ане-

мия, цитопения. В начальной стадии ОЛ происходит сбой «дифференцировочных программ» гемопоэза, который характерен для гипопластической анемии (Стрелков, 1992). Основным поражающим фактором в механизме гемодепрессии при ОЛ считается вытеснение и замещение нормального гемопоэза опухолевой тканью (Воробьев, Бриллиант, 1974). Эту тенденцию определяют также как прогрессирующую эмбрионализацию клеток в процессе опухолевой прогрессии.

Отмечается, что при развитии ОМЛ исчезает активность фактора созревания лимфокинаина, ответственного за дифференцировку лейкозных бластов в зрелые моноциты/макрофаги (Chiao, 1987; Chiao, 1986; Leung, Chiao, 1985). Таким образом, угнетение гемопоэза определяется дисфункцией Т-лимфоцитов, что сопровождается спадом активности всех основных лимфокининов. В пользу этого говорят факты участия лимфокининов в реакциях иммунной системы и процессах гемопоэза, а также то, что обработка лейкозных бластов лимфокининами вызывает их дифференцировку (Стрелков, 1992).

Важно подчеркнуть, что при восстановлении гемопоэза сохраняется способность лейкозных бластов к дифференцировке как *in vivo*, так и *in vitro* (Алексеев, Воронцов, 1988; Афанасьев, Алмазов, 1985; Владимирская, Торубарова, 1985). Учитывая механизм тканевой теории лейкозогенеза появляется возможность сформулировать новую идею принципа «золотой пули», т.е. принципа, положенного в основу создания идеального противоопухолевого препарата. Такой препарат должен не убивать раковые клетки, а нормализовать их путем снятия «блокировки дифференцировки» и стабилизировать тканевый гомеостаз за счет выравнивания структуры клеточных популяций, что определяет нормализацию баланса в системе гомеостаза, восстановление обратной связи, контролирующей деление клоногенных клеток.

Проанализируем концепцию лейкоза, предложенную Л.А.Стрелковым (1992, с.738). Он пишет: «Целесообразно... подходить к этому заболеванию с позиции указанной проблемы, т.е. оценивать ОЛ как нарастание дисбаланса иммунной и кроветворной систем. Такой подход определяет возможный механизм лейкозного процесса, в основе которого лежит сбой иммунной системы, а главный итог — жизненно критическое угнетение гемопоэза».

С нашей точки зрения, данная концепция не объясняет ряд принципиальных моментов: 1. Почему происходит блокировка дифференцировки? 2. Как влияет изменение режима пролиферации на лейкозогенез? 3. Какую роль играет прогрессирующая эмбрионализация клеток? 4. Связан ли лейкоз с мутациями в стволовой кроветворной клетке или имеет иную природу?

Что касается баланса иммунной и кроветворной систем, то поскольку клетки этих систем имеют общий родоначальный ствол, т.е. происходят от общих стволовых клеток, то при канцерогенном воздействии повышенный режим пролиферации может быть инициирован одновременно с двух сторон. Изменение режима пролиферации за счет ускоренной гибели или потребления конечных форм этих систем неизбежно за счет прогрессирующего эмбрионализации разрушает систему тканевого гомеостаза.

Таким образом, механизм развития лейкоза получает объяснение в рамках тканевой теории рака. Как было показано, основные этапы развития рака крови совпадают с аналогичными процессами других форм канцерогенеза. Отличие рака крови в том, что отдельные ростки кроветворения представляют собой относительно автономные контуры саморегуляции, поэтому вначале канцерогенная нагрузка может повреждать отдельные конечные системы гомеостазов и какое-то время компенсироваться за счет буферных свойств самовосстановления локальных гомеостазов. На следующем этапе эта нагрузка начнет падать на более низкий уровень системы кроветворения и так постепенно доходя до плюрипотентных стволовых клеток. Различие в клинической картине разрушения кроветворной системы может определяться тем, сколько конечных ветвей кроветворения охватывает канцерогенное воздействие, поражает ли оно избирательно только один вид клеток или несколько. Поражение контуров саморегуляции может происходить в различном порядке в зависимости от канцерогенного профиля и избирательности повреждения различных групп клеток и от потенциала контура. При слабых воздействиях канцерогенного фактора может возникнуть эффект стабилизации, что соответствует доброкачественной опухоли, когда уровня канцерогенного воздействия недостаточно, чтобы довести прогрессию до злокачественного состояния. Таким образом, в тканевой теории лейкоза рассматривается поведение и механизм разрушения тканевого гомеостаза крови в результате длительного повышенного режима пролиферации. Несмотря на внешнее различие системы крови от других тканей организма сущность механизма лейкозогенеза не отличается от других форм опухолеобразования, что говорит об универсальности тканевой теории.

Тканевый гомеостаз системы кроветворения более развит и лучше изучен, поэтому вопросы тканевой регуляции и ее нарушения, которые недостаточно описаны на примере других форм канцерогенеза, могут быть уточнены и дополнительно обоснованы. Например, наличие обратных связей между дифференцированными клетками и низкодифференцированными в системе тканевой регуляции кроветворения убеждает в том, что механизм контроля пролиферации реализуется на уровне тканевой систе-



мы, поэтому нарушения, приводящие к раку, связываются с ней. Соответственно изменился предмет теории канцерогенеза: анализируется механизм нарушения тканевого гомеостаза. Другим примером является такое свойство лейкозных клеток, как способность проходить дифференцировку, теряя злокачественность. Для лейкозных клеток этот факт хорошо известен и общепризнан. Из этого следует, что представление о необратимых изменениях генома (онкогенах) в качестве причины и механизма трансформации является ошибочным, что опровергает основу молекулярно-генетической теории.

## **9. Концепция взаимосвязи основных элементов механизма контроля пролиферации и его нарушения при раке**

На сегодняшний день выявлены основные молекулярно-генетические детали механизма контроля пролиферации и его нарушения при опухолеобразовании. Но несмотря на глубокие разработки по каждому направлению изучения контроля пролиферации, механизм опухолеобразования с позиции теории онкогенеза еще до конца не известен. Чтобы представить, как этот процесс работает в целом с позиции тканевого подхода, необходимо выявить корреляцию между данными по факторам роста и кейлонам, онкогенам и антионкогенам (протекторам), дифференцировкой клетки и ее блокированием при раке, поведением рецепторов на клеточной мембране. Все эти отдельные группы данных должны найти свое место в целостной картине, должны быть увязаны с другими составляющими механизма канцерогенеза.

Наша концепция интеграции этих данных основывается на выявлении внутренней логики взаимосвязи между компонентами путем сопоставительного анализа нескольких направлений исследования. Одновременно такой анализ выступает в качестве доказательства того или иного положения. Задача состоит в том, чтобы состыковать феноменологическое описание контроля пролиферации и поведения клетки в системе тканевого гомеостаза с экспериментальными данными по ФР, кейлонам, рецепторам, а также с данными об активности онкогенов и антионкогенов.

Открытие антионкогенов можно оценить как последний шаг в понимании недостающего звена механизма трансформации. Однако если исходить из уже известных данных относительно противоположности между пролиферацией и дифференцировкой, между митогенным действием факторов роста и митозцигибирующим эффектом кейлонов, между стволовыми клоногенными клетками и дифференцированными клетками, то этот антагонизм обнаружива-

ется на уровне генов с противоположными функциями, что в контексте вышеприведенных противоположностей вполне закономерно и выступает в качестве их продолжения и конкретизации.

Обнаруженный антагонизм, а также другие данные, рассматриваемые с этих позиций, должны коррелировать с феноменологическим описанием поведения клетки в ткани. С точки зрения различия пролиферативной активности и степени дифференцировки клеток тканевую систему можно разделить на два полярных полюса, которые замкнуты друг на друга контуром обратной связи (кейлонный механизм контроля пролиферации), составляющим основу механизма гомеостаза. Один полюс составляют низкодифференцированные клоногенные клетки — стволовые и коммитированные, второй полюс — зрелые, дифференцированные клетки. Особое значение для понимания механизма рака с позиции тканевой модели имеет тот факт, что клоногенные стволовые клетки обладают тем же набором свойств, которые ранее идентифицировались в качестве злокачественных признаков раковых клеток, — они низкодифференцированы, иммортализованы, обладают аутокринным митозом, имеют активизированные онкогены, на клеточной мембране имеются рецепторы к ФР, и они сами синтезируют ФР.

Когда стволовые клетки дифференцируются, переходя к полюсу дифференцированных клеток, то перечисленные злокачественные признаки теряются: активность онкогенов репрессируется, исчезают рецепторы к ФР, клетки перестают синтезировать ФР и начинают синтезировать кейлоны, способность к делению теряется. Это означает, что гены, определяющие дифференцировку клетки, и гены, отвечающие за синтез кейлонов, противоположны онкогенам и продуктам их экспрессии (ФР, рецепторам), — с этой точки зрения их можно определить в качестве антионкогенов. Таким образом, можно сделать вывод, что антионкогены представляют собой гены, связанные с дифференцировкой, а также гены, связанные с синтезом кейлонов, различие между ними состоит в том, что гены дифференцировки вызывают необратимую депрессию онкогенов, а гены, связанные с кейлонами, вызывают обратимую блокировку митоза.

Известно, что кейлоны синтезируются дифференцированными клетками, а митозингибирующее действие оказывают на низкодифференцированные клоногенные клетки. Факторы роста синтезируются низкодифференцированными клетками и действуют на клетки, у которых имеются рецепторы на клеточной мембране. Таким образом, в системе тканевого гомеостаза устанавливается баланс между определенной дозой ФР и концентрацией кейлонов. Этот баланс коррелирует с численностью дифференцированных клеток и клоногенных, поэтому в результате прогресси-

рующей эмбрионализации баланс сдвигается в сторону увеличения ФР. Кейлоны осуществляют функцию отрицательной обратной связи, а ФР—функцию положительной связи. Антагонизм между ФР и кейлонами находит свое отражение на генетическом уровне в виде онкогенов и антионкогенов.

Таким образом, устанавливается корреляция между несколькими группами данных, которые необходимо состыковать с данными о поведении рецепторов на клеточной мембране. Поведение рецепторов ФР на клеточной мембране, их исчезновение и появление, хорошо объясняет митотическую активность клетки и коррелирует с другими данными. Так, в исследовании М.Фельдмана и Л.Эйзенбаха (1989) изучались молекулярно-генетические основы метастазирования. Было выявлено, что метастазирование более выражено у тех раковых клеток, которые на клеточной мембране имели рецепторы к факторам роста, — в метастатических клетках экспрессируется ген, близкий к онкогену *fms*, который кодирует рецептор фактора роста. Следовательно, способность к метастазированию зависит от митотической способности и пролиферативного потенциала, что связывается с наличием рецептора к ФР и продуцированием ФР.

Этот факт коррелирует с известными данными о том, что в процессе дифференцировки опухолевых клеток и нормальных клоногенных клеток активность онкогенов репрессуется, а рецепторы к ФР исчезают. Корреляция между дифференцировкой и репрессией онкогенов выявлена для нормальных стволовых и опухолевых клеток и продемонстрирована на множестве примеров (Швембергер, 1987). Такая же закономерность характерна для лейкозных клеток. В процессе миелоидной дифференцировки экспрессия *c-tus* и *c-myb* постепенно снижается, вплоть до полного исчезновения в гранулоцитах (Блинов, 1990). Как известно, не только факторы роста, но и рецепторы к ним кодируются клеточными протоонкогенами (Ивашенко, Быкорез, 1990), поэтому в результате дифференцировки рецепторы к ФР также исчезают.

Поляризация в системе тканевого гомеостаза между дифференцированными и малодифференцированными клетками обнаруживается также и для состава рецепторов на клеточной мембране. Так, по данным Gallo-Payet и Hugon (1985), наибольшее количество ЭФР-рецепторов имеют энтероциты из глубоких отделов крипт (в 2—3 раза больше, чем энтероциты поверхностных отделов крипт и ворсинок). Для рецепторов инсулина характер распределения противоположный — наибольшее их количество имеют зрелые энтероциты крипт и ворсинок. В эпидермисе кожи ЭФР-R преимущественно обнаруживаются в глуболежащих, менее дифференцированных кератиноцитах (Nanney et al., 1984).

Важным моментом механизма контроля пролиферации является дозозависимость митозингибирующего и митогенного эффектов, что позволяет точно контролировать массу клеток, их митотическую активность в каждом пуле тканевого гомеостаза, при этом достигается соответствие между числом дифференцированных клеток и дозой выделяемого кейлона, количеством делящихся клеток и концентрацией ФР, т.е. контролируются основные количественные и качественные параметры тканевого гомеостаза.

Второе значение открытия антионкогенов состоит в том, что этот факт в определенной мере противоречит теории онкогена, поскольку в ней постулируется ненормальная активизация онкогенов в результате деструктивных мутаций. Установление того, что имеются специализированные антионкогены, способные переключать, репрессировать активность онкогенов, входит в противоречие с теорией. Но появляется новая версия, связывающая причину трансформации с мутациями в антионкогенах. Однако и первая, и вторая версии механизма трансформации опровергаются тем фактом, что опухолевые клетки способны проходить дифференцировку, теряя при этом злокачественные свойства, т.е. трансформация не носит характера необратимых деструктивных изменений онкогенов.

К такому же выводу можно прийти на основании анализа действия трансформирующих факторов роста, которые не обладают генотоксичностью, действуя через рецепторы на мембране и которые можно выделить как из нормальных, так и из опухолевых клеток (Альтштейн, Черепанцева, 1986; Карпендер, Коэн, 1987). Поскольку трансформирующие ФР выделяются также из нормальных клеток, то исключается генотоксический эффект и мутации. А учитывая, что трансформирующие ФР действуют через рецепторы к ФР на мембране, получается, что клетка обладает специализированным механизмом трансформации. Данный факт разрушает прежнюю идею трансформации, основанную на деструктивном, генотоксическом действии и мутациях, в результате чего, предполагалось, появляются чужеродные для иммунитета раковые клетки. Открытие трансформирующих факторов роста, не обладающих генотоксичностью, разрушает представление о мутационном механизме трансформации и тем самым опровергает теорию онкогена.

Механизм трансформации в тканевой теории не связывается с мутациями в онкогенах, а является результатом постепенного разрушения тканевого баланса, т.е. контролируемых механизмов тканевой системы, что реализуется при прогрессирующей эмбрионализации, разрушающей полярность между двумя полюсами в структуре гомеостаза, и соответственно прекращении функционирования отрицательной обратной связи. В результате этого стволовые клоногенные клетки, обладающие активизированными онкогенами, выходят из-под контроля, определяя опухолевый рост ткани.

Таким образом, удастся состыковать, логически связать основные данные о компонентах механизма пролиферации и его нарушения. С этой точки зрения онкогены представляют собой гены, определяющие митотическую активность клетки. Различие между стволовыми и нестволовыми клетками состоит в том, что первые сами производят ФР и имеют рецепторы к ним, а нестволовые клетки (кроме дифференцированных) имеют рецепторы к ФР, но сами не производят ФР. Антионкогены относятся к двум группам: генам обратимой блокировки митоза (кейлонный механизм) и к группе генов, вызывающих необратимую репрессию онкогенов (гены, определяющие дифференцировку). Таким образом, можно сделать новый вывод о том, что в клетках нет каких-либо особых трансформирующих генов, кроме тех, которые обеспечивают пролиферацию в стволовых и нестволовых клетках. Но возникают условия, связанные с нарушением тканевого гомеостаза, при которых эти клоногенные клетки, обладающие потенциально злокачественными свойствами и имеющие активизированные онкогены, выходят из-под контроля. Следовательно, те гены, которые были идентифицированы в качестве раковых, на самом деле являются нормальными генами митоза. Аутокринный митоз, как было показано во многих работах, характерен также для нормальных стволовых клоногенных клеток. Основной факт, подтверждающий данный вывод, состоит в том, что опухолевые клетки обладают обратимой блокировкой дифференцировки, в результате снятия которой, т.е. прохождения дифференцировки, они теряют злокачественные признаки.

# ТЕОРИЯ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ И РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМЫ НАРУШЕНИЯ ЭНЕРГЕТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК

### 1. Критика учения Foulds о прогрессии опухолей

Учение о прогрессии опухолей, выдвинутое I. Foulds (1969), по признанию ведущих специалистов, оказалось одной из наиболее глубоких концепций, развиваемых в современной онкологии (Напалков, Бохман, 1989). По мнению В.С. Шапота (1969), учение Foulds следует признать одним из самых глубоких и плодотворных обобщений в онкологии за последние 20—25 лет. Однако отмечаются некоторыми авторами отдельные несоответствия теории с фактами.

Прогрессия выражается в качественном изменении свойств опухолевой ткани, что приводит к увеличению различий между ней и исходной тканью. Основным признаком является возрастание автономности, нерегулируемости опухолевого роста. С морфологической точки зрения основной признак прогрессии проявляется в утрате опухолью органотипического и гистотипического строения и в снижении дифференцировки. Согласно теории прогрессии (Foulds, 1969), процесс структурно-функциональной перестройки развивается в различных направлениях, независимых друг от друга. В процессе прогрессии происходит упрощение ферментного спектра опухоли, что коррелирует с прогрессирующей дедифференцировкой.

Для гормонозависимых опухолей в ходе прогрессии отмечается утрата специфических рецепторов: гормоно-зависимые опухоли становятся независимыми.

По мнению Foulds (1976), прогрессия зависит более от присущих малигнизирующим клеткам свойств, чем от влияния окружения, в котором они находятся. Не отрицается и роль внешних стимулов, которая сводится лишь к ускорению или задержке проявления прогрессии.

С нашей точки зрения, это положение нуждается в уточнении, а в чем-то и в опровержении. Так, прекращение канцерогенного воздействия на ткань в начальной стадии развития приводит к регрессии опухолей и нормализации ткани. При гормональных опухолях снижение гормонального профиля до нормы приводит к регрессии опухоли. Это означает, что для развития опухоли необходим постоянно действующий источник, инициирующий повышенную пролиферацию. Очевидно, что без уточнения стадии прогрессии положение Foulds не совсем точно отражает зависимость опухолеобразования от внешнего окружения.

Один из самых важных постулатов учения Foulds (1969) состоит в представлении о полной независимости возникновения и развития признаков прогрессии, что предопределяет неповторимую индивидуальность сочетаний различных факторов, характеризующих биологические свойства опухоли (анаплазия, способность к метастазированию, гликолиз, скорость роста, ответы на различные внешние воздействия, цитологическая и гистологическая структура). Foulds полагал, что для этих признаков характерна не ассоциация, а диссоциация, т.е. строение и развитие опухолей определяется большим числом независимо варьирующих признаков. Согласно автору, развитие опухоли, ее прогрессия характеризуется рядом постепенных необратимых изменений, которые возникают индивидуально в каждой опухоли.

Несмотря на широкое признание, учение Foulds, концептуальное ядро учения — положение о независимости развития опухолевых признаков, с нашей точки зрения, нуждается в пересмотре. Независимость опухолевых признаков означает, что между ними нет корреляции, связи. С нашей точки зрения — это ошибочное воззрение. За последнее время накопились новые данные, позволяющие обосновать диаметрально противоположное положение о корреляции и синхронизации признаков опухолевой прогрессии. Появление и изменение опухолевых признаков ассоциировано с развивающейся дедифференцировкой, т.е. коррелирует с процессом эмбрионализации. Процесс нарастающей, прогрессирующей эмбрионализации, вызванный повышенным режимом пролиферации, приводит к разрушению структуры и функции тканевого гомеостаза и одновременно к исчезновению рецепторов и молекул адгезии с клеточной мембраны, т.е. вызывается двойной эффект.

С этой точки зрения убывание признаков дифференцировки коррелирует с разрушением обратной связи (кейлонного механизма), достижением той стадии деградации, при которой обратная связь не функционирует, т.е. кейлонный механизм контроля митотической активности выходит из строя.

В основе процесса прогрессирования эмбрионализации лежит механизм репопуляции клеточного состава, который приводит к

постепенной замене дифференцированных клеток на все менее дифференцированные. Блокировка процесса дифференцировки связана с увеличением скорости митоза и характерна также для неопухолевых регенераторных процессов. В ходе омоложения признаки дифференцированных клеток меняются на свою противоположность и приближаются к свойствам малодифференцированных стволовых клеток. Процесс репопуляции, лежащий в основе прогрессирующей эмбрионализации, позволяет понять, почему опухолевые признаки хорошо коррелируют между собой и имеют общую тенденцию направленности изменений, зависящую от прогрессии дедифференцировки, т.е. они не развиваются независимо, как полагает теория Foulds.

Если эмбрионализация зависит от режима пролиферации и приводит к развитию злокачественных свойств, то, очевидно, должно соблюдаться и обратное условие — повышение дифференцировки опухолевых клеток должно приводить к их нормализации. Подтверждение этого обратного утверждения выступает в качестве доказательства и проверки правильности первого положения.

В своих работах И.Н. Швембергер (1987) обратил внимание на способность опухолевых клеток не только к утрате, но и повышению дифференцировки. Описано несколько десятков клинических наблюдений спонтанной регрессии нейроblastом вплоть до образования зрелых ганглиозных клеток (Dyke, Mulkey, 1967). При частичном повышении дифференцировки нейроblastома трансформируется в ганглионейробластому; при дальнейшем увеличении дифференцировки — в доброкачественную ганглионейрому

Попытаемся опровергнуть положение о том, что злокачественные свойства — результат мутаций и отбора. Проблема унификации «конвергенции» ферментного спектра злокачественных опухолей, независимо от их тканевого происхождения, опровергает известное представление о мутациях и отборе как механизме трансформации и повышения злокачественности. При действии мутационного механизма на поздних стадиях прогрессии обнаружился бы еще больший разброс признаков. Но происходит схождение признаков. Это не единственный аргумент. Если допустить, что действует эволюционный механизм мутаций и отбора, т.е. создаются новые виды (породы) клеток, то трудно объяснить, почему в конце концов появляются клетки с теми же свойствами, какими обладают активизированные стволовые клетки. Наличие в ткани стволовых клеток с активизированными онкогенами, иммортализованных, с аутокринным митозом, т.е. свойствами, идентичными свойствам раковых клеток, свидетельствует о механизме трансформации, идущей согласно тканевой теории.

Возникает вопрос о правомерности и корректности применения механизма эволюции к клеткам многоклеточного организма



Дело в том, что в ходе эволюции меняется единица отбора и уровень организации, на котором действуют законы эволюционного развития. Пройдя фазу эволюционного развития, одноклеточные образовали многоклеточные организмы, при этом действие законов развития как бы поднялось на следующий уровень организации, а для предыдущего уровня — эволюция заканчивается. Иначе говоря, эволюция не распространяется равномерно на все уровни организации, а действует поступательно, переходя ко все более высоким уровням. Например, отобранные эволюцией типы биохимических реакций в ходе дальнейшего процесса развития больше не эволюционируют, они достигли лучшего из возможного и исчерпали свой потенциал развития. Это говорит о том, что существует предел развития для живых организмов (предел видообразования), т.е. эволюция жизни уже закончилась для большинства или для всех биологических организмов, т.е. эволюционируют самые молодые виды и образования, т.е. только социальные формы. Отмеченную особенность можно с полным правом назвать законом неравномерности и исчерпаемости эволюции.

Проанализируем более детально корреляцию инвазивности клеток со степенью дедифференцировки. Различные данные показывают, что инвазивность, метастазирование зависят от состояния клеточной мембраны, исчезновения молекул адгезии, нарушения межклеточных контактов, пропадания рецепторов. Так, согласно Kellner (1971), наибольшее значение для инфильтративного роста и дальнейшего метастазирования имеет «дизъюнкция» клеток опухоли — нарушение межклеточного контакта, способность клеток к разъединению.

По мнению И.Н. Швембергер (1976), такая важная функция, как способность к контактному ингибированию, свидетельствует о ненарушенных межклеточных контактах и является важным фактором в формообразовательных процессах. Поэтому способность клеток к контактному ингибированию, согласно И.Н. Швембергер, следует рассматривать как функциональный признак дифференцировки. Образно говоря, клетки не рождаются «альтруистами и коллективистами»; только пройдя дифференцировку, их мембраны покрываются молекулами, которые делают их «социально пригодными» для жизни в клеточном сообществе. Обратный процесс — дедифференцировка — усиливает злокачественные свойства.

В настоящее время изучено поведение нескольких классов молекул на поверхности мембраны, состояние которых коррелирует со злокачественностью клеток. Как показал С.И. Хакомори (1986), располагаясь на клеточной мембране, молекулы гликофинголипиды различными путями регулируют взаимодействие клетки с ее окружением. Экспрессия гликофинголипидов на мембране изменяется в ходе деления и дифференцировки клеток. Когда клетки транс-

формируются, они характеризуются резким снижением количества гликофинголипидов OM3 и GM1. По мнению Хакомори, это явление коррелирует с потерей контроля над размножением. Исследования показали, что характерный состав гликофинголипидов на мембране раковых клеток подобен недифференцированным клеткам, находящимся на ранних стадиях эмбрионального развития.

Поведение другого класса молекул рассмотрено в работе Р.О.Хайнса (1986). Он показал, что такие свойства, как способность к адгезии, дезорганизация цитоскелета, нарушение регуляции расположения клеток в ткани, связаны с исчезновением фибронектина и других адгезивных гликопротеинов и связанных с ними компонентов клеточной поверхности, удерживающих клетки на своем месте.

Согласно Хайнсу, простейшее объяснение состоит в том, что «опухолевые клетки перестают синтезировать фибронектин или производят его значительно меньше». Однако остается невыясненной причина прекращения синтеза фибронектина опухолевыми клетками — то ли это результат предполагаемых мутаций, трансформирующих клетку, то ли нечто иное.

Объяснение исчезновения или уменьшения адгезивных молекул с поверхности мембран опухолевых клеток дает тканевая теория. Явление снижения синтеза белков, участвующих в межклеточных взаимоотношениях, следует рассматривать с более широких позиций. Исчезают не только белки на мембране — в ходе опухолевой прогрессии спектр синтезируемых ферментов постепенно искажается, — некоторые из белков исчезают совсем, а эмбриональные белки появляются. В основе этого явления лежит процесс репопуляции, т.е. замены зрелых клеток на всё менее дифференцированные, в результате блокировки дифференцировки, наступающей при высоких скоростях митоза. Механизм объясняет исчезновение белков, молекул адгезии на мембранах, рецепторов — он неспецифичен и не предполагает необратимых нарушений онкогенов; это доказывается тем, что омоложение клеток наблюдается также и при неопухолевых регенеративных процессах. Степень продвинутости процесса к переходу в опухолевый процесс зависит от продолжительности и интенсивности пролиферации, т.е. от канцерогенного профиля.

Таким образом, в рамках тканевой теории удалось выявить корреляцию признаков опухолевой прогрессии, зависимость опухолевых признаков от степени дедифференцировки, что опровергает основное положение учения Foulds — правило независимости развития признаков опухолевой прогрессии.

Рассмотрим еще один аспект, связанный с положением Foulds, о необратимости стадий опухолевой прогрессии. Механизм трансформации, основанный на нарушении тканевого гомеостаза, позволяет пересмотреть основной постулат молекулярно-

генетической теории и предшествующих концепции о необратимости трансформации в результате повреждения онкогенов. Согласно этому постулату, раковые клетки происходят либо из нормальных клеток в результате необратимой трансформации, либо возникают при делении опухолевых клеток, т.е. злокачественность связана с повреждением молекулы ДНК (онкогенов) и передается по наследству. Молекулярно-генетическая теория допускает только одно направление трансформации: происхождение раковых клеток от нормальной клетки к раковой и от опухолевой при ее делении к опухолевой. Обратное направление — от опухолевой клетки к нормальной — не допускается в силу необратимости мутаций. Изобразим эти направления схематично:

**1, Нормальная клетка —→ трансформация —→ Опухолевая клетка**

**2. Опухолевая клетка —→ деление —→ Опухолевая клетка**

В тканевой теории получают обоснование многочисленные факты по нормализации опухолевых клеток, т.е. законность обратного направления, на которое долгие годы было наложено табу. Изобразим его схематично.

Хотя эти факты как эмпирические данные известны давно, но в рамках прежних концепций они носили статус противозаконных либо игнорировались, не вписываясь в официальную версию канцерогенеза. В новой теории подтверждается и обосновывается их законность. Под воздействием специфических и неспецифических индукторов дифференцировки опухолевые клетки созревают, теряя при этом злокачественные свойства, а активизированные онкогены репрессируются.

Таким образом, положение о необратимости стадий опухолевой прогрессии, постулируемое Foulds, не совсем точно, а в ряде случаев, если брать спонтанную регрессию, оно ошибочно и противоречит данным. Объяснить обратимость или необратимость опухолеобразования можно с позиций концепции канцерогенного профиля. Если уровень канцерогенного профиля высок, то прогрессия опухоли идет необратимо. Канцерогенный профиль зависит от многих факторов и систем организма, которые способны изменяться в ходе процесса опухолеобразования. Если канцерогенный профиль снижается, опухолеобразование может остановиться на стадии доброкачественной опухоли либо происходит спонтанная регрессия. Следовательно, процесс опухолеобразования отражает динамику изменения канцерогенного профиля; с этих позиций получают объяснение случаи опухолеобразования, когда развитие опухоли останав-

ливается либо идет в обратную сторону, регрессирует. Наглядным примером такого поведения служат гормональные опухоли, развитие которых может идти в сторону прогрессии или, наоборот, в сторону регрессии, в зависимости от повышения или снижения гормонального профиля.

## **2. Проблема нарушения энергетики опухолевых клеток и ее решение в тканевой теории**

Концепция О. Варбурга, одна из самых известных биохимических теорий рака, была популярной несколько десятилетий назад.

Варбург обнаружил, что злокачественное перерождение тканей сопровождается значительным усилением аэробного и анаэробного гликолиза. Согласно его концепции, причина малигнизации состоит в нарушении дыхания и компенсаторного усиления гликолиза в тех клетках, которые выживают после повреждения дыхания. Способность получать энергию за счет «молочнокислой ферментации» гликолиза и расти за счет энергии этого процесса является, согласно Варбургу, главной биохимической характеристикой опухолевых клеток. В 1927 г. Нобелевский комитет оценил эту работу как достойную Нобелевской премии.

Таким образом, О. Варбург (Warburg, 1926) пришел к заключению, что раковые клетки отличаются от нераковых, включая растущие эмбриональные, неспособностью подавлять гликолиз в присутствии кислорода.

По мнению И.Ф. Сейца и П.Г. Князева (1986, с. 24), «в биохимии... как и вообще во всей теоретической онкологии, до самого последнего времени не было столь глубоко и всесторонне разработанной теории, которая могла бы с учетом всех имеющихся фактов объяснить не только особенности обмена веществ, но и само происхождение злокачественных опухолей».

Интерес к проблемам изменения энергетики раковых клеток то угасал, то вновь повышался. В последнее десятилетие получено много данных о нарушении в раковых клетках структуры и функции митохондрий — органелл, осуществляющих функцию дыхания. Эти данные, согласно выдвинутой митохондриальной теории (Зотин, 1991), в какой-то мере подтверждают теорию Варбурга.

Рассмотрим кратко основные теории, касающиеся механизма усиления гликолиза в раковых клетках. С позиции мембранной теории С.А. Нейфаха, особенность энергетики раковых клеток определяется дефектом мембран митохондрий и повышением синтеза и каталитической мощности гексокиназы, лимитирующей скорость гликолиза в клетках (Нейфах, Монахов, 1967).

Согласно изозимной гипотезе (Шапот, 1968, 1975), биохимические особенности опухоли зависят не от появления новых фермен-

ТОВ в клетках, а от расстройства последовательности синтеза изоферментов, которые присутствуют и в нормальных клетках. В результате изменяется соотношение некоторых изоферментов, что приводит к усилению скорости гликолиза и изменению его взаимодействия с другими процессами метаболизма. Показано, что различие в изоферментном составе нормальных и опухолевых клеток касается таких ферментов, как гексокиназа, альдолаза, пируваткиназа, лактатдегидрогеназа, аденилаткиназа, и других.

Продолжение идей О. Варбурга нашло отражение в митохондриальной теории канцерогенеза (Зотин, 1991). Концепция исходит из ранее выдвинутой идеи о том, что возникновение злокачественных опухолей связано с появлением в клетках мутантных, дефектных митохондрий. Как отмечает автор, дело не в полном нарушении дыхания клеток, а лишь в нарушении воспроизводства и строения митохондрий, повреждении их наружной мембраны, увеличении проницаемости последней и, как следствие, нарушении регуляторных механизмов дыхания и гликолиза. Возникает проблема: как изменения митохондрий, приводящие к возникновению энергетического метаболизма ракового типа, связаны с активацией онкогенов трансформированных клеток? Иными словами, какова связь между теорией Варбурга и теорией онкогена?

Согласно митохондриальной теории (Зотин, 1991), это сопряжение происходит так: поврежденные свободными радикалами, тепловыми флуктуациями или канцерогенами, участки митохондриальной ДНК (митДНК), попадая в ядро и встраиваясь в ядерную ДНК (ядДНК), служат промоторами, превращающими протоонкогены в онкогены. Меняется и энергетический метаболизм: в результате повреждения митДНК и митохондриальных мембран происходит торможение воспроизводства митохондрий, усиление аэробного и анаэробного гликолиза, нарушение некоторых регуляторных механизмов окислительного и гликолитического обмена.

Однако, по признанию самого автора, «в митохондриальной теории еще много неясного как в деталях, так и в целом» (Зотин, 1991, с. 810).

С позиции тканевой теории канцерогенеза недостаток митохондриальной концепции заключается в том, что она исходит из необратимых мутационных повреждений ДНК и митДНК. Однако предположение о необратимости трансформации не согласуется с многочисленными данными по нормализации трансформированных клеток в результате дифференцировки. Другое предположение, что канцерогены повреждают ДНК опосредованно, через повреждение митДНК, необоснованно, поскольку они могут действовать прямым способом, повреждая ДНК-клетки.

Проанализируем проблемы, порожденные теорией Варбурга. Изменение энергетики в раковых клетках по-иному называют на-

рушением «эффекта Пастера». Все живые ткани, являющиеся метаболически активными, способны к анаэробному гликолизу, однако большинство их не гликолизует в аэробных условиях. Этот эффект блокирования гликолиза со стороны дыхания получил название «эффект Пастера». Варбург пришел к заключению, что раковые клетки отличаются от нераковых неспособностью подавлять гликолиз в присутствии кислорода.

Выяснению причин, лежащих в основе ослабления реакции Пастера в опухолях, посвящено много исследований. Механизм пастеровской реакции пытались объяснить на основании конкуренции между системами гликолиза и дыхания за неорганический фосфат (Lynen, 1940) и АДФ (Lynen e.a., 1958; Chance, 1959; Сейц, 1961; Ельцина и др., 1961), лабильностью митохондриальных мембран и выделением в гиалоплазму из митохондрий, стимулирующих гликолиз факторов (Нейфах и др., 1961), а также особенностями регуляции фосфофруктокиназной реакции (Энгельгардт, Соков, 1943; Нейфах и др., 1961; Wu, 1965).

Анализируя эту проблему, Р.Е. Кавецкий (1977, с. 39) пишет: «Несмотря на большие усилия, вопрос, поставленный Луи Пастером 100 лет назад, нельзя считать до конца решенным. Ни конкурентные теории, ни факт секреции митохондриями киназина, стимулирующего активность фосфоглицераткиназы, не могут объяснить всей совокупности накопившихся к настоящему времени фактов».

В.С. Шапот (1975, с. 16) также считает, что причина нарушения «пастеровской реакции» пока осталась без ответа, он пишет: «Как ни удивительно, но помимо представлений о лучшей приспособленности опухолей к гипоксии, других предположений о возможной связи между высокой интенсивностью гликолиза и агрессивными свойствами малигнизированных клеток в литературе не высказывалось».

Следует согласиться с точкой зрения Р.Е.Кавецкого и В.С.Шапота и признать принципиально важной для построения общей теории рака проблему взаимосвязи нарушения энергетики опухолевых клеток с механизмом трансформации. К сожалению, в теории онкогена эта проблема прямо не ставится и поэтому ряд данных, обнаруженных еще на этапе развития биохимических концепций, не получил объяснения в рамках молекулярно-генетической теории. Таким образом, в новой теории необходимо объяснить связь нарушения энергетики в раковых клетках с нарушением структуры и функции митохондрий и как эти явления связаны с механизмом трансформации.

Попытаемся ответить на поставленные проблемы с позиции тканевой теории опухолеобразования. Проанализируем следующие данные. В серии экспериментов Варбург с сотрудниками (см.: Сейц, Князев, 1986) показали, что способность раковых

клеток перевиваться тесно связана с гликолизом. Утрата раковыми клетками гликолитической активности приводит к потере ими способности перевиваться. Чтобы правильно оценить этот факт, необходимо учесть, что способность перевиваться зависит от степени дифференцировки опухолевых клеток. Пройдя дифференцировку, раковые клетки теряют способность перевиваться и другие злокачественные свойства. Отсюда следует, что способность к гликолизу определяется степенью дифференцировки клетки — она максимальна в недифференцированных (малодифференцированных) клетках и постепенно снижается по мере дифференцировки. Этот вывод подтверждается следующими данными. Так, D. Burk (см.: Сейц, Князев, 1986) скармливал крысам в течение 200 дней канцероген, в результате чего возникла карцинома печени. Было показано, что гликолитическая активность при этом медленно увеличивалась на протяжении 200 дней до уровня, характерного для рака. Данный факт становится понятным, если учесть, что процесс опухолеобразования связан с прогрессирующей эмбрионализацией клеток.

С другой стороны, Варбург показал, что гликолиз клеток максимален на наиболее ранних стадиях эмбрионального развития, но постепенно падает по мере дифференцировки клеток эмбриона. Это означает, что независимо от того, нормальные это клетки или раковые, обнаруживается общая закономерность: проявление гликолиза коррелирует со степенью дифференцировки клеток.

Уже Варбург установил, что аэробный гликолиз присущ клеткам и некоторым здоровым тканям (сетчатка, лимфатические железы, зародышевый эпителий, слизистая и др.). В исследовании других авторов было показано, что аэробный гликолиз характерен для многих здоровых тканей: пролиферирующих тканей, костного мозга, лейкоцитов (Сейц, Луганова, 1967).

Варбург пришел к выводу, что дыхание с использованием кислорода, донора энергии у растений и животных, в раковых клетках заменяется на другой тип энергетике — ферментацию глюкозы, свойственную низшим формам жизни.

С нашей точки зрения, решение проблемы изменения энергетике опухолевых клеток, поставленной Варбургом и его последователями, состоит в следующем. Сопоставляя данные о дифференцировке нормальных эмбриональных клеток (это же относится и к тканям с высокой пролиферативной активностью) и процесс дедифференцировки, эмбрионализации в процессе опухолеобразования, выявляется прямая зависимость гликолиза от степени дифференциации клеток. Эту закономерность можно объяснить в свете данных о том, что в процессе опухолеобразования и наблюдающейся эмбрионализации происходит постепенное изменение спектра синтезируемых клетками ферментов: некоторые из них пропадают

вообще. И наоборот, дифференцировка молодых клеток сопровождается появлением у них новых ферментов, специфичных данной ткани.

Следовательно, объяснение состоит в том, что недифференцированные нормальные клетки, как и «недифференцированные» раковые клетки, не имеют того набора ферментов, который осуществляет дыхание в дифференцированных клетках, эти ферменты синтезируются и появляются в клетке в процессе дифференцировки. Это положение подтверждают следующие данные. Как показал Aiseebery (1961), в раковых клетках снижено содержание цитохрома С, цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы

Следующий аспект состоит в том, что степень гликолитической активности в ткани зависит от количественного соотношения между дифференцированными и малодифференцированными клетками. Развитие опухоли связано с постепенным сдвигом в сторону эмбрионализации. Этот процесс происходит постепенно, поэтому доброкачественные опухоли, как показал Варбург, имеют среднее значение отклонения в сторону гликолитической активности

Структура и функция митохондрий в клоногенных малодифференцированных клетках отличаются от состава митохондрий в дифференцированных клетках, они неразвиты и малочисленны, поэтому в рамках тканевой теории удастся связать вместе три факта: «нарушение» структуры и функции митохондрий, повышение гликолитической активности и нарушение контроля пролиферации.

В тканевой теории была выявлена последовательность событий, приводящая к злокачественной трансформации. Усиление пролиферативного режима в результате генотоксического или митогенного воздействия на ткань приводит к развитию компенсаторной пролиферации. Увеличение скорости деления неизбежно приводит к блокировке дифференцировки клеток — этот же механизм омоложения ткани наблюдается и в случае регенераторных процессов. Следовательно, онкологический смысл канцерогенного воздействия на ткань появляется при длительном хроническом травмировании ткани определенной интенсивности. Эти параметры травмирования ткани определяют канцерогенный профиль, который вызывает определенный режим пролиферации, способный инициировать опухолеобразование.

Таким образом, нарушение энергетики в опухолевых клетках связано с процессом эмбрионализации ткани, поскольку изменяется состав синтезируемых ферментов в низкодифференцированных клетках, а развитие эмбрионализации приводит к нарушению тканевого контроля пролиферации и дифференцировки клеток, т.е. это сопряженные между собой процессы.



# ТКАНЕВАЯ ТЕОРИЯ СПИДА, РАКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ, ЛЕЙКОЗА

### 1. Общие черты рака иммунной системы и их объяснение в тканевой теории

Что общего между синдромом приобретенного иммунного дефицита (СПИДом), раком иммунной системы и лейкозами и описываются они одной теорией или для каждого заболевания нужна своя теория? Как отмечают большинство ученых, раковые заболевания кроветворной и иммунной систем относятся к наиболее сложным для понимания процессам опухолеобразования, на многие вопросы пока нет ответа.

Идентифицировать СПИД в качестве вирусного рака иммунной системы можно на основании тех характерных проявлений иммунодефицитов, которые аналогичны и другим видам рака лимфоидной ткани, вызванным радиацией или химическими канцерогенами. Специфичность канцерогенного фактора нивелируется неспецифической реакцией иммуногематологической системы тканевого гомеостаза.

Имунологическая недостаточность — одно из самых частых последствий злокачественного роста лимфоидной ткани. Согласно А. Ройту (1991, с. 172 — 177), «причины этого явления еще недостаточно ясны, но, похоже, злокачественные клетки мешают развитию, нормальных клеток. Быть может, они выделяют какие-то клеточно-специфические кейлоны, или трансформирующие супрессорные факторы... При различных лимфоидных злокачественных новообразованиях созревание опухолевых клеток остановлено на разных стадиях дифференцировки. . Часто опухолевые клетки подавляют развитие аналогичных нормальных клеток и вызывают иммунологическую недостаточность». Мы привели точку зрения крупного специалиста, иммунолога А. Ройта, и хотим подчеркнуть в связи с этим один аспект нарушения созревания клеток иммунной системы выделяется в качестве ха-

рактерного признака рака иммунной системы. Так, лимфосаркома формируется из незрелых лимфоидных клеток и относится к лимфопролиферативным заболеваниям кроветворной ткани, имеет В-клеточное происхождение; лимфогранулематоз, болезнь Ходжкина, характеризуется злокачественной гиперплазией лимфоидной ткани. Патогенез состоит в подавлении клеточного иммунитета: нарушении функции Т-лимфоцитов, угнетении способности к развитию аллергических реакций гиперчувствительности замедленного типа. Капсула лимфатических узлов нарушается в конечной стадии, при этом наблюдается инфильтрация окружающих органов и тканей. В основе лимфопролиферативных заболеваний, по мнению исследователей, лежат нарушения функциональной активности иммунной системы (Касьяненко, Пинчук и др., 1992). При вовлечении в эти процессы иммунокомпетентных клеток нарушается их функция в формировании иммунных реакций по клеточному или гуморальному типу. Согласно этим авторам, этиология лимфопролиферативных заболеваний неясна.

Анализируя этот аспект проблемы, А. Роит (1991, с. 211) пишет: «При нарушении процесса дифференцировки общего предшественника лимфоидных клеток ни В-, ни Т-лимфоциты не образуются, что сопровождается тяжелым иммунодефицитом, затрагивающим как клеточные, так и гуморальные иммунные реакции». С нашей точки зрения, блокировка дифференцировки клеток причинно связана с нарушением их функции, т.е. иммунодефицитом.

Чтобы понять, что происходит при вирусных инфекциях, поражающих иммунную систему, необходимо проанализировать алогичные поражения иммунитета при радиационном и бензольном воздействии. В процессе длительного облучения происходит снижение количества клеток миелоидного ряда, что вызывает компенсаторные процессы, проявляющиеся в ускорении жизненного цикла и усилении пролиферации миелоидных элементов (Ильяхин и др., 1982). Наблюдалось снижение костномозговой продукции гранулоцитов, а вышедшие в кровоток клетки были функционально неполноценны, что приводило к иммунной недостаточности. Прекращение лучевого воздействия сопровождалось нормализацией пролиферации и восстановлением функциональной полноценности зрелых гранулоцитов.

Развитие событий, ведущих к иммунной недостаточности при радиационном воздействии, является общим и для других видов канцерогенных воздействий. Повышенная гибель клеток инициирует ускоренную пролиферацию, которая становится причиной нарушения дифференцировки клеток. Низкодифференцированные клетки синтезируют другой состав белков и ферментов, чем зрелые, поэтому клетки перестают выполнять специфические функции, появляются множественные проявления иммунодефицита.

Тканевую модель развития иммунодефицита подтверждают данные о состоянии рецепторов на мембране эритроцитов. Как известно, при эмбрионализации количество рецепторов, характерных зрелым клеткам, снижается. Изучение поведения рецепторов эритроцитов и обусловленных ими иммунных функций показало (Каральник, 1992), что эритроциты больных системной красной волчанкой (СКВ) не связываются сорбентом, конъюгированным с компонентом, что обусловлено уменьшением количества CRI на эритроцитах. Снижение экспрессии CRI на эритроцитах отмечается при аутоиммунной гемолитической анемии, ревматоидном артрите, первичном синдроме Сьергена, параксизмальной ночной гемоглобинурии, а также при лепроматозной форме лепры и СПИДе. Автор считает, что уменьшение экспрессии CRI на эритроцитах является ключевым патогенетическим механизмом СКВ. Вместе с тем эти данные свидетельствуют о том, что клетки крови выполняют также иммунологические функции в организме.

При синдроме Чедиака — Хигаси (Stossel, 1983), к которому относятся нейтропения, тромбоцитопения, приступы лихорадки, периферическая нейтропатия и лимфогистиоцитарная пролиферация в печени, селезенке и костном мозге, отмечается, что пролиферация усугубляет панцитопению и это связано с частыми бактериальными и вирусными инфекциями. Однако автор не уверен, что обнаруживаемые «лимфоцитарные» инфильтраты в печени, селезенке и лимфатических узлах имеют опухолевую природу.

Несмотря на быстрое поглощение частиц и активный метаболизм кислорода, нейтрофилы при синдроме Чедиака — Хигаси недостаточно эффективно воздействуют на проглоченные микроорганизмы, что объясняется уменьшением поступления миелопероксидазы в вакуоли фагоцитов, так как гранулы с миелопероксидазой плохо сливаются с фагосомами. Кроме ненормальной дегрануляции, нейтрофилы слабо отвечают на хемотоксические стимулы. Функциональные расстройства, характерные для нейтрофилов, обнаруживаются также и у моноцитов. Как отмечает автор, причины этой недостаточности неясны.

Развитие механизма недостаточности можно понять на примере применения кортикостероидов. Известно, что применение этих препаратов вызывает усиленное размножение гранулоцитов в организме. Продолжительное применение кортикостероидов в высоких дозах угнетает миграцию нейтрофилов, снижает их адгезивность и подавляет способность фагоцитов к поглощению. С нашей точки зрения, эти эффекты связаны с тем, что ускоренная пролиферация вызывает эмбрионализацию клеток, при этом они перестают синтезировать специфические белки и ферменты, лишаясь функциональных свойств. У больных с гематологическими отклонениями, как, например, упорные анемии или миелопролиферативные наруше-

ния, наблюдается недостаточность миелопероксидазы нейтрофилов. При различных болезненных состояниях бактерицидная функция фагоцитов нарушается. Автор отмечает, что большей частью невозможно установить причину или оценить значение данных фактов. Описанные отклонения были найдены у больных после облучения, при остром лимфобластном лейкозе, у больных разными видами лейкозов, у больного с белковыми истощениями, хроническим миелогенным лейкозом и лимфомами. Такие же изменения характерны при инфекции ВИЧ.

По мнению А. Ройта (1991), наиболее частая форма иммунодефицита гипогаммаглобулинемия характеризуется гнойными инфекциями. Это объясняется следующим. Костный мозг содержит нормальное число незрелых В-клеток, но у трети больных в крови отсутствуют В-клетки с поверхностными иммуноглобулиновыми рецепторами, а еще у трети их число ниже нормы. Такие лимфоциты либо не способны дифференцироваться в плазматические клетки, либо секретировать антитела. Изменения затрагивают и Т-лимфоциты. У них снижено содержание поверхностной S-нуклеазы. TIgM-клетки не дают характерного окрашивания на неспецифическую эстеразу. У 30% больных снижена реакция Т-клеток на поликлональный активатор фитогемагглютинин. Синдром Вискотта—Олдрича сопровождается снижением продукции IgM и слабой выработкой антител на многие полисахариды. Показано, что причина болезни заключается в нарушении способности макрофагов презентировать антиген.

При воздействии на организм ионизирующей радиации и бензола отмечают повышенное разрушение лимфоцитов (Хансон, 1979). С увеличением дозы лучевого воздействия (ЛВ) снижается клеточность тимуса и доля в нем зрелых клеток. Ряд авторов считают основным патогенетическим фактором бензолной лимфопении угнетение созревания лимфоцитов в результате цитотоксического эффекта бензола (Алешин и др., 1947; Murakamy, 1959a; Matsuchita, 1966). Наряду с угнетением специфических реакций и факторов иммунитета при ЛВ обнаружилось усиление аутоиммунного процесса. В формировании картины радиационных и бензолных гемопатий определенное значение имеют свойства радиации и бензола как неспецифических раздражителей (Захаров, 1990).

Каков же механизм компенсаторной реакции кроветворной ткани? Первыми развиваются реакции, противодействующие снижению количества клеток в циркулирующей крови в условиях угнетения пролиферативной активности кроветворной ткани. Одна из таких реакций — повышение пролиферативного пула полипотентных стволовых клеток. Следующим фактором является ускорение выхода незрелых клеток из костного мозга в кровь (Захаров, 1990). Факты свидетельствуют о наличии довольно

мощных компенсаторных механизмов, обеспечивающих гомеостатическую регуляцию состава периферической крови.

Как отмечают В.Н. Шабалин и Л.Д. Серави (1988), рецепторы и антигены клеточной поверхности злокачественных клеток при различных лейкомиях и лимфомах имеют характеристики нормальных клеток различных уровней дифференцировки. В процессе канцерогенеза угнетается пролиферация стволовых клеток и их дифференцировка в Т- и В-лимфоциты. Нарушается также продукция медиаторов клеточного и гуморального иммунитета. Отмечается понижение способности больных вырабатывать антитела. Согласно авторам, факт снижения иммунных реакций при лейкозах еще не нашел убедительного объяснения.

## **2. СПИД — вирусный рак иммунной системы**

Характерные проявления поражения иммунитета при ВИЧ-инфекции не отличаются от рассмотренных проявлений иммунодефицитов. Причины иммунных дефицитов (Хайтов, Османов, 1991), развивающихся в результате ВИЧ-инфекции, еще недостаточно изучены. ВИЧ-инфекция приводит к широкому спектру иммунологических аномалий, поражению и нарушению функций как клеточного, так и гуморального звеньев иммунной системы. Наряду с уменьшением количества Т-лимфоцитов наблюдается нарушение их функций: угнетение реакции гиперчувствительности замедленного типа, способность лимфоцитов к пролиферации бывает снижена; реакция пролиферации Т-лимфоцитов в ответ на стимуляцию растворимым антигеном также снижена; реакция на аллоантиген по мере прогрессирования заболевания значительно снижается. В ходе развития ВИЧ-инфекции происходит гиперплазия лимфоидной ткани и стимуляция В-клеток в зародышевых зонах лимфатических узлов, появляется выраженная гипергаммаглобулинемия с преобладанием продукции IgG<sub>1</sub>. Данная аномалия связана с поликлонально стимуляцией В-лимфоцитов и плазматических клеток лимфоидных тканей и неспособностью их адекватно реагировать на специфические антигенные сигналы.

Согласно Р.Р. Редфилду и Д.С. Берке (1988), критерием для диагноза «СПИД» служат оппортунистические инфекции (вызываемые условно-патогенными микробами). Саркома Капоши эту роль играть не может, поскольку причиной этого заболевания, как считают авторы, не является подавление иммунитета и оно бывает на ранних стадиях инфекции. С одной лишь этой опухолью больные живут дольше, чем с тяжелыми нарушениями иммунной системы. При инфекции НIV у человека практически исчезают Т-лимфоциты. Причем поголовная гибель Т4-клеток про-

исходит несмотря на то, что только ничтожная их часть заражена HIV. С нашей точки зрения, можно полагать, что не вирус разрушает Т-лимфоциты, а сама иммунная система в результате появления на зараженных клетках вирусных белков, т.е. вирус вызывает прогрессирующий аутоиммунный процесс, поскольку он является эволюционно новым вирусом для иммунной системы.

Согласно У.А. Хэзелтайну и Ф. Ванг-Сталю (1988), Т-лимфоциты могут гибнуть вследствие деятельности самой иммунной системы. В организме человека, зараженного HIV, вырабатываются антитела к вирусным белкам, в том числе к белку оболочки. Антитела, связавшиеся с белком оболочки, могут активизировать белки крови системы комплемента, которые вызывают лизис клеток. Цитотоксические Т-лимфоциты (киллеры) также могут реагировать на белок оболочки, разрушая зараженные клетки. От зараженных клеток могут отделяться молекулы gp120, которые связываются с CD4 здоровых клеток, тем самым делая их мишенью иммунной системы.

Кроме саркомы Капоши при СПИДе наблюдаются различные лимфомы, а также рак прямой кишки и языка. Некоторые лимфомы могут появиться довольно рано. Это говорит в пользу того, что определенную роль в их развитии играет гиперактивность В-лимфоцитов (Редфилд, Берке, 1988). Авторы считают, что причиной лимфом на более поздних стадиях являются онкогенные вирусы, «воспользовавшиеся» иммунным дефицитом.

Хотя инфекция HIV подавляет многие иммунные механизмы одновременно, она сопровождается гиперактивностью иммунной системы. Присутствие вируса стимулирует В-лимфоциты в лимфотических узлах. Одним из критериев инфекции является хроническая лимфоаденопатия (увеличение лимфатических узлов). Стимулированные лимфоциты усиленно секретируют антитела. Резерв В-лимфоцитов уменьшается, и остается меньше клеток, способных дифференцироваться для производства антител.

Согласно тканевой теории канцерогенеза, к признакам нарушения дифференцировки клеток относится нарушение дыхания и переход на гликолиз, поскольку ферменты, обеспечивающие дыхание у зрелых клеток, исчезают у низкодифференцированных. Ряд авторов (Друх и др., 1992) отмечают подавление дифференцировки моноцитов при инфекции ВИЧ как *in vitro*, так и *in vivo*. Исследование дыхательного взрыва у моноцитов показало снижение его интенсивности в ответ на большинство обычно используемых стимуляторов. По мере развития инфекции начинается снижение этой функции у моноцитов и макрофагов. Согласно авторам (Друх и др., 1992), причиной нарушения кислородного метаболизма при инфекции ВИЧ, по-видимому, служит действие ВИЧ на инфициро-

ванную клетку, в которой повреждается синтез белков, повышается их катаболизм и подавляется дифференцировка.

Инфекция ВИЧ вызывает значительные изменения функций нейтрофилов. Частый спутник инфекции ВИЧ — нейтропения. Описано прогрессивное снижение хемотаксиса и спонтанной миграции нейтрофилов. Одной из причин такого снижения служит уменьшение экспрессии на нейтрофилах рецепторов к хемоаттрактантам. На поздних стадиях болезни, когда снижается количество Т4-лимфоцитов, падает образование ими многих цитокинов, необходимых для осуществления нормальной функции нейтрофилов. Такая картина свидетельствует о возрастании активации нейтрофилов на фоне развития функциональных дефектов, связанных с нарушением киллерных ферментных систем. По мере развития инфекции заболевание переходит в длительную персистирующую фазу, в течение которой ВИЧ медленно приводит к снижению ресурсов как лимфоцитарных, так и макрофагальных факторов защиты и нарушению функции иммунокомпетентных клеток, что способствует развитию оппортунистических инфекций. Таким образом, картина характерных поражений иммунной системы, которая наблюдается при лейкозах, раке иммунной системы и СПИДе, идентична и свидетельствует о неспецифическом характере реакций, ведущих к опухолеобразованию либо стабилизации в предраковом состоянии. Рассмотрим механизм развития лейкоза с позиции тканевой теории (Черезов, 1990, 1993).

По мнению Л.А. Стрелкова (1992), на сегодня нет полной, окончательной концепции, объясняющей возникновение и развитие лейкозного процесса. При лейкозе в кровь попадают молодые незрелые или частично недифференцированные лейкоциты, недифференцированные гранулоциты, моноциты. Считается, что форма лейкоза определяется тем, в каких форменных элементах развивается патология (мутация). Согласно точке зрения Балаж (1987), лейкоз возникает вследствие патологической пролиферации клеток костного мозга, Хронический лейкоз характеризуется тем, что в крови одновременно появляются клетки почти на всех стадиях созревания. При длительном воздействии радиации и бензола появляются признаки гипопластического состояния кроветворной ткани, проявляющегося в умеренной цитопении в сочетании с компенсаторным напряжением в крови (Захаров и др., 1990). При хроническом воздействии бензола отмечается уменьшение доли зрелых и дозревающих клеток, увеличение молодых форм — миелобластов, промиелоцитов, миелоцитов, проэритробластов. По мнению В.Н. Захарова и др. (1990), обнаруженные изменения в созревании кроветворных клеток имеют определенное значение в развитии нарушений кроветворения.

В ряде работ система крови рассматривается как сложный осциллятор (Егармин, 1982; Kazarginoff, Drische, 1979), причем параметры осцилляции — размах и частота — отражают качество регулирования системы. Согласно Л. Глассу и М. Мэки (1991), подход к заболеваниям кроветворения с позиции циклического функционирования позволяет выявить новые аспекты патологии. Заболевания, в основе которых лежит нарушение ритмического характера, они предложили назвать динамическими болезнями. Незнание причин заболевания приводит к тому, что «некоторые пациенты умирают из-за того, что подверглись терапии, гораздо скорее, чем если бы их оставили в покое» (Гласе, Мэки, 1991, с. 196).

Различные клетки крови образуются в различных количествах, и образование каждого типа регулируется отдельно. Из этого следует, что в гемопоэзе действуют сложные управляющие механизмы. Недосток эритроцитов после каких-либо повреждений побуждает клетки почек к синтезу эритропоэтина, а избыток эритроцитов снижает секрецию гормона. Клетки эритроидного ряда, путь дифференцировки которых определен, должны пройти несколько последовательных циклов деления, во время которых они становятся все более чувствительными к эритропоэтину. Помимо эритропоэтина существует ряд аналогичных гормонов, вырабатываемых в ответ на возникающую потребность в лейкоцитах разного рода. Для производства каждого вида коммитированных клеток предшественнику нужен специфический гликопротеиновый фактор, действие которого определяет размножение и дифференцировку потомства (Албертс и др., 1987).

Анализ предлейкозных состояний, проведенный И.Г. Акоевым (1987), позволил автору сделать ряд важных выводов, созвучных тканевой модели канцерогенеза: 1) малигнизации клеток в абсолютном большинстве случаев предшествует период активной пролиферации; 2) в условиях измененного режима пролиферации клетки приобретают черты эмбриональных клеток вследствие недостатка времени и других причин на полноценную дифференцировку; 3) появление и закрепление злокачественности происходит не путем генных и хромосомных мутаций, а путем принципиально обратимого фиксирования на уровне генетической регуляции...

Следует отметить, что представление о том, что механизм лейкоза и рака иммунной системы связан с мутациями онкогенов, содержит противоречие, поскольку признается способность лейкозных клеток проходить дифференцировку до терминальной стадии, теряя злокачественность. Нормальные стволовые кроветворные клетки, так же как и опухолевые лейкозные стволовые клетки, способны давать потомство более дифференцированных клеток при воздействии индуцирующих факторов (Бутенко, 1983) S.L. Sach (1981) показал, что неопластичегкие клетки при



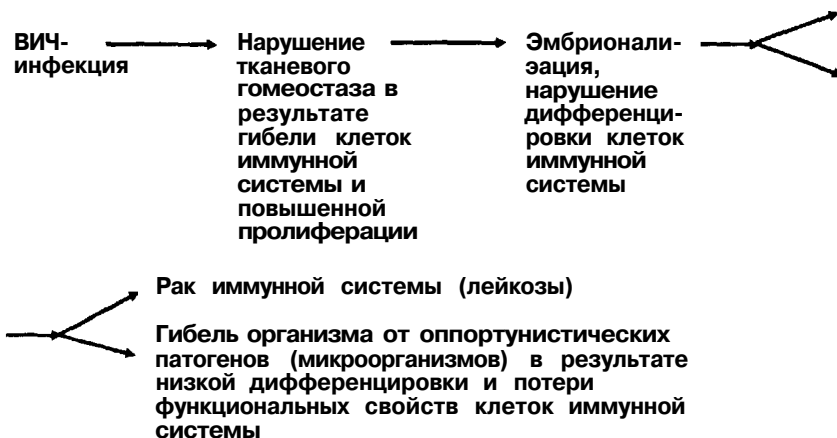
хроническом миелоидном лейкозе (ХМЛ) обладают признаком стволовых клеток и способны дифференцироваться как в гранулоциты, так и в В-клетки.

Особое место в ряду онкологических заболеваний крови занимает острый лейкоз (ОЛ). При ОЛ характерно ослабление и извращение функции Т-лимфоцитов, появляются незрелые их формы (Стрелков, 1992). Специфическими проявлениями ОЛ являются гиперклеточные реакции в периферической крови — лейкоцитоз, ретикулоцитоз, тромбоцитоз, эритроцитоз. Причина гиперцитозов (Захаров и др., 1990) связана с компенсаторно-приспособительной реакцией, которая в условиях уменьшения клеток в костном мозге поддерживает необходимый уровень. Это достигается за счет ускорения митоза и регистрируется в виде «омоложения» состава крови. Повышение пролиферативного пула стволовых клеток является ранней компенсаторной реакцией на канцерогенное воздействие. Считается, что гипоплазия обусловлена чрезмерным хроническим раздражением и гиперфункцией гемопоэза, что приводит к снижению продукции клеток и истощению кроветворной ткани (Данилов и др., 1969; Moeshlin, 1958; Benestad, 1975). Отмечается, что при развитии ОМЛ исчезает активность фактора созревания — лимфокинаина, ответственного за дифференцировку лейкозных клеток в зрелые моноциты (макрофаги) (Chiao, 1987). Угнетение гемопоэза коррелирует с дисфункцией Т-лимфоцитов, что сопровождается спадом активности всех основных лимфокининов. В пользу этого говорят факты участия лимфокининов в реакциях иммунитета и гемопоэза, а также то, что обработка лейкозных бластов лимфокининами вызывает их дифференцировку (Стрелков, 1992).

Таким образом, несмотря на сложность проявлений рака иммунной системы, лейкоза, СПИДа, в рамках тканевой модели рака удастся выявить основные закономерности развития стадий опухолеобразования. Согласно тканевой теории рака, существует два звена, или механизма, которые унифицируют онкогенез гематоиммунологической системы и СПИДа. Первый процесс связан с выявлением механизма «общего знаменателя», который унифицирует действие различных канцерогенных факторов. В рамках тканевой теории был открыт механизм с такими свойствами на уровне тканевого гомеостаза, а не генома клетки, как предполагалось ранее. В ответ на повышенную гибель клеток при воздействии вирусных и невирусных канцерогенов тканевый гомеостаз отвечает компенсаторной пролиферацией. В результате развивается прогрессирующая эмбрионализация, которая разрушает структуру, а затем и функцию гомеостаза. При нарушении обратной связи, контролирующей деление стволовых клоногенных клеток, обладающих активизированными онкогенами, они выходят из-под контроля.

Второй фактор унификации этого класса заболеваний иммунной системы объясняет механизм множественного проявления иммунной недостаточности при СПИДе и других видах рака иммунной системы, лейкоза. Этот фактор связан с блокировкой дифференцировки. Блокировка дифференцировки рассматривается в ряде концепций канцерогенеза в качестве ведущего фактора. В тканевой теории впервые обосновывается механизм обратимой блокировки дифференцировки, не связанный с мутациями онкогенов. Повышенный режим пролиферации вызывает прогрессирующую эмбрионализацию клеток. С учетом того, что молодые незрелые клетки не обладают тем набором белков и ферментов, которые в дифференцированных клетках выполняют специфические функции в организме, становится понятным, что нарушение дифференцировки приводит к множественному нарушению функций клеток иммунной системы (иммунодефициту). Развивается иммунодефицит по многим показателям. Таким образом, если при раке других систем и тканей нарушение дифференцировки предшествует неконтролируемому злокачественному росту, то при СПИДе уже предшествующая стадия блокировки дифференцировки является губительной для организма, поскольку иммунитет перестает выполнять свои функции, что позволяет развиваться оппортунистическим инфекциям. Можно сказать, СПИД — это вирусный рак с укороченной программой развития.

Схематически механизм СПИДа можно изобразить следующим образом:



Таким образом, картину развития болезни при СПИДе можно представить в виде двух частей, или блоков. Первая, специфическая, характеризует СПИД как вирусную инфекцию, пора-

ясающую иммунную систему, — эта часть картины патогенеза изучена на сегодня довольно детально. Но оставался ряд основных проблем, можно сказать белых пятен, которые не имели объяснения и касались механизма множественного проявления иммунодефицита. И что характерно, оказалось, что точно такие же черты иммунодефицитов проявляются при других канцерогенных воздействиях невирусной природы. Так появилась идея неспецифического ответа иммунной и кроветворной систем на самые различные канцерогенные факторы. Иначе говоря, несмотря на специфичность ВИЧ-инфекции, иммунная система реагирует неспецифически: появляется неспецифическая типичная картина иммунодефицитов множественного проявления. Эту часть удалось описать и объяснить ее закономерности в рамках тканевой теории канцерогенеза.

В заключение следует отметить ряд отличительных проявлений картины лейкозов и рака иммунной системы. Особенность поражения этих систем состоит в том, что отдельные ростки системы кроветворения представляют собой относительно автономные контуры саморегуляции (гомеостазы), поэтому лейкоз может развиваться ступенчато или фрагментарно, для каждого контура отдельно. В начальной фазе канцерогенное воздействие может повреждать верхние звенья системы гомеостазов. Какое-то время процесс может остановиться, если контур компенсирует нагрузку, затем контур разрушается, и нагрузка начнет падать на более глубокие уровни системы кроветворения, доходя до плюрипотентных стволовых клеток. Различие в клинической картине лейкоза будет определяться уровнем и избирательностью поражения тех или иных звеньев иммуногематологической системы. При слабых воздействиях канцерогенного фактора возникает состояние стабилизации на новом уровне, когда процесс не идет дальше. Такое состояние предлейкоза, или доброкачественного рака, объясняется механизмом тканевого гомеостаза, способного выдерживать большие нагрузки за счет постоянного восстановления своей структуры. При снижении канцерогенного профиля процесс опухолеобразования регрессирует, а ткань нормализуется. Следовательно, тканевая модель канцерогенеза хорошо описывает не только чистые случаи злокачественной формы рака, но и пограничные пролиферативные состояния предрака, предлейкоза и механизм их регрессии.

## ГЛАВА IX

# ТЕОРИЯ АУТОИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ

### 1. Два подхода к механизму аутоиммунной патологии

Что является причиной разнообразных аутоиммунных нарушений? Почему иммунная система вступает в борьбу против собственных клеток? Какова связь между аутоиммунной патологией и иммунодефицитом? Как связаны между собой гормональные дисбалансы и аутоиммунные расстройства? И, наконец, какую роль играют аутоиммунные процессы в механизме множественного иммунодефицита, вызванного ВИЧ-инфекцией?

В этой главе мы изложим новый взгляд на причину и механизм аутоиммунных патологий и их связь с иммунодефицитом, пролиферативными заболеваниями, природой злокачественной трансформации и СПИДом. В этой проблематике расширяются рамки подхода к СПИДу, поскольку будут проанализированы сходные проявления патологии иммунной системы, вызванной другими факторами.

Причины аутоиммунных заболеваний, по мнению ведущих иммунологов и аллергологов, сложны и запутанны. По существу, они считают, что механизм и причины аутоиммунитета до конца не известны, а обнаруживаемые корреляции между фактами не удается уложить в стройную концепцию.

Приведем точку зрения на природу аутоиммунных заболеваний двух крупных ученых. М. Фишбах и Н. Талал пишут: «Аутоиммунные заболевания относятся к числу полифакторных, поскольку их развитие определяется генетическими, вирусными и гормональными факторами, а также факторами внешней среды. Хронические аутоиммунные и воспалительные заболевания - это, по существу, нарушения иммунологической регуляции, ведущие к

ошибкам в иммунном распознавании, к депрессии ряда неадекватных эффекторных механизмов и, в результате этого, к разрушению тех или иных мишеней. Несмотря на огромное количество проведенных исследований, выработать единую концепцию патогенеза аутоиммунных заболеваний не удастся» (М. Фишбах, Н Талал Аутоиммунные заболевания // Иммуногенетика человека Т 1.- М· Мир, 1994.- С.250).

Как видим, речь идет о полифакторной причине, а механизм аутоиммунитета связывается с нарушением регуляции иммунной системы. Такая точка зрения является общепризнанной.

Анализируя корреляции между фактами, Р. Хонт пишет: «Неожиданное осложнение при иммунодефицитах — повышенная частота аутоиммунных нарушений. Трудно представить себе, каким образом при отсутствии реакции против инвазивных возбудителей у страдавших иммунодефицитом индивидов развивается иммунный ответ на собственные антигены... Еще одно проявление иммунодефицита — необычайная частота злокачественных новообразований... наш подход состоит в том, что аутоиммунные заболевания следует рассматривать с точки зрения нарушений иммунной регуляции» (Хонт Р. Иммунодефициты // Иммуногенетика человека. - Т.1.-М.: Мир, 1994.- С 293).

Как будет показано далее, механизм иммунопатологии, согласно нашей модели, обусловлен тем, что реакция на антигены "чужеродности", если количество их слишком велико и постоянно воспроизводится, приводит к истощению иммунной системы и, как результат, эмбрионализации клеток, проявляющейся в иммунодефицитах. Поэтому к этим клеткам уже вторично вырабатываются антитела. Таким образом, иммунодефицит органично связан с аутоиммунопатологией.

Приведем позицию А. Ройта, который пишет: «Мы уже обсуждали механизмы, препятствующие возникновению иммунного ответа на собственные нормальные антигены. Но всегда существует вероятность того, что эти механизмы могут сломаться... Когда это происходит, образуются аутоантитела (т. е. антитела, способные взаимодействовать со "своими" антигенами)... Термин "аутоиммунное заболевание" хотелось бы использовать лишь в тех случаях, когда патология возникает именно в результате аутоиммунных процессов, а не когда очевидно безвредные аутоантитела образуются в ответ на разрушение тканей (например, антитела к компонентам сердечной мышцы, появляющиеся после инфаркта миокарда) До сих пор четко не показана роль аутоиммунных процессов в патогенезе многих заболеваний и в настоящее время лишь из соображений удобства к аутоиммунным мы относим все заболевания, связанные с образованием аутоантител, за

исключением тех случаев, когда можно утверждать, что иммунные явления носят четко выраженный вторичный характер» (Роит А. Основы иммунологии.— М.: Мир, 1991.— С. 268 — 274).

Роит считает, что можно дифференцировать явную патологию, вызванную аутоантителами, от тех случаев, когда аутоантитела вырабатываются в ответ на воспалительные процессы. С нашей точки зрения, это различие носит лишь количественный характер. А. Роит пишет: «Существует определенный спектр проявлений аутоиммунной патологии. На одном его краю находятся органоспецифические болезни, связанные с образованием органоспецифических аутоантител... Ближе к центру этого спектра располагаются болезни, при которых имеется тенденция к локальному поражению одного определенного органа, хотя образующиеся при этом аутоантитела не являются органоспецифическими... На другом конце спектра находятся органонеспецифические болезни, например системная красная волчанка (СКВ), при которой ни поражения, ни аутоантитела не обладают органной специфичностью» (Роит, 1991, с.269).

С позиции нашей теории, этот феномен большей или меньшей специфичности объясняется тем, что степень эмбрионализации, степень дедифференцировки тканей в результате хронической повышенной пролиферации различна. Вспомним, что при опухолеобразовании степень эмбрионализации тканей также различна. При этом более поздние стадии рака характеризуются клетками, которые уподобляются друг другу независимо от специфики ткани, из которой происходит опухоль. Этот феномен называют законом конвергенции опухолевых признаков в процессе опухолеобразований. Ясно, что это уподобление касается антигенной структуры клеточной мембраны. Аналогичные процессы являются причиной выработки антител к этим измененным клеткам. Таким образом, новая теория хорошо объясняет сложные, запутанные случаи органоспецифичности аутоантител и их неспецифичности, что зависит от степени эмбрионализации ткани.

Имеющиеся факты, которые приводит сам А. Роит, разбивают его позицию, хотя он ставит под сомнение эти факты. А. Роит пишет: «Известны сообщения о сочетании заболеваний, расположенных на разных краях спектра, однако, как можно судить на основании серологических данных... эти сочетания не имеют характера закономерности... До сих пор нет достаточно удовлетворительного объяснения довольно редкой частоты гипогаммаглобулинемий и высокой частоты определенных форм рака при аутоиммунных заболеваниях. При органоспецифической иммунопатологии рак несколько чаще возникает именно в пораженном орга-

не, а при органонеспецифических аутоиммунных заболеваниях необычно часто встречается генерализованная лимфоретикулярная неонлазия. С помощью биопсии щитовидной железы и желудка было показано, что образование аутоантител практически всегда связано с незначительными повреждениями, типичными для тиреоидита и гастрита» (Роит, 1991, с. 269 — 277).

Приведенные данные с позиции новой модели можно объяснить так: поскольку органоспецифичность аутоантител зависит от степени эмбрионализации ткани, то при раке внутренних органов степень дифференцировки выше, чем в случае лимфоретикулярных неоплазий. Факт сочетания разных форм объясняется тем, что зависимость одной системы от другой выражена в разной мере, т.е. потенциал одного органа выше, чем потенциал другого, в смысле способности выдерживать пролиферативные нагрузки, поэтому степень поражения ткани в фазе предрака может быть различной.

Следующий факт носит принципиальное значение. А. Роит пишет «Однако в целом, как показывает опыт, введение немодифицированных экстрактов ткани тех органов, которые поражаются при органоспецифической иммунопатологии, не индуцирует синтез антител» (Роит, 1991, с.277). Следовательно, только модифицированная ткань дает реакцию на выработку аутоантител. Согласно нашей теории, такой модификацией является эмбрионализация клеток. Следующий факт подтверждает нашу теорию. Роит пишет: «Аллисон и Вейгл (Allison, Weigl) независимо друг от друга показали, что появление в структуре аутоантигена новых детерминант носителя, к которым отсутствует толерантность, вызывает образование аутоантител, так как ранее толерантные, не способные к кооперации с В-клетками аутореактивные Т-клетки начинают отвечать на модифицированный носитель в обход гомеостатического контроля» (Роит, 1991, с.279). Таким образом, на первом этапе анализа мы пришли к выводу, что сами клетки подвергаются модификации, что является причиной запуска аутоиммунитета. Вопрос следующий — какого рода модификация является признаком «чужеродности» для иммунитета? Рассмотрим еще один факт. Р. Хонт пишет: «Бренне и др. описали двух больных иммунодефицитом, у которых в состав рецепторов большинства Т-лимфоцитов входили цепи Т-У. Лимфоциты, несущие такие рецепторы, в норме содержатся в Т-клеточной популяции лишь в небольшом количестве, представляя собой, по-видимому, первичные клетки, играющие важную роль на ранних стадиях онтогенеза Т-лимфоцитов» (Хонт, 1994, с.279).

Логика взаимосвязи основных проявлений аутоиммунопатологии состоит в следующем. Поскольку факты свидетельствуют о

связи аутоиммунной реакции с иммунодефицитом, а иммунодефицит, как свидетельствуют приведенные данные, связан с низкодифференцированными клетками, которые характерны для ранних стадий созревания Т-клеток, то становится понятным, что модификация, вызывающая аутоиммунную реакцию, определяется эмбрионализацией клеток. Приведенные факты подтвердили выдвинутую теорию. Появление новых антигенов у клеток организма связано с процессом прогрессирующей эмбрионализации тканей в режиме повышенной патологической пролиферации. Эти состояния по-другому называют предраковыми с различной степенью выраженности патологии.

Анализируя механизм аутоиммунитета, А. Роит пишет: «Полагая, что ключевое значение в патогенезе аутоиммунных реакций имеет контроль над аутореактивными Т-индукторами и Т-хелперами. Вероятно, в норме либо происходит устранение клонов этих клеток, либо они инактивируются Т-супрессорами, либо исключается презентация им аутоантигенов» (Роит, 1991, с.278).

Следует принять во внимание следующий факт, который еще раз подтверждает новую модель. Как известно, процесс опухолеобразования сопряжен с выработкой аутоантител. Эти факты приводятся многими исследователями и считаются общепризнанными. Но эти факты имеют и другое значение, поскольку между начальной стадией патологической пролиферации и ее конечной стадией — опухолеобразованием лишь количественное различие, то антигенная структура клетки с нарушенной дифференцировкой претерпевает аналогичные изменения. Признав первый факт, мы с логической неизбежностью должны признать и следствие из этого факта. Это означает, что «чужеродность» собственных тканей, на которую вырабатываются антитела, связана с эмбрионализацией клеток

Противоположную позицию развивает А. Роит, который пишет: «Новая детерминанта может появиться на носителе в результате определенного изменения молекул, например при дефектном синтезе или аномальном гидролизе в лизосомах с появлением продуктов расщепления, несущих новые группировки. В эксперименте крупные протеолитические фрагменты тиреоглобулина, введенные без адьюванта, обладали аутогенными свойствами, однако до сих пор неясно, существует ли подобная аутоиммунизация у человека. В действительности ни при одном спонтанно возникшим аутоиммунном расстройстве, несмотря на многочисленные попытки, не удалось обнаружить какие-либо модификации аутоантигена... Удаление щитовидной железы у новорожденных цыплят линии Obese предотвращает спонтанные образования аутоантител к тиреоглобулину, Однако подобные антитела выяв-



ляются вскоре после введения линейным цыплятам тиреоглобулина, выделенного из щитовидной железы нормальных цыплят. Приведенные данные свидетельствуют о том, что аномален, по-видимому, не антиген, а иммунный ответ» (Роит, 1991, с.279).

Эту аргументацию в пользу того, что механизм аутоиммунитета связан с нарушением самой иммунной системы, можно опровергнуть. Дело в том, что в процессе эмбрионализации рецепторы действительно не модифицируются, они просто постепенно исчезают. Следовательно, этот факт не является аргументом против нашей теории. Низкодифференцированные клетки имеют другие антигены, чем зрелые, дифференцированные клетки.

Причинами аутоиммунных процессов могут быть микробы, вирусные инфекции, травмы, нарушения тканевого обмена, алтерация тканей вследствие ионизирующего облучения и нарушения кровообращения, введение некоторых лекарственных препаратов и вакцин. Часто аутоиммунные расстройства выступают в качестве дополнительного патологического звена основного хронического заболевания. Как считает В. А. Труфакин, «этиология многих иммунных заболеваний еще не ясна и, по-видимому, может быть обусловлена рядом факторов... многочисленные концепции, теории и гипотезы основаны на единственном предположении' иммунная система в норме не способна реагировать на «свой» антигены, доступные для иммунокомпетентных клеток» (Труфакин В. А. Иммуноморфологические аспекты аутоиммунных процессов. - Новосибирск, 1983.— С.32).

Основной трудностью в выявлении механизма аутоиммунных заболеваний является то, что авторы не могут точно обосновать, является ли выделенный фактор причиной, следствием, либо параллельно протекающим процессом.

Анализируя различные теории аутоиммунитета, В. А. Труфакин пишет: «Оказалось, что аутоиммунный конфликт развивается вследствие уменьшения численности популяции Т-лимфоцитов (Kruger E.A., 1976), дисбаланса между хелперной и супрессорной субпопуляциями Т-клеток (Moretta e.a., 1977), снижением активности Т-супрессоров (Waldman e.a., 1977; Morimoto, 1978) и последующим рассогласованием функций между Т- и В-лимфоцитами (Cox, Keast, 1973; Heer, Edgington, 1976; Talal, 1976, Cooke e.a., 1978) При этом ключевую позицию занимают Т-клетки-супрессоры при их гиперпродукции развиваются гипогаммаглобулинемия, анемия, иммунодефицита, при их дефиците отмечаются аутоиммунные расстройства, аллергии ...» (Труфакин, 1983, с 33)

Перейдем к обсуждению фактов и установлению между ними логической связи. Теория аутоиммунных патологий может исходить из двух изначально равноценных версий. Одна из версий должна погибнуть, а другая победить, либо удастся объединить их в единой теории. Первая версия состоит в том, что аутоиммунная реакция является нарушением самой иммунной системы, т. е. наличием ошибок в опознавании, регуляции — свои клетки принимаются за чужие. Предполагается, что патогенный фактор нарушает регуляцию иммунной системы.

Вторая версия состоит в том, что нормальная иммунная система реагирует на появление «чужеродности» своих клеток. В этом случае необходимо показать, как появляется «чужеродность» клеток организма. И в первой, и во второй версиях необходимо выявить механизм, выступающий «общим знаменателем», или, можно сказать, «узким местом» процесса. Этот механизм должен объяснять, каким образом самые различные по природе факторы способны унифицироваться, в смысле вызывать общий результат аутоиммунную реакцию. Что общего между вирусами, гормонами, физическими факторами, иммунодефицитом, пролиферативными процессами, учитывая, что они вызывают аутоиммунную реакцию?

Рассматривая две версии сквозь призму «общего знаменателя», можно сказать, что в первой версии такого механизма нет, а это означает, что это ложное представление, ошибочная версия. Во второй же версии такой механизм легко обнаружить — самые различные факторы при патогенном воздействии на ткань вызывают повышенную пролиферацию, которая компенсирует гибель клеток. Хроническая патологическая пролиферация вызывает омоложение ткани, т. е. ее эмбрионализацию, которая изменяет антигенную структуру клеток. Эта измененная антигенная структура и является мишенью для аутоиммунной атаки.

Анализируя динамику воспроизводства лимфоидной ткани, В. А. Труфакин пишет: «... для лимфоидной ткани ведущим условием в осуществлении иммунологической реакции является постоянное наличие в ней гистогенезов. В ходе последних происходит пролиферация предшественников иммунокомпетентных клеток и дифференцировка их в зрелые клетки... В процессе дифференцировки Т-клеток в гимусе выявляются существенные закономерные изменения ферментативного профиля тимоцитов» (Труфакин, 1983, с.4-11). Несмотря на особенности и различия лимфоидной ткани, механизм тканевого гомеостаза реагирует на паюгенные воздействия так же, как и другие тканевые гомеостазы, т. е. определяет ускоренную пролиферацию и прогрессирующее омоложение ткани. Этот механизм и является «общим знаме-

нагелем» Это означает, что аутоиммунитет вызывается нарушением в самих клетках, т. е. появляется «чужеродность», на которую реагирует иммунитет

Выдвинутая теория хорошо подтверждается фактами. Приведем точку зрения немецких авторов. Они пишут: «Аутоиммунные процессы в клинике были описаны прежде всего у страдающих иммунопролиферативными заболеваниями, особенно при лейкозах. Кроме того, подобные нарушения встречаются при аутоиммунных гемолитических анемиях, тромбопениях, тиреоидите, СКВ, ревматоидном артрите... наряду с этим известны случаи системного заболевания лимфоретикулярной ткани у лиц, страдающих СКВ или болезнью Шегрена» (Клиническая иммунология и аллергология. Т. 2 / Под ред. Л. Йегера. М., 1990, с. 273). Все эти заболевания инициируют патогенную хроническую пролиферацию и эмбрионализацию клеток, которые становятся мишенью аутоантител.

## **2. Двойной эффект аутоиммунной патологии**

Если в первом параграфе мы старались показать, что причиной аутоиммунитета является развивающаяся «чужеродность» клеток при нормальной реакции иммунитета, то теперь мы покажем, что в этом процессе иммунитет также претерпевает патологические изменения, которые принимали за причину аутоиммунитета. Паша теория аутоиммунопатологии состоит как бы из двух частей. Первая часть описывает, как возникает «чужеродность» клеток, инициирующая аутоиммунную реакцию. Во второй части показывается, что в ходе длительной борьбы с антигенами, выработки аутоиммунной атаки на них постепенно истощается сама иммунная система, что проявляется в эмбрионализации клеток иммунной системы. Такое состояние обнаруживает себя в иммунодефицитах.

Развивается «чужеродность» самих клеток иммунной системы, к которым вырабатываются аутоантитела. Этот процесс приводит к постепенной деградации иммунной системы. Примером может служить картина множественного иммунодефицита, возникающая в результате ВИЧ-инфекции

Приведем один из фактов, иллюстрирующих эту патологию. Немецкие авторы цитируемой монографии, пишут: «Генез нарушения клеюк-супрессоров еще не ясен. Привлекает внимание факт, что при органоспецифических аутоиммунных процессах обнаруживаются антилейкоцитарные аутоантитела (при СКВ - в 70-

90% случаев, ревматоидном артрите — в 50-60 %, при Myasthenia gravis — в 50 % и рассеянных склерозах — в 30 % случаев)» (с 274)

Таким образом, новая модель аутоиммунопатологии описывает не только связь иммунодефицитных состояний с аутоиммунной патологией, но и описывает вторичную реакцию, когда иммунная система при длительных высоких нагрузках претерпевает аналогичные процессы деградации. Эта деградация иммунитета проходит те же стадии. Клетки претерпевают эмбрионализацию, это вызывает иммунодефицит и одновременно к этим клеткам вырабатываются аутоантитела.

Прогрессирующая эмбрионализация дает три эффекта: аутоиммунопатологию, иммунодефицит и переход к опухолеобразованию, т. е. раку лимфоидной ткани. Следовательно, картина нарушения иммунной системы, которую описывали как причину аутоиммунитета, как механизм на самом деле является второй фазой развития аутоиммунной реакции, т. е. фазы, когда система исчерпывает свои функциональные возможности и начинается ее деградация. Это утверждение новой теории можно доказать тем, что аналогичная картина разрушения иммунной системы наблюдается не только при аутоиммунной атаке длительного характера, но и при экзогенном патогене и нормальной иммунной атаке, переходящей в фазу истощения своего потенциала. Примером может служить вирусная инфекция, в частности картина множественного иммунодефицита при СПИДе. Сходство картины поражения иммунной системы при внешнем агенте и при аутоиммунитете свидетельствует в пользу того, что данная картина является результатом истощения иммунитета, т. е. второй фазой развития аутоиммунной реакции.

Двухфазность развития событий, описываемых теорией, означает, что теория объединила две версии, но они разделены во времени: вначале возникает «чужеродность» собственных клеток, затем, как результат длительной повышенной нагрузки, начинается деградация самой иммунной системы. Следовательно, эти две версии, во-первых, взаимосвязаны, и, во-вторых, причинно обусловлены, развиваясь в одной логической цепи событий.

Теперь коснемся проблемы взаимоотношения опухоли и иммунитета. Если допустить, что иммунитет частично способен уничтожать раковые клетки, то это привело бы к стимуляции роста опухоли. Это объясняется тем, что тканевый гомеостаз отвечает повышенной пролиферацией на увеличение гибели клеток. В литературе встречаются данные о том, что иммунитет способствует росту опухоли. Очевидно, что противостоять опухолеобразованию иммунная система не способна, поскольку источник роста опухоли

не всегда уничтожается при уничтожении раковых клеток. Другой аспект состоит в том, что опухоль может быть разной степени дифференцированности, поэтому на дифференцированные клетки иммунитет не реагирует. Получается, что часть клеток недоступна для иммунитета в силу высокой дифференцировки, а та часть, которая доступна и может быть уничтожена, в результате этого будет стимулировать опухолеобразование.

Перейдем к проблеме СПИДа в связи с новой теорией аутоиммунопатологии. Теперь нам известна причина аутоиммунных реакций при СПИДе. Она является результатом эмбрионализации иммунокомпетентных клеток. Одновременно эффект эмбрионализации проявляется как множественный иммунодефицит. Он возникает в результате длительной повышенной нагрузки на иммунную систему. В литературе неоднократно ставился вопрос: почему исчезают Т-лимфоциты, если вирус поражает одну клетку из тысячи данной популяции. Дело в том, что при повышенной гибели клеток, тканевый гомеостаз компенсаторно реагирует на увеличение гибели. В ответ развивается компенсаторная пролиферация и, как результат, происходит омоложение ткани — зрелые клетки заменяются на низкодифференцированные. В свою очередь, низкодифференцированные эмбриональные Т-клетки становятся мишенью аутоиммунитета и могут дополнительно уничтожаться.

Таким образом, теория аутоиммунопатологии вписалась в теорию канцерогенеза и теорию СПИДа — все три теории работают в рамках одной парадигмы, которая первоначально была разработана применительно к природе канцерогенеза.

Сравнивая теорию аутоиммунопатологии с теорией иммунной системы Эрне (Jerne, 1976), можно сказать, что они взаимодополняют друг друга, но акцентируют внимание на различных аспектах. Приведем цитату из книги «Иммунология и старение» (М.: Мир, 1980, с. 42). У. Хиджеманс и Ц. Хайэндер пишут: «...Недавно Эрне ... внес новое измерение в модель иммунной системы. Он выдвинул концепцию, согласно которой, иммунная система представляет собой сеть, состоящую из молекул и лимфоцитов, которые распознают другие молекулы антител и лимфоцитов и, в свою очередь, распознаются ими. Автор подчеркивает, что эта сеть... функционирующая и ее свойства служат отражением важных регуляторных механизмов. . Речь идет о сложной системе, построенной из многочисленных взаимозависимых подсистем с сигналами и механизмом положительной и отрицательной обратной связи».

Но исходя из этой теории мы не получим ответа на вопросы о механизме рака лимфоидной системы, механизме аутоиммунопатологии, причине множественного иммунодефицита при СПИДе и

других патологиях иммунитета Наша теория развивает вторую сторону или составляющую часть общей теории иммунитета. А именно, иммунная система также представляет собой сеть, состоящую из колец обратной связи, но каждый контур в этой сети определяет воспроизводство данного клона по принципу прямой и обратной связи, т е гомеостаза, и сцеплен с другими клонами Узким местом является «антигенное напряжение», т е. пролиферативная нагрузка на данный контур, которая связана с «антигенным профилем» и имеет количественное выражение При высоком антигенном профиле, контур входит в режим хронической пролиферации, что приводит к эмбрионализации клеток иммунной системы В результате развивается иммунодефицит Развитие эмбрионализации клеток приводит к нарушению механизма гомеостаза данного контура и бесконтрольному делению клеток, т е раку, согласно тканевой теории опухолеобразования. Новая теория объясняет широкий класс заболеваний иммунной системы. В целом можно сказать, что теория Эрне и наша теория дополняют друг друга в описании общей картины функционирования иммунной системы и ее патологий.

Несмотря на продвинутость теории Эрне, детализацию механизма функционирования иммунитета , она все же не дает ответа на самые главные проблемы — как возникает злокачественное перерождение лимфоидной ткани, каков механизм множественного иммунодефицита при СПИДе, каков механизм аутоиммунопатологии Приведем выдержку из книги «Иммунология», т. 2 (Под ред. Пола М Мир, 1988)<sup>1</sup> «В 1974 г. Эрне разработал теорию, согласно которой иммунная система представляет собой сеть взаимодействующих идиотопов... По теории Эрне, в индивидуальных молекулах иммуноглобулинов (Ig) необходимо различать два основных набора участков, с помощью которых они взаимодействуют с другими компонентами иммунной системы . Основным постулат теории сетей состоит в том, что существуют молекулы Ig, несущие идиотопы, иммунологически сходные с очень многими, если не со всеми природными эпитопами... Второй основной постулат теории заключается в том, что для каждого антитела, продуцирующего данный паратоп (р) и идиотоп (ц), существует комплементарное антитело, несущее паратоп р<sub>2</sub>, способное связываться с и<sub>1</sub>, такое антитело продуцирует также собственный набор идиотопов (i<sub>2</sub>). Первое из двух антител обычно называют А<sub>T1</sub> второе — А<sub>T2</sub> (с. 425)... Для нормального животного характерно равновесие между клонами, продуцирующими А<sub>T1</sub> и А<sub>T2</sub> Согласно теории сети, введение антигена нарушает это равновесие, так как он связывается с А<sub>T1</sub> и, удаляя их, лишает клоны А<sub>T2</sub> стимули-

рующего действия B. В свою очередь это позволяет клонам  $A_{T1}$  уйти из под контроля клонов  $A_{T2}$ ; в результате клоны  $A_{T1}$  при контакте с антигеном пролиферируют и дифференцируются...» (с. 437).

Данная теория суммирует современное представление о функционировании иммунной системы, но и у нее есть белые пятна. Она не описывает, что происходит при чрезмерных антигенных нагрузках на сеть. Этот аспект, связанный с «канцерогенным профилем» или, применительно к иммунной системе, «антигенным профилем», описывает тканевая теория рака иммунной системы. В теории делается акцент на тканевом гомеостатическом воспроизводстве всех составляющих элементов иммунной системы, однако повышенная длительная нагрузка на клон, продуцирующий иммунокомпетентные клетки или антитела, приводит к повышенной компенсаторной пролиферации. Длительная пролиферация ускоренного типа становится причиной нарушения дифференцировки клеток клона, появляются незрелые или частично дифференцированные иммунокомпетентные клетки. Нарастающая эмбрионализация специализированных клеток приводит к постепенному снижению, ослаблению их функциональных свойств — развивается множественный иммунодефицит. Если антигенная нагрузка на клон не снижается, то идет процесс прогрессирующей эмбрионализации, переходящий в злокачественное перерождение лимфоидной ткани. Теория хорошо объясняет основные патологии иммунной системы.

## Заключение

К настоящему времени накоплен большой экспериментальный и клинический материал, свидетельствующий о способности раковых клеток нормализоваться. Для опухолей *in vitro* корреляция между нормализацией и дифференцировкой выявляется со всей определенностью. Возникает вопрос: являются ли препятствием для реверсии опухолевых клеток к норме генные, хромосомные и геномные нарушения? Этот вопрос можно сформулировать иначе: является ли нормализация раковых клеток сугубо фенотипической, не затрагивающей генетические нарушения, или это истинная нормализация, включающая нормализацию генов?

Как показал в своих работах Л. Сакс (1986), необратимые изменения генома не препятствуют нормализации опухолевых клеток. Данный факт можно интерпретировать двояко. Если исходить из предположения, что необратимые изменения генома явились причиной трансформации, то дифференцировка и нормализация раковых клеток были бы невозможны, блокировка дифференцировки также была бы необратимой, так как она один из признаков онкогенеза.

Но можно дать иную интерпретацию этого факта. Поскольку происходит нормализация опухолевого фенотипа, а предполагаемая причина в виде необратимых изменений генома этого не допускает, то очевидно, что предположение о причинной связи между нарушением генома и трансформацией ошибочно. Это означает, что необратимые генетические нарушения представляют собой параллельно развивающийся процесс, наряду с опухолеобразованием. Трансформация клетки не обусловлена какими-либо деструктивными изменениями онкогенов, генома, хромосом, т.е. не выступает в качестве события клеточного масштаба, а является процессом нарушения тканевого гомеостаза и выходом из-под контроля клоногенных клеток, обладающих активизированными онкогенами. Параллельно развиваются два процесса — нарушение



ние тканевого гомеостаза в результате эмбрионализации клеток и нарушение генома. Генетические нарушения, ускоряя гибель клеток, влияют на режим пролиферации и тем самым влияют на нарушение тканевого контроля.

Противопоставляя две теории, следует подчеркнуть их преемственность. Идея активизации онкогенов как причина экспрессии ракового фенотипа вошла в тканевую теорию, однако в рамках теории онкогена не удалось раскрыть механизмы патологической активизации онкогенов. Предполагаемые механизмы канцерогенеза, основанные на деструктивных, необратимых изменениях онкогенов, опровергаются, в частности, фактами по нормализации раковых клеток. Об этом свидетельствуют также данные о трансформации клеток в результате воздействия трансформирующих факторов роста (ТФР), действующих через специализированные рецепторы на клеточной мембране. Следует подчеркнуть, что ТФР выделяются также из нормальных клеток. Это свидетельствует о том, что в клетке имеется специфический механизм индукции «трансформации», что отрицает представление, сложившееся в прежних концепциях. Данный факт отрицает возможность прямого трансформирующего действия неспецифических канцерогенов. Сомнения в такой возможности высказывались в литературе, но доказать это теоретически в рамках прежних теорий было трудно.

В тканевую теорию вошла основная идея теории онкогена об активизации онкогенов, но в иной, преобразованной форме. Как оказалось, активизация онкогенов не связана с их необратимыми изменениями — идея, рожденная мутационной концепцией, опровергается рядом фактов. Активизированные онкогены присущи пролиферирующим нормальным стволовым клеткам. Патологическая активизация онкогенов зависит от блокировки дифференцировки, наступающей в результате повышенной пролиферации, которая постепенно приводит к эмбрионализации ткани и разрушению тканевого гомеостаза. Чтобы репрессировать патологическую активизацию онкогенов, т.е. снять блокировку дифференциации и тем самым нормализовать трансформированную клетку, необходимо индуцировать дифференциацию. Следовательно, патологическая активизация онкогенов не является необратимой и, соответственно, она не обусловлена необратимыми изменениями онкогенов.

Можно сказать, в тканевой модели произошла «трансформация» теории онкогена — идея активизации онкогенов сохранилась, но в иной форме, за счет другого механизма, т.е. как результат выхода из-под контроля стволовых клеток, обладающих активизированными онкогенами. Иначе говоря, те злокачественные признаки, которые идентифицировались у раковых клеток, являются атрибутом нормальных клоногенных, низкодифференцированных клеток (стволовых, коммитированных), вышедших

из-под контроля тканевого гомеостаза. Данное положение доказывается тем фактом, что при трансплантации нормальных стволовых клеток в другой организм они проявляют инвазивный злокачественный рост. Следовательно, различие между раковыми клетками и стволовыми не в измененных онкогенах, а в наличии или отсутствии тканевого гомеостаза.

На этапе становления тканевой теории трудно сделать все выводы и следствия. Пока можно сказать, что они многоплановы и касаются основных проблем теоретической и клинической онкологии. Многие из проблем в монографии получили решения. Механизм трансформации в новой теории базируется на нарушении тканевого контроля в результате прогрессирующей эмбрионализации и неконтролируемого роста клоногенных клеток. Данный механизм принципиально отличается от доминирующих концепций канцерогенеза, в основе которых лежало представление о необратимых изменениях генов в результате мутаций в отдельной клетке. Эта идея развивалась на протяжении почти столетия с начала появления мутационной концепции рака.

Как показал анализ теории онкогена, в ее основе лежит старая мутационная концепция, которая подвергалась критике рядом авторов, поскольку выявляются несоответствия фактам. С этой позиции новизна теории онкогена относительна — она касается выявления конкретных онкогенов, экспрессия которых связана с опухолевым фенотипом, что же касается механизма трансформации, то она представляет ту же мутационную концепцию, выдвинутую в начале века.

Такая двойственная оценка теории онкогена делает объяснимыми многие несостыковки теории с экспериментальными данными. В определенном смысле клиническая онкология ушла вперед, опираясь на эмпирические данные, поскольку ряд клинических методов и принципы, лежащие в их основе, противоречат теории онкогена. Например, гормонотерапия, а также методы, основанные на индукции дифференцировки клеток опухолей, противоречат теории онкогена. С этой точки зрения старая теория сковывает, является тормозом на пути дальнейшего развития онкологии.

В чем же состоит противоречивость теории онкогена? Наиболее уязвимым и ошибочным является положение о необратимости трансформации в результате мутационных деструктивных изменений онкогенов. Из него следует наследование злокачественных признаков при делении раковой клетки, а также необратимость блокировки дифференциации. Однако экспериментальные данные говорят о другом характере трансформации: 1) раковые клетки при индукции дифференцировки созревают, теряя злокачественность; 2) часть клеток в самой опухоли проходит дифференцировку до терминальной стадии, теряя злокачественность; 3) при трансплан-

тации изолированных стволовых клеток в другой организм они проявляют опухолевый инвазивный рост без канцерогенного воздействия. Эти факты опровергают представление о необходимости генотоксического фактора и мутаций онкогенов.

Таким образом, молекулярно-генетическая теория открыла онкогены, но не сумела вскрыть механизм их активизации, т.е. как осуществляется трансформация, оставалось неясно. Этот вопрос удалось решить в тканевой теории рака. Тот факт, что стволовым и коммитированным клеткам присущи свойства, которые ранее идентифицировались как злокачественные, — т.е. клоногенность, аутокринный митоз, наличие активизированных онкогенов, им-мортализация — в корне меняет представление о механизме трансформации. В новой теории речь идет об условиях и механизме, при которых потенциально злокачественные клетки выходят из-под контроля тканевого гомеостаза. Следовательно, мишенью канцерогенного воздействия является не только геном клетки, но и тканевый гомеостаз. Из этих двух мишеней только одна, при ее поражении, приводит к опухолеобразованию.

В этом контексте получает объяснение такой феномен, как трансформация клетки в результате воздействия трансформирующих факторов роста (ТФР), которые выделяются также из нормальных клеток. Поскольку ТФР не генотоксичны и действуют через рецепторы на мембране, то, по существу, выявляется специализированный механизм трансформации клетки. Так как ТФР выделяются из нормальных клеток и трансформируют нормальные клетки, то это говорит об отсутствии различий между митогенным сигналом и эффектом действия ТФР. Секрет трансформации не в ТФР или рецепторах, а в нарушении тканевого контроля и активизации стволовых клеток. Данный вывод разрушает прежние представления о трансформации в результате мутаций генов: предполагалось, что мутации создают чуждые для организма клетки, которые путем эволюционного процесса, селекции создают «новые породы» клеток. Данные о ТФР говорят о том, что неспецифические канцерогены не могут трансформировать клетки прямым образом, следовательно, они действуют путем разрушения тканевого гомеостаза и выхода из-под контроля клоногенных клеток. Открытие трансформирующих факторов роста конкретизирует механизм трансформации, описанный в тканевой теории. Таким образом, рак — это неконтролируемое размножение стволовых клоногенных клеток в результате нарушения тканевого контроля, что обусловлено прогрессирующей эмбрионализацией ткани в результате длительной интенсивной пролиферации.

Опровержение в новой теории мутационного механизма трансформации, лежащего в основе теории онкогена, одновременно разрушает иммунологическую концепцию рака (Вернет). Поскольку

новые данные выявили специфический механизм трансформации за счет трансформирующих факторов роста, действующих через рецепторы на мембране, то представление о появлении чужеродных для иммунной системы клеток разрушается. Вместе с этим разрушается основание иммунологической концепции рака, так как она исходит из представления о мутационном характере трансформации. Исходя из экспериментального материала, такие выводы уже делались, однако только в новой теории иммунологическая концепция рака окончательно опровергается, поскольку разрушено представление о механизме появления «новых пород» клеток в организме.

Одной из центральных проблем теории канцерогенеза оставалась проблема общего знаменателя, т.е. механизма, который унифицирует, нивелирует разнообразие канцерогенных факторов и приводит к единому результату. Как объединить на основе общего признака химические канцерогены, радиацию, механистические, тепловые воздействия, гормоны, факторы роста, вирусы, микроорганизмы? Эта проблема в молекулярно-генетической теории и предшествующих концепциях осталась нерешенной. Свести все перечисленные канцерогенные факторы к генотоксическому действию не удается, механизм же трансформации, предложенный теорией онкогена, предполагает генотоксический фактор. В связи с нерешенностью этой проблемы понятие канцерогенности оставалось нераскрытым и гипотетичным — даже на примере химических канцерогенов не удалось выявить какую-либо общую структуру, обеспечивающую трансформацию клетки, на примере вирусов — та же картина: не все трансформирующие вирусы содержат общие онкогены или не содержат их вообще. Рассмотренный механизм трансформации при воздействии трансформирующих ФР еще больше озадачивает. Все это говорит о том, что теория онкогена не сумела ответить на основополагающие проблемы, поставленные экспериментальной и клинической онкологией. Этот узел связанных между собой проблем можно решить при условии выявления механизма общего знаменателя. Активизация онкогенов в качестве механизма общего знаменателя не объясняет начального этапа действия канцерогенов, так как, согласно теории онкогена, активизация онкогенов выступает в качестве конечного результата 2—3 мутаций или иных нарушений генома. Поиск такого механизма на уровне отдельной клетки не увенчался успехом, так как основывался на ошибочном предположении, что механизм рака можно понять на уровне отдельной клетки. Узел противоречий удалось распутать в рамках тканевой концепции опухолеобразования. Проблема механизма общего знаменателя решается путем перехода на уровень тканевой системы контроля пролиферации.

Согласно тканевой концепции, в роли механизма общего знаменателя выступает тканевый гомеостаз. Суть событий, происходя-

щих в начальной стадии опухолеобразования, состоит в следующем, В ответ на различные канцерогенные факторы, вызывающие либо гибель клеток, либо митогенную реакцию, гомеостаз отвечает компенсаторной повышенной пролиферацией, что компенсирует повышенную гибель клеток либо компенсирует функциональную недостаточность. На вход механизма гомеостаза воздействуют различные по природе канцерогены, а на выходе его — одна и та же реакция. Следовательно, тканевый гомеостаз выполняет функцию своеобразного преобразователя разнообразия канцерогенов в единый общий результат. Этот результат можно назвать вторичным канцерогенным фактором, в качестве которого выступает повышенный режим пролиферации. Какой именно режим пролиферации вызывает рак — на этот вопрос отвечает концепция канцерогенного профиля. Согласно данной концепции, канцерогенность того или иного канцерогенного фактора определяется не только его физико-химическими свойствами, но и характером или режимом воздействия: дозой, частотой нанесения канцерогена, длительностью воздействия. Параметры канцерогенного профиля должны коррелировать с параметрами динамической устойчивости тканевого гомеостаза, поскольку он обладает свойством воспроизводства. Если профиль воздействия ниже, то гомеостаз будет компенсировать канцерогенное воздействие, и опухоль не разовьется. При более высоком уровне воздействия разовьется доброкачественная опухоль, и процесс опухолевой прогрессии стабилизируется на одном уровне. И лишь когда воздействие еще выше, опухолеобразование проходит все стадии до выхода стволовых клоногенных клеток из-под контроля, что сопровождается инвазивным ростом и метастазированием. Таким образом, в тканевой теории выявлен общий механизм развития доброкачественных и злокачественных опухолей и показана общая закономерность опухолевой прогрессии.

В нормальной ткани деление стволовых клеток, дифференцировка их и гибель взаимоуравновешены. При раке эта гармония нарушается — появляется слишком много незрелых, размножающихся клеток. Суть механизма нарушения контроля пролиферации состоит в следующем. В норме между пулом дифференцированных клеток, которые синтезируют и выделяют кейлоны (ингибиторы митоза), и пулом клоногенных стволовых клеток, которые синтезируют факторы роста, устанавливается прямая и обратная связь, т.е. гомеостаз регулируется обратной связью. Равновесие между кейлонами и факторами роста постоянно воспроизводится и коррелирует с соотношением между стволовыми клоногенными клетками и дифференцированными клетками, т.е. это равновесие связано со структурой тканевого гомеостаза. Следовательно, нарушение процесса воспроизводства тканевого гомеостаза приведет к нарушению контроля пролиферации клоногенных клеток, т.е. приведет к неконтро-

лируемому опухолевому росту. Возникает вопрос, какой из процессов, наблюдающихся при канцерогенном воздействии, приводит к нарушению воспроизводства тканевого гомеостаза? В тканевой модели доказывается, что таким процессом является прогрессирующая эмбрионализация ткани, которая зависит от режима пролиферации. При длительных ускоренных режимах пролиферации наступает обратимая блокаровка дифференцировки — клетки не успевают пройти фазы дифференциации.

Дифференцированные клетки при канцерогенном воздействии гибнут, т.е. наблюдается ускоренная гибель клеток, на смену им приходят в результате репопуляции низкодифференцированные клетки — развивается прогрессирующая эмбрионализация ткани. Насколько быстро разовьется опухоль, зависит от канцерогенного профиля. Следовательно, поддержание нормальной тканевой структуры и режима пролиферации определяет нормальный тканевый контроль и, наоборот, при длительных повышенных режимах пролиферации структура «течет», или «плавится», что приводит к опухолеобразованию. Тканевая модель хорошо объясняет три встречающихся варианта развития опухолеобразования: прогрессию, регрессию и стабилизацию, т.е. доброкачественное состояние. В молекулярно-генетической теории не удается объяснить механизм образования доброкачественных опухолей, механизм регрессии, поскольку она предполагает развитие только в одном направлении, процесс обратного развития — регрессия опухоли — никак не вытекает из теории онкогена. Этим, в частности, выгодно отличается тканевая модель, с помощью которой удастся объяснить сложные клинические случаи опухолеобразования, когда опухоль ведет себя «непонятным образом».

В новой теории переосмысливается онкологическое значение генотоксического и промоторного эффекта канцерогенного действия; доказывается, что истинным канцерогенным значением обладает не генотоксический фактор, а промоторный. Значение генотоксического фактора проявляется опосредованно, через промоторный, т.е. усиливается гибель клеток в результате нарушения генома, что вызывает компенсаторную пролиферацию, и далее процесс развивается по схеме, описываемой тканевой теорией. Переосмысливание значения промоторного эффекта, выступающего в качестве канцерогенного фактора, позволило решить ряд проблем, которые до сих пор не могли быть решены, в частности выявить механизм гормонального рака.

Второй мишенью разрушающего, канцерогенного действия эмбрионализации являются межклеточные контакты и рецепторы. Поскольку молекулы адгезии и рецепторы синтезируются дифференцированными клетками, а в процессе репопуляции зрелые клетки заменяются на низкодифференцированные, то состав мо-

лекул адгезии и рецепторов на мембране будет постепенно обедняться вплоть до полного исчезновения ряда из них. Данное объяснение механизма исчезновения молекул адгезии и рецепторов с мембраны отличается от имеющихся в литературе и подтверждается многочисленными данными. В частности, регенераторные процессы не опухолевой природы характеризуются аналогичными изменениями, но выраженными в меньшей степени.

В рамках новой концепции канцерогенеза удалось решить группу проблем, связанных с изменением энергетики опухолевых клеток, поставленных еще О. Варбургом. По заявлениям ряда известных онкологов, эти проблемы не получили решения, несмотря на многочисленные попытки объяснения феноменов. Ни одна концепция не давала окончательного, удовлетворительного объяснения. Решение проблемы изменения энергетики в раковых клетках состоит в следующем. Поскольку группа ферментов, осуществляющих процесс дыхания, синтезируется только зрелыми клетками, а низкокодифференцированным клеткам свойственен другой состав ферментов, осуществляющих гликолиз, то увеличение степени эмбрионализации в процессе канцерогенного воздействия приведет к постепенному изменению типа энергетического обмена, т.е. опухолевая ткань переходит на гликолитический тип энергетического обмена. Следовательно, эффекты, обнаруженные О. Варбургом, получили в тканевой теории рациональное объяснение. Отметим, что факты о том, что эмбриональные низкокодифференцированные клетки имеют другой тип энергетики, а в процессе дифференцировки переходят на дыхание, были зафиксированы самим Варбургом и рядом ученых, работавших в этом направлении. Однако причину такого изменения искали на уровне патологии отдельной клетки, в ее генетическом и биохимическом необратимом изменении, поэтому они не стали ключом к разгадке феномена изменения энергетики опухолевых клеток.

С позиции тканевой теории изменение спектра ферментов дыхания на ферменты, осуществляющие гликолиз, является частным проявлением более глубокого закона опухолеобразования — изменения спектра ферментов и поверхностных молекул на мембране, исчезновения их в результате эмбрионализации ткани. Можно сказать, это побочные проявления прогрессирующей эмбрионализации, ведущей к нарушению тканевого контроля.

С позиции тканевой теории удалось опровергнуть ряд основных положений теории Foulds (1969), в частности правило независимости опухолевой прогрессии. В новой теории показано, что многообразные признаки опухолевой прогрессии имеют общий, единый вектор изменений и закономерное искажение свойств: логика развития опухолевых признаков подчинена прогрессирующей эмбрионализации ткани. Смена дифференцированных клеток на все менее

дифференцированные в процессе эмбрионализации лежит в основе изменения отдельных признаков опухолевой прогрессии.

Основной клинический вывод тканевой теории состоит в том, что поскольку трансформация клеток не является необратимой, как считалось раньше, то лечить опухоли можно не только путем уничтожения раковых клеток, но и путем их нормализации в результате индукции дифференцировки и соответственно стабилизации нормальной структуры тканевого гомеостаза. Новая теория доказала, что направление изменения может идти не только в одну сторону — от нормальной клетки к трансформированной, но и в обратную сторону — от раковой клетки к нормальной. Хотя о такой возможности свидетельствовали многочисленные данные, но не было теории, которая могла бы обосновать данные факты, поэтому их часто не принимали всерьез либо они игнорировались. Это означает, что опровергнут основной постулат генетических теорий рака. Фундаментальность данного положения состоит в его клиническом использовании. Методы лечения, основанные на нормализации раковых клеток в результате дифференцировки, а также гормонотерапия оставались долгое время как бы «вне закона», поскольку противоречили существующей теории онкогена. Тканевая теория раскрыла механизм, лежащий в основе таких методов лечения, а также эффективных методов немедикаментозного лечения восточной медицины древних культур. Данные методики основываются на коррекции и стабилизации основных гомеостатических систем и тем самым снижении пролиферативной нагрузки на тканевый гомеостаз того или иного органа. Для ряда опухолей этого условия достаточно для регрессии и нормализации системы тканевого гомеостаза.

В свое время был выдвинут принцип идеального противоопухолевого препарата, названного принципом «золотой пули». Он состоит в том, что препарат должен уничтожать все раковые клетки и не повреждать нормальные. С позиции новой теории даже при идеальном воплощении для ряда опухолей это не принесет успеха: либо разовьется вторичный рак, либо ускорится опухолевая прогрессия. Изъян принципа связан с неверным представлением природы злокачественной трансформации. Можно сказать, это тот случай, когда теория непосредственно влияет на клиническую практику. Тканевая теория позволяет изменить принцип стратегии борьбы с опухолевыми заболеваниями и поиска эффективных средств лечения рака. Новая стратегия лечения состоит в индуцировании нормализации раковых клеток путем дифференцировки и стабилизации за счет этого структуры тканевого гомеостаза. Вторым направлением этой стратегии является разработка методов блокирования источника повышенной пролиферации ткани. Согласно А.К. Белоусовой (1993), «индук-



ция дифференцировки опухолевых клеток рассматривается как альтернатива или дополнение к методам цитотоксической химиотерапии опухолей». Каков потенциал возможностей новых методов лечения рака, еще предстоит выяснить, но уже сейчас видны явные преимущества: препараты, основанные на дифференцировке и нормализации раковых клеток, не токсичны.

Предложенная концепция механизма СПИДа, базирующаяся на тканевой теории, позволила выявить механизм множественного иммунодефицита. По мнению ведущих специалистов, множественные проявления функциональной недостаточности клеток иммунной и кроветворной систем при различных лимфопролиферативных заболеваниях, лимфомах, лейкозах и СПИДе являются наиболее сложными, труднообъяснимыми проявлениями этих заболеваний.

Согласно новой концепции, СПИД отнесен к вирусному канцерогенезу иммунной системы на основании идентичных проявлений картины поражения иммунитета, характерной также для целого ряда заболеваний иммунной и кроветворной систем: изменение пролиферативного режима, прогрессирующая дедифференцировка ряда клеточных ростков, множественная функциональная недостаточность иммунокомпетентных клеток. Согласно новой концепции, явление множественного иммунодефицита носит сложный характер и состоит из двух механизмов. Первый механизм известен — это снижение числа клеток данного ростка в результате их гибели. Что касается второго механизма — множественного поражения функциональных свойств, — то механизм этого явления вписывается в общую закономерность, характеризующую опухолевые и предопухолевые заболевания. Суть явления состоит в следующем. Чрезмерная функциональная нагрузка на ткань либо повышенная гибель клеток при вирусной инфекции изменяют функционирование и воспроизводство тканевого гомеостаза, ускоряя компенсаторную пролиферацию. В режиме ускоренной пролиферации происходит обратимая блокировка дифференцировки клеток, в результате чего ткань воспроизводится за счет малодифференцированных клеток, развивается прогрессирующая эмбрионализация. Учитывая, что белки, ферменты, определяющие специфические функции клеток, присущи сугубо зрелым клеткам, снижение дифференцировки приводит к множественному проявлению иммунной недостаточности в результате потери функциональных свойств клеток иммунной системы. Результатом становится гибель организма от оппортунистических инфекций, рака лимфоидной ткани, лейкоза. Согласно ряду данных (Эдельсон, Финк, 1985), кожа выполняет также иммунологическую функцию, поэтому рак Капоши вписывается в эту закономерность.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

- А б Е л е в Г.И. //Методологические вопросы изучения онкогенеза. — М.: Медицина, 1988. - С. 127 - 138.
- А в д е е в а Т.Н., В я д р М.М., К а д а г и д з е З.Г. //Итоги науки и техники. Онкология. Т. 14. - М.: ВИНТИ, 1985. - 220 с.
- А к о е в И.Г. Биофизика познает рак. — М.: Наука, 1987. — 159 с.
- А л е к с е е в Н.А., В о р о н ц о в И.М. Лейкозы у детей. — Л.: Медицина, 1988. - 247 с.
- А л е ш и н Б.В., Б у ш т е и н Ш.А., Ч е р н я к Б.И. //Алиметратнотоксическая алейкия. — Чкалов, 1947. - С. 125 - 144.
- А л о в И.А. Очерки физиологии митотического деления клетки. — М.; Медицина, 1964. - 302 с.
- А л ь т ш т е й н А.Д., Ч е р е п а н ц е в а Е.Б. //Жури. Всес. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. - 1986. - Т. 31, № 3. - С. 260 - 365.
- А р у ш а н о в Л.И. Патоморфология желудка и тонкой кишки при пострезекционных синдромах: Дис. ... доктора мед. наук, — М., 1971. — 246 с.
- А ф а н а с ь е в Б.В., А л м а з о в В.А. Родоначальные кроветворные клетки человека. - Л.: Медицина, 1988. - 247 с.
- А ш м а р и н И.Н., М и з л о в а С.Н., С а л я м о н Л.С. //Цитология. — 1972, - Т. 14, № 12. - С. 1538 - 1540.
- А л ь б е р т е Б., Б р е й Д., Л ь ю и с Дж., Р е ф ф М., Р о б е р т с К., У о т с о н Дж. Молекулярная биология клетки. — М.: Мир, 1987. — 204 с.
- Б а л а ж А. Биология опухолей. — М.: Мир, 1987. — 204 с.
- Б а с с а л ы к Л.С. //Рецепторы стероидных гормонов в опухолях человека. - М.: Медицина, 1987. - С. 30 - 55.
- Б а с с а л ы к Л.С., Д я г т я р ь В.Г. //Рецепторы стероидных гормонов в опухолях человека. — М.: Медицина, 1987. — С. 6 — 30.
- Б е л о у с о в а А.К. Молекулярно-биологические подходы к терапии опухолей. М., 1993. - 206 с.
- Б е р р и д ж М. //В мире науки. - 1985. - № 12. - С. 98 - 110,
- Б е р е н б л ю м И. //Биол. основы злокачественного роста. — М.: ИЛ, 1950. — 216 с.
- Б е р е н б л ю м И. //Механизмы канцерогенеза. - М.: ИЛ, 1961. - С. 77-94.
- Биология маркеров рака и беременности /Под ред. В.Б. Винницкого. — Киев: Наук, думка, 1990, - 250 с.
- Б и ш о п Дж. //В мире науки. - 1983. - Ли 1. - С. 64 - 75.
- Б л и н о в М.Н. //Экспер. онкол. - 1990. - Т. 12, Ns 2. - С. 3 - 9.
- Б о х м а н Я.В. Руководство по онкогинекологии. — Л.: Медицина, 1989. — 464 с.
- Б у т е н к о З.А. //Вопр. онкол. - 1983. - № 5. - С. 101 - 109.
- Б у т е н к о З.А. //Стволовые клетки и опухолевый рост. — Киев: Наук, думка, 1985. - С. 5 - 12.
- Б ы к о в с к а я С.Н., Г р у т е н к о Е.В. Т-лимфоциты в противоопухолевом иммунитете. — Новосибирск: Наука, 1982. — 269 с.

- Вайнберг Р.А. //В мире науки. - 1984. - № 1. - С. 21 - 38.
- Вайнберг Р.А. //Перспективы биохим. исследований. — М.: Мир, 1987. — С. 27 - 33.
- Васильев Ю.М. //Журн. Всес. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. - 1986. - Т. 31, № 3. - С. 252 - 260.
- Бахтин Ю.Б., Пинчук В.Г., Швембергер И.Н., Бутенко З.А. Клонально-селекционная концепция опухолевого роста. — Киев: Наук. думка, 1987. - 2У с.
- Вирхов Р. Учение об опухолях. — СПб.: тип. Куколь-Яснопольского, 1866. — Т. 1. - 386 с.
- Владимирская Е.Б., Торубарова Н.А. Острые лейкозы и гипоплазии кроветворения у детей. — М.: Медицина, 1985. — 208 с.
- Влияние внутренней среды организма на возникновение и развитие опухолей //Общая онкология. - М.: Медицина, 1989. - С. 119 - 143.
- Воробьев А.И., Бриллиант М.Д. //Пробл. гематол. — 1974. — № 3. - С. 10.
- Вядро М.М. //Успехи совр. биол. - Т. 95, № 1. - С. 118 - 129.
- Гарин А.М. Факты, достижения и неудачи современной онкологии. — Алма-Ата: Казахстан, 1980. - 170 с.
- Гейльбрун Л.В. Динамика живой протоплазмы. — М.: ИЛ, 1957. — 346 с.
- Геринг В.И. //В мире науки. - 1985. - № 12. - С. 111 - 122.
- Гласе Л., Мэки М. От часов к хаосу. - М.: Мир, 1991. - 248 с.
- Грех И.Ф. //Метастазирование злокачественных опухолей. — Л.: Медицина, 1971. - С. 7 - 135.
- Давыдовский И.В. //Тр. X сессии АМН СССР. - М., 1959. - С. 7-9.
- Данилов И.П., Буглов Е.Д., Горльчик К.И. //Пробл. гематол. и переливания крови. - 1969. - Ме 6. - С. 23 - 27.
- Даннинг В. //Генетика рака. - М.: ИЛ, 1961. - С. 384 - 398.
- Дильман В.М. Старение, климакс и рак. — Л.: Медицина, 1968. — 378 с.
- Дильман В.М. //Физиол. человека. - 1978. - № 4. - С. 579 - 595.
- Дильман В.М. Большие биологические часы. — М.: Знание, 1981. — 207 с.
- Дильман В.М. Эндокринологическая онкология. — Л.: Медицина, 1983. — 407 с.
- Дильман В.М., Пырлина Е.В., Берштейн Л.М., Остроумова М.Н., Раевская С.Ю. //Общая онкология. — Л.: Медицина, 1989. - С. 119 - 143.
- Долл Р., Пито Р. Причины рака. — Киев: Наук. думка, 1984. — 254 с.
- Друк В. М., Земсков В.М., Воробьев А.А. Фагоцитарные клетки и инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) //Успехи современной биологии. — Т. 112, вып. 3. — М., 1992.
- Дыбан А.П. Раннее развитие млекопитающих. — Л.: Наука, 1988. — 228 с.
- Егармин В.Е. //Биофизика. - 1982. - № 4. - С. 694 - 697.
- Ельцина Н.В., Вересотская Н.А. //Тр. V Междунар. биохим. конгр. - Т. 2. - М., 1961. - 340 с.
- Епифанова О.И. Гормоны и размножение клеток. — М.: Наука, 1965. — 243с.
- Заварзин А.А. Основы частной цитологии и сравнительной гистологии многоклеточных животных. — Л.: Наука, 1976. — 410 с.
- Захаров В.Н., Караулов А.В., Соколов В.В., Фраш В.Н. Изменения системы крови при воздействии радиации и бензола. — Новосибирск: Наука, 1990. - 238 с.
- Зильбер Л.А., Абелев Г.И. Вирусология и иммунология рака. — М.: Медгиз, 1962. - 458 с.
- Зотин А.И. //Изв. АН СССР. Сер. биол. - 1991. - № 6. - С. 805-816.
- Зумофф В. //Эндокринная система и рак молочной железы. — М.: Медгиз, 1984. - С. И - 51.

- З у ф а р о в К.А. Актовая речь: Клеточные механизмы приспособительных процессов в желудке и кишечнике. — Ташкент, 1974. — 60 с.
- И б н-С и н а. Канон врачебной науки. - Ташкент: АН Узб. ССР, 1960. - 740 с.
- И в а щ е н к о Ю.Д., Б ы к о р е з А.И. Полипептидные факторы роста и канцерогенез. — Киев: Наук, думка, 1990. — 188 с.
- И с т а м а н о в а Т.С., А л м а з о в В.А., К а н а е в С.В. Функциональная гематология. — Л.: Медицина, 1973. — 331 с.
- К а в е ц к и й Р.Е. //Руководство по патологической физиологии. — Киев: Наук, думка, 1940. - С. 561 - 787.
- К а в е ц к и й Р.Е. Взаимодействие организма и опухоли. — Киев: Наук, думка, 1977. - 235 с.
- К а з ь м и н С.Д. //Эксперим. онкология. - 1991. - Т. 13, № 1. - С. 24-28.
- К а р а л ь н и к Б.В. Эритроциты, их рецепторы и иммунитет //Успехи современной биологии. - Т. 112, вып. 2. - 1992. - С. 52 - 56.
- К а р п е н т е р Г., К о э н С. //Перспективы биохим. исслед. — М.: Мир, 1987. - С. 114 - 120.
- К а у д р и Е. Раковые клетки. — М.: ИЛ, 1958. — 655 с.
- К а ц М.М., Л а в р е ц к а я Э.Ф. //Итоги науки и техники. Биоорг. химия. — Т. 8. - М.: ВИНТИ, 1986. - 196 с.
- К а л ь д е м а Л.А. //Вест. АМН СССР. - 1978. - № 1. - С. 68 - 71.
- К и с е л е в Л.Л. //Журн. Всес. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. — 1986. — Т. 316, № 3. - С. 242 - 250.
- К и с е л е в Ф.Л., П а в л и ш О.А., Т а т о с я н О.Г. Молекулярные основы канцерогенеза у человека. — М.: Медицина, 1990. — 315 с.
- К л и ш о в А.А. //Морфоадаптации мышц в норме и патологии. — Саратов: Мед. ин-т, 1975. - С. 6 - 29.
- К л и ш о в А.А. Гистогенез и регенерация тканей. — М.: Медицина, 1984. — 230 с.
- К р а в ц о в В.Ю., Г у ж о в а И.В., К а л и н с к а я Е.В., И л ь и н е - к и х Н.Н., В а х т и н Ю.В. //Генетика. - 1990. - Т. 26, № 9. - С. 1584 - 1590.
- К р е й т ц и г У., Р и т т е р И., Ш е л л о н г Г. //Гематол. и трансфизиол. - 1991. - Кі 1. - 16с.
- К р о ч е К.М., К л е й н Дж. //В мире науки. - 1985. - № 5. - С. 18 - 26
- К р о т к и н а Н.А., П е т р о в Н.Н. //30 лет деятельности Ин-та онкологии АМН СССР. - Л., 1956. - С. 32 - 36.
- К у з ь м и н а С.В. Малигнизация нормальных клеток в условиях длительного культивирования in vitro. — М.: Наука, 1983. —229 с.
- К у з ь м и н а С.В. //Рецепторы стероидных гормонов в опухолях человека. — М.: Медицина, 1987. - 220 с.
- К у л ь б е р г А.Я. Рецепторы клеточных мембран. — М.: Высшая школа, 1987. - 102 с.
- Л а б а р д С. Рак. - М.: Атомиздат, 1979. - 64 с.
- Л а г у ч е в С.С. Гормональная регуляция пролиферации эпителия матки, влагалища и молочных желез. — М.: Медицина, 1970. — 160 с.
- Л о б к о Г.Н., П о р у б о в а Г.М. Резистентность опухолей. — Минск: Наука и техника, 1989. - 142 с.
- М а л е н к о в А.Г., М о д я н о в а Е.А., Я м с к о в а В.П. //Биофизика. - 1977. № 1. - С. 156 - 157.
- М а р р и Р. Рак, онкогены, факторы роста //Биохимия человека. — М.: Мир, 1993. - С. 352 - 367.
- М а т э Ж. Активная иммунотерапия рака, иммунопрофилактика и иммунореабилитация. — М.: Медицина, 1980. — 424 с.
- М а т э Ж. Досье рака. - М.: Мир, 1983. - 253 с.
- М и л л е р Дж., М и л л е р Э. //Успехи в изучении рака. — М.: ИЛ, 1955. - Т. 1. - С. 7 - 9.

- Михайлов В.П., Катинас Г.С. //Арх. анат., 1977. - Т. 73, № 9. - С. И - 26.
- Муравьева Н.И. //Рецепторы стероидных гормонов в опухоли человека. - М.: Медицина, 1987. - С. 30 - 55.
- Мюррей Э.У., Киршнер М.У. //В мире науки. - 1991, № 5. - С. 24-34.
- Напалков Н.П., Бохман Я.В. //Общая онкология. — Л.: Медицина, 1989. - С. 156 - 168.
- Неифах С.А., Казакова Т.Б., Мельникова М.П., Туровский В.С. //ДАН СССР. - 1961. - Т. 138, № 1. - С. 227 - 230.
- Неифах С.А., Монахов Н.Л. //Вопр. онкологии. - 1967. - Т. 13, № 12. - С. 3.
- Никольский Н.Н., Соркин А.Д., Сорокин А.Б. Эпидермальный фактор роста. — Л.: Наука, 1987. — 200 с.
- Окулов В.Б. //Бюлл. exper. биол. - 1979. - МБ 7. - С. 114 - 116.
- Ольшанский В.О. //Злокачественные опухоли полости рта, глотки и гортани. - М.: Медицина, 1988. - С. 162 - 281.
- Петров Н.Н. Общее учение об опухолях. — СПб., 1910. — 373 с.
- Петров Н.Н. Злокачественные опухоли. — Л.: Медгиз, 1947. — Т. 1, ч. 1. - 480 с.
- Петров Н.Н. //Вопр. онкол. - 1959. - Т. 5, М1 10.
- Предраковые состояния. / Под ред. Р.Л. Картера. — М.: Медицина, 1987. — 429 с.
- Прилуцкий В.И., Романов Ю.А. //Регенерация и клеточное деление. - М.: Наука, 1968. - С. 320 - 327.
- Райт А. Основы иммунологии. — М.: Мир, 1991. — 325 с.
- Редфилд Р.Р., Беркс Д.С. Клиническая картина инфекции вирусом СПИДа //В мире науки.—1988. № 17. - С. 60 - 70.
- Романов Ю.А., Кетлинский С.А., Антохин А.И., Окулов В.Б. Кейлоны и регуляция деления клеток. — М.: Медицина, 1984. — 206 с.
- Самойлов В.И. //Явления индукции и дифференцировки при опухолевом росте. - М., 1981. - С. 106 - 119.
- Самунджан Е.М. Кора надпочечников и опухолевый процесс. — Киев: Наук, думка, 1973. - 202 с.
- Сальямон Л.С. Рак и дисфункция клетки. — Л.: Наука, 1974. — 320 с.
- Саркисов Д.С. Очерки по структурным основам гомеостаза. — М.: Медицина, 1977. - 348 с.
- Сакс Л. //В мире науки. - 1985. - № 3. - С. 14 - 24.
- Сеиц И.О. Взаимодействие дыхания и гликолиза в клетках и сопряженное фосфорилирование. — Л.: Медгиз, 1961.
- Сеиц И.Ф. //Эксперим. онкология. - 1990. - Т. 12, М1 6. - С. 14 - 26.
- Сеиц И.Ф., Князев П.Г. Молекулярная онкология. — Л.: Медицина, 1986. - Мз 3. - С. 14 - 24.
- Сеиц И.Ф., Луганова И.С. Биохимия клеток крови и костного мозга в норме и при лейкозах. — Л.: Медицина, 1967. — 331 с.
- Селье Г. Стресс без дистресса. — М.: Прогресс, 1982. — 127 с.
- Соловьев Ю.М., Трапезников Н.Н., Шингаров Г.Х. //Методол. вопросы изучения онкогенеза. — М.: Медицина, 1988. — С. 3 — 13.
- Стволовые клетки и опухолевый рост. — Киев: Наук, думка, 1985. — 255 с.
- Стосель Т.П. Расстройства фагоцитирующих эффекторных клеток //Механизмы иммунопатологии. — М., 1983. — С. 306 — 325.
- Стрелков Л.А. //Успехи соврем. биол. - 1992. - Т. 112, № 5-6. - С. 725 - 735.
- Тараховский А.М., Винницкий В.Б. //Биология маркеров рака и беременности. — Киев: Наук, думка, 1990. — С. 86 — 118.
- Терци М. Генетика и животная клетка. — М.: Мир, 1977. — 291 с.
- Тринкаус Дж. От клеток к органам. — М.: Мир, 1972. — 285 с.

- Терещенко И.П., Кашулина А.П. Патологические аспекты злокачественного роста. - М.: Медицина, 1983. - 255 с.
- Туркевич Н.М., Самуджан Е.М. Гормоны и канцерогенез. — Киев: Наук, думка, 1975. - 166 с.
- Уоддингтон К.Х. Организаторы и гены. — М.: ИЛ, 1947. — 240 с.
- Урываева И.В. //Клеточная репродукция и процессы дифференциации. - Л.: Наука, 1990. - С. 94 - 110.
- Фейерабенд П. Избранные труды по методологии науки. — М.; Прогресс, 1986. - С. 186 - 202.
- Фель В.Я., Швембергер И.Н. Морфологическое и иммунологическое изучение цитодифференцировки экспериментальных опухолей. — Л.: Наука, 1968. - 192 с.
- Фельдман М., Эйзенбах Л. //В мире науки. — 1989. — № 1. — С. 24 - 32.
- Фишер-Вазельс В. //Вопр. онкол. (Харьков). - 1929. - Т. 2, № 3. - С. 134 - 140.
- Фраш В.Н. //Вопросы гигиены труда и профессиональной патологии в металлургии. - М., 1972. - С. 244 - 257.
- Фролькис В.В. Старение и увеличение продолжительности жизни. — Л.: Наука, 1988. - 237 с.
- Фультон А. Цитоскелет. Архитектура и хореография клеток. — М.: Мир, 1987. - 117 с.
- Хайтов Р.М., Османов С.К. Иммунопатогенез ВИЧ-инфекции и иммунология СПИДа //Иммунология, - 1991. № 2. - С. 4 - 11.
- Хайнс Р.О. //В мире науки. - 1986. - № 8. - С. 14 - 26.
- Хайсман А.Е. Роль морфофункциональных особенностей опухолевых клеток в метастазировании.: Автореф. рж, ... канд. мед. наук. — М., 1980. — 25 с.
- Хакомори С.И. //В мире науки. - 1986. - J\* 7. - С. 12 - 22.
- Хансон К.П. //Радиобиология. - 1979. - № 6. - С. 814 - 820.
- Ходосова И.А. Ферменты опухолевых клеток. — Л.: Наука, 1988. — 176 с.
- Хьюз Р. Гликопротеины. — М.: Мир, 1985. — 140 с.
- Хэзелтойн У.А., Вонг-Стааль Ф. Молекулярная биология вируса СПИДа //В мире науки. - 1988. - № 12. - С. 20 - 30.
- Цитологические аспекты первичного действия химических канцерогенов. / Под ред. В.Я. Феля. - Л.; Наука, 1982. - 174 с.
- Чаклин А.В. Проблема века. - М.: Знание, 1990. - 239 с.
- Черезов А.Е. //Проблемы научного поиска. — М.: ИФАН, 1987. — С. 152 - 167.
- Черезов А.Е. //Экспериментальная онкология. — 1990. — Т. 12, № 6. — С. 69.
- Черезов А.Е. //рж. Онкология. - 1993. - № 9. - с.1.
- Чумак И.М. //Жури, Всес. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева. — 1986. — Т. 31, J\* 3. - С. 265 - 272.
- Шабад Л.М. Очерки экспериментальной онкологии. — Л., 1947.
- Шабалин В.Н., Серова Л.Д. Клиническая иммуногематология. — Л.: Медицина, 1988. - 310 с.
- Шапот В.С. //Вест. АМН СССР. - 1968. - № 3. - С. 11.
- Шапот В.С. Биохимические аспекты опухолевого роста. — М.: Медицина, 1975. - 304 с.
- Шаров В.Г. Ультраструктура функциональных желез желудка после его резекции по поводу язвенной болезни.: Дис. ... канд. мед. наук. Дисс. канд. — М., 1971. - 211 с.
- Швембергер И.Н. Рак и дифференцировка клетки. — Л., 1976. — 168 с.
- Швембергер И.Н. Нормализация опухолевых клеток. — Л.: Наука, 1987. - 141 с.

- Эдельсон Р.Л., Финк Д.М. Иммунологическая функция кожи //В мире науки. - JA 8. - 1965. - С. 16 - 26.
- Энгельгардт В.А., Соков Н.Е. //Биохим. - 1943. - Т. β, N» 1. - С. 9 - 36.
- Эндокринная система и рак молочной железы. — М.: Медицина, 1984. — 312 с.
- Эдельман Дж.М. //В мире науки. - 1984. - № 6. - С. 70 - 84.
- Эдельман Дж.М. //В мире науки. - 1989. - Mb 7. - С. 24 - 34.
- Abelev G.I. (Абелев Г.И.) //Adv. Cancer Res. - 1971. - Vol. 14. - P. 295.
- Adamson R., Banerjee M.R. et al. //J. Nat. Cancer Inst. - 1971. - Vol. 46. - P. 899.
- Aisenberg A.C. The glycolysis an respiration of tumors. — N.Y.: Acad. Press, 1961.
- Allen B.J, Hayward J.L., Merivale W.H.H. //Lancet. - 1957. - Vol. 1. - P. 496.
- Amatruda T.T. et al. //Biochem. et Biophys. Res. Commun. - 1985. - Vol. 126. - P. 1189.
- Aroustam R., Grunbaum L. //Neurosci. Letters. - 1986. - Vol. 47, № 1. - P. 131.
- Attalah A.M., Houck J.C. //Chalones /Ed.: J. Houck. - N.Y., 1976. - P. 355 - 380.
- Auerbach O., Stout A.P., Hammond E.C., Garfinkel L. //New Engl. J. Med. - 1961. - Vol. 265. - P. 253.
- Augusto S.F. //Medicina (Bras.). - 1990. - Vol. 23, Ms 2. - P. 107-123.
- Augusto S.F. //Medicina (Bras.). - 1990. - Vol. 23, JA 2. - P.124-128.
- Bamberger //Handb. der speciellen Pathologie and Therapie. — Erlangen, 1855. - Bd. 6, Abt. 1.
- Barbason H., Fridman-Manduzio A., Betz E.H. //Experientia. - Vol. 32, № 1. - P. 106 - 108.
- Benestad H.B. //Acta Med. Scand. - 1975. - Vol. 196, Mi 2. - P. 255-262.
- Bnestad H.B, Rytömaa T., Kiviniemi K. //Cell Tissue Kinet. - 1973. - Vol. 6. - P. 147 - 154.
- Bertsch S., Marks F. //Cancer Res. - 1974. - Vol. 34, № 12. - P. 3283 - 3288.
- Bishop J.M. //Cell. - 1981. - Vol. 23, № 1. - P. 5 - 6.
- Bjerkness R., Iversen O.H. //Acta Path. Microbiol. Scand. - 1974. - Vol. 248, Suppl. - P. 33 - 48.
- Borrel A. //Ann. Inst. Pasteur. - 1909. - Vol. 177. - P. 81 - 118, 517-556.
- Bosk F. //Zbl. Bakteriol. - 1903. - Bd. 34 (1 Abt., Orig.). - S. 413-420, 666-674.
- Bosze Zc., Venetianer A. //Cancer Res. - 1985. - Vol. 45. - P. 2165 - 2169.
- Bowen-Pope D.F., Seifert R.A. //Cancer Cells /Eds. J. Ferramico, B. Ozanne, C. Stiles. - N.Y.: Cold Spring Harbor, 1985. - Vol. 3. - P. 183-188.
- Boylod E. //Berliner Symposion über Fragen der Karzinogenese. — Berlin, 1960 — S 3
- Bruni C. //J. Nat. Cancer Inst. - 1973. - Vol. 50. - P. 1513.
- Bullough W.S. //Nature (Lond.). - 1963. - Vol. 111. - P. 859 - 862.
- Bullough W.S. //Cancer Res -1965 - Vol. 25, № 10 - P. 1683-1727.
- Bullough W.S. The evolution of differentiation. - L.: Acad. Press.
- Bullough W.S. //Life Sei. - 1975. - Vol. 16. - P. 323 - 330.
- Bullough W.S., Laurence E.B. //Pros. Roy. Soc. London, B. - 1960. - Vol. 151. - P. 517 - 536.

- Bullough W.S., Rytömaa T. //Nature. - 1965. - Vol. 205. - P. 573-578.
- Campisi J. et al. //Cell. - 1984. - Vol 367. - P. 241.
- Carter R.L. //Precancerous state? /Ed P.L. Carter. — Oxford: Univ. Press, 1984. - P. 13 - 16.
- Chance B. //J. Biol. Chem. - 1959. - № 234. - P. 3036.
- Ch'en M.-C., Hu J.-C., Chang P.-Y. et al. //Chinese med. J. - 1965. - Vol. 84. - P. 513.
- Chiao J.W. //Blood Cells. - 1987. - Vol. 13. - P. 111.
- Chiao J.W., Heil M., Arlin Z. //Proc. Nat. Acad. Sei. USA. - 1986. - Vol. 83. - P. 3432.
- Cohnheim I. Vorlesungen über allgemeine Pathologie. — Berlin: Hirschwald, 1877-1880, Bd. 2. - S. 691.
- Correa P., Cuello C., Duque E. //J. Nat. Cancer Inst. - 1970. - Vol. 44. - P. 297.
- Craig R.W. //Bioch. Cancer Res. - 1984. - Vol. 44. - P. 422.
- Crespi M., Munoz N., Grassi A. et al. //Lancet. - 1979. - Vol. 2. - P. 217.
- Damjanov I. //Period. biol. - 1991. - Vol. 93, № 4. - P. 575 - 582.
- Deschner E.E., Lipkin M. //Cancer. - 1975. - Vol. 35. - P. 413.
- Doetschman T.C., Eistetter H., Katz M. et al. //J. Embryol. exp. Morphol. - 1985. - Vol. 87. - P. 27 - 45.
- Duckworth W., Kamel F., Peavy D., Liepnicks J., Ryan M., Frank B., Herinerson M. //J. Biol. Chem. - 1988. - Vol. 263, № 4. - P. 1826.
- Dupsberg P.H., Phares W., Lee W.H. //Virology. - 1983. - Vol. 131 - P. 144 - 158.
- Dyke C., Mulkey D.A. //Cancer. - 1967. - Vol, 20, № 8. - P. 1343 - 1349.
- Elgjo K., Devik F. //Int. J. Radiat. Biol. - 1978. - Vol. 34, Kr 2. - P. 119 - 127.
- Fvans N.J., Kaufman M.H. //Cancer Surveys. - 1983. - Vol. 2, X» 1. - P. 185 - 207.
- Farber E. //Cancer Res. - 1976. - Vol 36, № 8. - P. 2532 - 2533.
- Fidler I.J. //J. Nat. Cancer Inst. - 1970. - Vol. 45. - P. 773 - 782.
- Fidler I.J., Kripke M.L. //Seinee. - 1977. - Vol, 197. - P. 893-895.
- Fidler I.J., Poste G. //Semin. Oncol. - 1985. - Vol. 12, № 3. - P. 207 - 221.
- Fischer B., Saffer E.A., Fischer E.R. //Cancer (Philad.). - 1974. - Vol. 33, № 1. - P. 271 - 279.
- Foulds L. //J. Nat. Cancer Inst. - 1956. - Vol. 17. - P. 713.
- Foulds L. Neoplastic development. - L. - N.Y.: Acad. Press, 1969. - P. 738.
- Foulds L. Neoplastic development. - N.Y: Acad. Press, 1976. - Vol. 2.
- Friend S., Dryja T., Weinberg R. //New Engl. J. Med. - 1988. - Vol. 318. - P. 618 - 622.
- Galenos C. Über die krankhaften Geschwülste. — Leipzig, 1913.
- Gallo-Payet N., Hugon J.S. //Endocrinology. - 1985. - Vol. 116. - P. 194 - 201.
- Garbers D.L. //J. Biol. Chem. - 1989. - Vol. 264, № 16. - P. 9103.
- Ghast L.L., Nassauer J., Faiferman J., Ghash Y.C. //J. Surg. Oncol. - 1981. - Vol. 17, № 4. - P. 395 - 401.
- Gonda T.J., Metcalf //Nature. - 1984. - Vol. 310. - P. 249.
- Gonda T.J., Sheiness D.K., Bishop J.M. //Mol. Cell Biol. - 1982. - Vol. 2. - P. 617 - 624.
- Gordon G.N. //Oncogenes and Mol. Origins Cancer. — N.Y/. Cold Spring Havboi, 1989 - P. 67 - 96.



- Grallarola R. //Cancer, - 1964. - Vol. 17. - P. 1119.
- Hanselmann R., Genton C. Beziehung zwischen Morphologie und Steroidezeptoren beim Mannkarzinom. — Pathologie, 1983.
- Heidelberger C. //Ann. Rev. Biochem. - 1975. - Vol. 44. - P. 79-121.
- Higgins P.J. //Cell Struct. Funct. - 1981. - Vol. 6. - P. 295 - 300.
- Higgins P.J. //Pharmacology. - 1982. - Vol. 25. - P. 170 - 176.
- Higgins P.J., O'Donnell P.V. //Oncology. - 1982. - Vol. 34. - P. 325 - 330.
- Houck J.C. //Nat. Cancer Inst. Monogr. - Vol. 38. - P. 1 - 4.
- Hueper W., Conway W. Chemical carcinogenesis and cancer. — Springfield, 1964.
- Isaacson P., LeVann H.P. //Cancer. - 1976. - Vol. 38. - P. 1348.
- Iversen O.H. //Acta path, microbiol. scand. - 1960. — Suppl., 148. - P. 91 - 96.
- Iwasaki T., Dempo K. //Gann. - 1972. - Vol. 637. - P. 21 - 30.
- Jacob F., Monod J. //J. Molec. Biol. - 1961. - Vol. 3. - P. 318-356.
- Jacob F., Monod J. //Cytodifferentiation and macromolecular synthesis / Ed. M. Locke. - N.Y.: Acad. Press, 1961. - P. 30 - 64.
- Jeney A., Lapis K. //Regulation and control of cell proliferation /Ed. K. Lapis, A. Jeney. - Budapest: Akad. Kiado, 1984. - P. 306 - 316.
- Karpas C.M., Leis H.P., Oppenheim A., Merscheiner W.L. //Ann. Surg., 1965. - Vol. 162, № 1.
- Kazarinoff N.D., Van der Dreische P. //Science. - 1979. - Vol. 203. - P. 1348 - 1349.
- Kellner B. Die Ausbreitung des Krebses. Invasion und Metastasierung. — Budapest: Akad. Kiado, 1971.
- Klein G. //Science. - 1987. - Vol. 238. - P. 1539 - 1545.
- Lajtha L.G., Schofield R. //Differentiation. - 1974. - Vol. 2. - P. 313 - 320.
- Lacassagne A. Etude de la cancerisation par les substances chimiques exogenes. — Paris: Hermann, 1947.
- Livag I. //Acta Path. Microbiol. Scand. - 1968. - Vol. 73. - P. 338.
- Lynen F. //Ztschr. Physiol. Chem. - 1940,- Bd. 264. - S. 146.
- Lynen F., Henning U. et al. //Biochem. Ztschr. - 1958. - Bd. 330, № 4. - S. 269.
- Mackey M.C. //Blood. - 1978. - Vol. 51. - P. 941 - 956.
- Manni A. //New Engl. J. Med. - 1983. - Vol. 309. - P. 1383 - 1385.
- Marker C.L. //Cancer Res. - 1968. - Vol. 28, № 9. - P. 1908 - 1917.
- Massague J. //Trends Biochem. Sei. - 1985. - Vol. 10. - P. 237 - 243.
- Mathe G. Dossier cancer. - P., Stock, 1977.
- Matsuchita H. //Nagoya med. sei. - 1966. - Vol. 28, Ms 3-4. - P. 204-243.
- Messing E., Reznikoff C. //J. Urol. - 1987. - Vol. 137. - P. 111A - 114A.
- Mintz B. //Harvey Lect. - 1978. - Vol. 71. - P. 193 - 246.
- Moeschlin S. //Acta haematol. - 1957. - Bd. 20, Hf. 2. - S. 167 - 168.
- Moller G., Moller E. //Transplant. Rev. - 1976. - Vol. 28. - P. 3-16.
- Moon R.C., Grubbs C.J., Sporn M.B., Goodman D.C. //Nature. - 1977. - Vol. 267. - P. 620 - 621.
- Morley A., King-Smith E.A., Stohlman F. //Haemopoetic cellular proliferation. - N.Y.: Grüne Stratton, 1970. - P. 314.
- Muller C.S. //Accomplishments in cancer research /Ed. J.G. Fortner, J.E. Rhads. - Philadelphia, 1986. - P. 108 - 121.
- Muller R. //Biochim. biophys. Acta. - 1986. - Vol. 823. - P. 207 - 225.
- Murakami H. //Jap. j. nation'shealth. - 1959a. - Vol. 28, № 4. - P. 724 - 731.

- Murphy J.B. // Acta Un. int. Cancer. - 1936. - Vol. 1. - P. 352 - 357.
- Nakagawa T., Nakap Y., Matsui T., Koizumi T., Matsuda S., Maeda S., Fujita T. // Brit. J. Cancer. 1985. - Vol. 51. - P. 357-363.
- Nannery L.B., McKanna J/A., Stoscheck C.M. et al. // J. Invest. Dermatol. - 1984. - Vol. 82. - P. 165 - 169.
- Nomura J., Yamagata Y., Takenaka K., Tachiro H. // Cancer. - 1980. - Vol. 46. - P. 2880 - 2883.
- Oehlert W. // Cell Tissue Kinet. - 1973. - Vol. 6. - P. 325 - 335.
- Ogawa K., Kaneko A., Minase T., Onoe T. // Gann. - 1974a. - Vol. 65, № 2. - P. 109 - 117.
- Ogawa K., Minase T., Onoe T. // Cancer Res. - 1974b. - Vol. 34, № 12. - P. 3379 - 3386.
- Old L.J., Boyse E.A., Clarke D.A., Carswell E.A. // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1962. - Vol. 101. - P. 80 - 106.
- Page D.L., Van de Zwagg R., Rogers L.W. et al. // J. Nat. Cancer Inst. - 1978 - Vol. 61. - P. 1055.
- Paran M., Ichikawa Y., Sachs L. // Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) - 1969. - Vol. 62. - P. 81 - 87.
- Parkin D.M. // Bull. WHO. - 1984. - Vol. 62, № 2. - P. 163 - 182.
- Pedersen B. // Scand. J. Haematol. - 1975. - Vol. 14. - P. 108 - 113.
- Phipps M., Phipps J., Whitfield J.E., Ally A., Somorjai R.L., Narong S.A. // Med. Hypotheses. - 1990. - Vol. 3, № 4. - P. 289 - 301.
- Pierce G.B. // Fed. Proc. - 1970. - Vol. 29. - P. 1248 - 1254.
- Pierce G.B. // Developmental aspects of carcinogenesis and immunity. - N.Y., 1974. - P. 3 - 22.
- Pierce G.B., Speers-Wendell C. // Cancer Res. - 1988. - Vol. 48, № 8. - P. 1996 - 2004.
- Pierce G.B., Wallace C. // Cancer Res. - 1971. - Vol. 31. - P. 127-134
- Poste G., Greig R. // Invasion and Metastasis. - 1982. - Vol. 2. - P. 137 - 176.
- Prehn R.T. // Science. - 1972. - Vol. 176. - P. 170 - 171.
- Prehn R.T. // Transplant. Rev. - 1976. - Vol. 28. - P. 34 - 43.
- Prehn R.T., Lappe M.A. // Transplant. Rev. - 1971. - Vol. 7. - P. 26-59.
- Reitsma P.H. et al. // Nature. - 1983. - Vol. 306. - P. 492.
- Ribbert H. Geschwulstlehre. - Bonn-Leipzig, 1914.
- Robinson W., Kurnik J., Pike B. // Blood. - 1971. - Vol. 38, № 5. - P. 500 - 508.
- Rohrbach R. Zur Steuerung der Zellproliferation durch Chalone. — Stuttgart: G. Fischer, 1975.
- Rohrbach R., Elgjo K., Iversen O.H., Sandritter W. // Beitr. path. Anat. - 1972. - Bd. 147. - S. 21 - 27.
- Rohrbach R., Iversen O.H., Elgjo K., Sandritter W. // Beitr. path. Anat. - 1976. - Bd. 158. - S. 145 - 158.
- Rohrbach R., Iversen O.H., Riede U.N., Sandritter W. // Beitr. path. Anat. - 1977. - Bd. 110. - S. 175 - 186.
- Rohrbach R., Laerum O.D. // Cell Tissue Kinet. - 1974. - Vol. 7. - P. 251 - 257.
- Roomi M.W., Ho R.K., Sarma D.S.R., Farber E. // Cancer Res. - 1985. - Vol. 45. - P.
- Rygaard J., Povlsen C.J. // Transplant. Rev. - 1976. - Vol. 28. - P. 43 - 61.
- Sachs L. // Nature. - 1978. - Vol. 274. - P. 535 - 539.
- Sachs L. // Blood Cells. - 1981. - Vol. 7. - P. 31 - 44.

- Schwartz T.W. //Scand. J. Gastroenterol. - 1979. - Vol. 14, Suppl., № 63. - P. 93 - 100.
- Sheiness D., Gardiner M. //Mol. and Cell Biol. - 1984. - Vol. 4. - P. 1206.
- Sherman B.M., Korenman S.G. //Cancer. - 1974. - Vol. 33. -; P. 1306.
- Siiteri P.K., Schwartz B.E., MacDonald P.C. //Gynecol. Oncol. - 1974. - Vol. 2. - P. 228.
- Skinner J.M., Whitehead R. //Cancer. 1981. - Vol. 47. - P. 1241.
- Smith J.A., Martin L. //Proc. Nat. Acad. Sci. USA. - 1973. - Vol. 70. - P. 1263 - 1267.
- Speman H. //Arch. Entw. Mech. - 1942. - Bd. 141. - S. 693 - 769.
- Spermulli E., Dexter D. //J. Clin. Oncol. - 1983. - Vol. 1. - P. 496 - 509.
- Sporn M.B., Roberts A.B. //J. Clin. Invest. - 1986. - Vol. 78. - P. 329-332.
- Stobo J.D. Inflammation: Basic principles and clinical correlates. — N.Y.: Raven Press, 1988. - 599 p.
- Stutman O. //Adv. Cancer Res. - 1975. - Vol. 22. - P. 261 - 322.
- Stutman O. //Proc 1st Int. Workshop on Nude Mice. - Stuttgart: G. Fischer, 1974. - P. 257.
- Sugimura T., Matsushima T., Kawachi T. et al. //Collect. Pap. Nat. Cancer Cent. Res. Inst. Tokyo. - 1971. - Vol. 3, № 8. - P. 352 - 354.
- Sugio K., Kurata Sh., Sasaki M., Soejima J., Sasazuki T. //Cancer Res. - 1988. - Vol. 48, JA 17. - P. 4855 - 4861.
- Templeton A.C. //Persons at high risk of cancer /Ed. J.F.Fraumeni. — N.Y.: Acad. Press, 1975. - P. 69 - 83.
- Topal M.D. //Carcinogenesis. - 1988. - Vol. 9, № 5. - P. 691 - 696.
- Toptoklis N. //Eur. J. Cancer. - 1969. - Vol. 5. - P. 445 - 457.
- Trump B.F., McDowell E.M., Glavin E. et al. //J. Nat. Cancer Inst. - 1978. - Vol. 61, № 2. - P. 563.
- Volm M., Kinzel V., Mohr U., Suss R. //Experientia (Basel). - 1969. - Vol. 25. - P. 68 - 69.
- Warburg O. Über den Stoffwechsel der Tumoren. - Berlin, 1926.
- Wasilenko W.J., Shawver L.K., Weber M.J. //J. Cell Physiol. - 1987. - Vol. 131. - P. 450 - 457.
- Weiss R. //RNA tumor viruses /Cold Spring Harbor Lab. - N.Y., 1982. - P. 1205 - 1281.
- Weiss P., Kavanau J.L. //J. Gen Physiol. - 1957. - Vol. 41. - P. 1-47.
- Whitehead R., Cosgrove C. //Pathology. - 1979. - Vol. 11. - P. 473.
- WHO. Cancer incidence in developed countries //Weekly Epidemiol Rec, — 1985. - № 17. - P. 125 - 129.
- Winkelhake J.L., Nicolson G.L. //J. Nat. Cancer Inst. (Wash.). - 1976. - Vol. 56, № 2. - P. 285 - 291.
- Wolff J. Die Lehre von der Krebskrankheit von den ältesten Zeiten bis zur Gegenwart. - Bd. 1. - Jena, 1907.
- Yanagi S., Sakamoto M., Ninomiya Y., Kamiya T. //J. Nat. Cancer Inst. - 1984. - Vol. 73, N9 4. - P. 887 - 894.

*Научное издание*

**Черезов Александр Евгеньевич**

**Общая теория рака:  
тканевый подход**

Изд. лиц. № 040414 от 18.04.97.  
Подписано в печать 19.11.97. Формат 60x90/16.  
Бумага офс. № 1. Офсетная печать.  
Усл. печ. л. 16,0. Уч.-изд. л. 15,2  
Тираж 1000 экз. Заказ 4130 .Изд. № 6554.

Ордена "Знак Почета" издательство Московского университета.  
103009, Москва, ул. Б. Никитская, 5/7.

Отпечатано с оригинал-макета заказчика в 12 ЦТ МО.