

THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE
R.E. KAVETSKY INSTITUTE FOR ONCOLOGY PROBLEMS

BIOLOGY OF MARKERS OF CANCER AND PREGNANCY

Edited by Dr. Vladimir B. Vinnitsky
Doctor of Medical Sciences

KIEV, NAUKOVA DUMKA 1990

БИОЛОГИЯ МАРКЕРОВ РАКА И БЕРЕМЕННОСТИ



АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ОНКОЛОГИИ
им. Р. Е. КАВЕЦКОГО

[0310-010-10] 0300-010 010 010

БИОЛОГИЯ МАРКЕРОВ РАКА И БЕРЕМЕННОСТИ

Под редакцией
доктора медицинских наук
В. В. ВИННИЦКОГО

КИЕВ НАУКОВА ДУМКА 1990

В. Б. ВИННИЦКИЙ, М. Д. МОСИЕНКО, Г. В. ГЛИНСКИЙ,
Т. М. СУРГОВА, М. В. СИДОРЕНКО, А. М. ТАРАХОВСКИЙ,
А. Б. ИВАНОВА, Н. С. КАРТАВОВА, Л. А. ПОЛИЩУК

УДК 616—006.4—092.9 : [611—013+618.2]

Биология маркеров рака и беременности / Винницкий В. Б., Мосиенко М. Д., Глинский Г. В. и др.; Под ред. Винницкого В. Б.; АН УССР. Ин-т пробл. онкологии им. Р. Е. Кавецкого.— Киев: Наук. думка, 1990.— 252 с.— ISBN 5-12-001790-8.

В монографии представлены данные о физико-химических свойствах, биохимии и биологии маркерных веществ, их роли в общих для онкогенеза и эмбриогенеза механизмах: имплантации, инвазии, метастазирования, повышенной пролиферативной активности, модификации иммунных и метаболических процессов. Приведены результаты исследований связи экспрессии онкогенов с появлением маркерных веществ, модифицирующего действия поли- и гликоаминов на связывание нейропептидов, гормонов и пептидных факторов роста в плазме крови и роли указанной модификации в формировании гормонально-метаболических изменений, характерных для рака и беременности.

Впервые обобщены данные о биохимии и биологии нового класса гуморальных опухолевых маркеров — гликоаминов. Обоснована важность эволюционного подхода к изучению биологической роли маркерных веществ при злокачественном зародышевом развитии.

Для специалистов в области экспериментальной и клинической онкологии, молекулярной биологии, иммунологии и патофизиологии.

Ил. 24. Табл. 16. Библиогр.: в конце глав.

Утверждено к печати ученым советом
Института проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого АН УССР

Редакция биологической литературы

Редактор *Н. С. Колосов*

Б 4108680000-408
M221(04)-90 185-90

ISBN 5-12-001790-8

© Институт проблем онкологии
им. Р. Е. Кавецкого АН УССР, 1990

Научное издание

Винницкий Владимир Борисович
Мосиенко Маргарита Дмитриевна
Глинский Геннадий Викторович и др.

БИОЛОГИЯ МАРКЕРОВ РАКА
И БЕРЕМЕННОСТИ

Оформление художника *В. А. Дубровского*
Художественный редактор *Р. М. Калыш*
Технический редактор *И. А. Рагнер*
Корректоры *С. А. Доценко, Л. В. Малюта,*
Г. В. Пантелеймонова

ИБ № 11 090

Слано в набор 05.12.89. Подп. к печ. 17.07.90. БФ 01130.
Формат 60x90/16. Бум. тип. М. 1. Лит. гарн. Выс. печ.
Усл. печ. л. 15,75. Стр. кр.-отт. 15,75. Уч.-изд. л. 21,09.
Тираж 1000 экз. Заказ 3244. Цена 4 р. 50 к.

Издательство «Наукова думка».
252001 Киев 4, ул. Реняна, 3.

Отпечатано с матриц Головного предприятия республиканского производственного объединения «Полиграфкига». 252057, Киев, ул. Довженко, 3 в областной типографии. 25400, Львов, ул. Стефаника, 11.

Contents

Preface (V.B. Vinnitsky).....	3
Chapter 1. Oncogenesis and embryogenesis (V.B. Vinnitsky).....	6
1.1. “Embryonic” concepts of tumor development	7
1.2. Some aspects of developmental biology of embryo and cancer (V.B. Vinnitsky, L.A. Polishchuk)	12
1.2.1. Vegetative and sexual phases in live cycle of multicellular organisms	14
1.3. Oncogerminative hypothesis of tumor development	19
1.4. On nature of host immune tolerance to malignant tumor	34
1.5. Conclusion	41
1.6. References	46
Chapter 2. Classification, biochemical and biological characteristic of tumor and embryonic markers (T.M. Surgova and M.V. Sidorenko)	51
2.1. Morphological features of placentation	53
2.2. Localization of makers of pregnancy in different placental parts	55
2.3. Classification of pregnancy proteins	57
2.4. Characteristic of markers common for pregnancy and cancer	58
2.4.1. Trophoblastic beta 1-glycoprotein (TBG)	58
2.4.2. Placental protein 5 (PP-5)	59
2.4.3. Placental protein PP-10, PP-11, and PP-12	60
2.4.4. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)	62
2.4.5. Protein factor of fertility (PFF)	63
2.4.6. Oncomodulin	64
2.4.7. Human chorionic gonadotropin (HCG)	65
2.4.8. Human placental lactogen (HPL) or somatomammotropin	67
2.4.9. Alpha-fetoprotein (AFP)	67
2.4.10. Carcinoembryonic antigen (CEA)	68
2.4.11. Pregnancy-associated alpha 2-glycoprotein (alpha 2-PAG)	69
2.4.12. Placental alkaline phosphatase (PAP)	71
2.4.13. Leucine aminopeptidase (LAP)	72
2.4.14. Diamine oxidase (DAO)	73
2.4.15. Polyamines (PA)	73
2.4.16. Alpha 2-macroglobulin (alpha 2-M)	75
2.5. Conclusion	76
2.6. References	79
Chapter 3. Nuclear and membrane-bound oncoproteins – receptors to hormones and growth factors (A.M. Tarakhovsky and V.B. Vinnitsky)	86
3.1. General principles of participation of proto-oncogenes in natural vital function of cells	86
3.2. Nuclear proteins – steroid hormone receptors	91
3.3. <i>Erb A</i> oncogene family and thyroid hormone receptors	94
3.4. Steroid hormones and proto-oncogenes expression	97
3.5. Oncogenes and growth factors receptors	100
3.5.1. Epidermal growth factor receptor	101
3.6. Proto-oncogene c-erbB-2/neu	107
3.7. Conclusion	112
3.8. References	113

Chapter 4. Hormone production by malignant tumors and by fetoplacental tissues (V.B. Vinnitsky and A.B. Ivanova)	118
4.1. Hormone production by tumors	118
4.1.1. Classification of hormone-secreting tumors	119
4.1.2. Clinical and experimental criteria for ectopic tumor hormone production.....	125
4.2. Growth factors production by malignant tumors and placenta	126
4.3. Conclusion	130
4.4 References	132
Chapter 5. Glycoamines. Biochemistry and biology of novel class of tumor markers (G.V. Glinsky)	137
5.1. Alteration of peptide-protein binding in blood plasma facilitate autonomic proliferation of tumor cells	138
5.1.1. Alteration of binding of positive and negative growth factors in blood plasma during malignant tumor development	139
5.1.2. Extracellular polyamines and tumor-associated peptides modify binding of the growth factors by blood plasma proteins	145
5.1.3. The importance of tumor-associated alteration of peptide-protein binding in blood plasma for multilevel activation of regulatory host mechanisms	147
5.2. Host growth factors are involved in <i>in vivo</i> tumor growth regulation	156
5.3. Possible molecular mechanism of malignant tumor behavior <i>in vivo</i>	159
5.4. Peptide-protein binding in blood plasma as a regulatory mechanism for peptide passage through the blood-brain barrier (BBB)	163
5.4.1. Inverse dependence of neuropeptides ability to pass through BBB from the grade of its binding in blood plasma	164
5.4.2. Alteration of heuropeptides permeability through BBB corresponds to alteration of neuropeptide binding in blood plasma in tumor-bearing mice	166
5.4.3. Poliamine-dependent alteration of neuropeptide binding in blood plasma in tumor-bearing mice	167
5.4.4. Regulatory mechanisms of neuropeptides BBB passage in normal and pathologic conditions	168
5.5. Decoding of biochemical structure of tumor-associated peptides (TAP). Biochemical and biological characteristics of glycoamines	170
5.5.1. Clinical data	170
5.5.2. Biochemical structure of TAP. Determination of the glycoamines (amino conjugates)	172
5.5.3. Biochemistry of glycoamines	178
5.5.4. Biology of glycoamines	181
5.6. Conclusion	183
5.7. References	184
Chapter 6. Hormonal status and breast tissue hormone-sensitivity during pregnancy and breast cancer: similarity and difference (N.S. Kartavova)	189
6.1. References	211
Chapter 7. Pregnancy hormones as tumor markers; its role in host immunity during pregnancy and cancer (M.D. Mosienko)	216
7.1. Some mechanisms of maternal immune tolerance to semiallogeneic fetus	216
7.2. Human chorionic gonadotropin (hCG) – pregnancy specific hormone. It role in modification of host immunity	219
7.3. Human chorionic gonadotropin during tumor development	223

7.4. Influence of HCG as well as antibodies against hCG on tumor development and metastases	230
7.5. Antifertility activity of antiserum against hCG, α hCG, and β hCG in mice	237
7.6. Trophoblastic β -globulin during pregnancy and cancer development	238
7.7. Human placental lactogen during pregnancy and cancer	242
7.8. Conclusion	243
7.9. References	244

The Book Summary

In this book the Oncogerminative Theory of Cancer Development is presented. The Theory for the first time gives a comprehensive explanation of true nature of Cancer by applying the laws of developmental biology to the phenomenon of cancer development. The Theory explains the essence of malignant transformation of a normal somatic cell into a oncogerminative (or stem malignant) cell; nature and in vivo mechanism of stem malignant cell immortality; reason and mechanism of tumor development by stem malignant cell; reason and mechanism of heterogeneity of tumor cell population; biological nature of malignant tumor; reason and biological nature of metastasis; biological nature of true metastatic cell; reason and mechanism of metastatic tumor development; reason and mechanism of tumor progression; reason and nature of host immune tolerance to stem malignant cell; understanding of the strategies how to fight and eradicate Cancer.

The Theory brings new comprehensive explanation of core sequent events of cancer development. The crucial genetic event leading to malignant transformation of a somatic cell consists in switching over of its “somatic cell’s genetic program” to the “germline cell’s genetic program”. During malignant transformation of the somatic cell nothing happens with it except its “germinalization”. Therefore we named a stem malignant cell “oncogerminative cell”. An oncogerminative cell acquires basic phenotypic properties of an immortal germline cell: the ability to realize in vivo its potential immortality by accomplishing its life cycle. An oncogerminative cell re-uses a life-cycle mechanism of potential immortality of germline cell along with its fundamental behavior and structures. For the first time described the life cycle of an oncogerminative cell when developing tumor, which mimics the life cycle of a germline cell when developing embryo. The sequence of the events on malignant tumor development are: (the first stage) parthenogenetic multiplication of oncogerminative cells that mimics cleavage-stage embryodevelopment; (the second stage) aggregation of oncogerminative cells and formation of tumor germ that mimics morula-stage embryo development; (the third stage) developing of a tumor spheroid consisting of oncogerminative, oncotrophoblastic cells, and non-malignant oncosomatic cells, which mimics avascular blastocyst-stage embryo development; (the fourth stage) vascularization of the tumor spheroid and its further growth as a vascularized tumor that mimics implanted blastocyst-stage embryodevelopment;(the fifth stage) disaggregation of oncogerminative cells, which is manifested in their spread within a host body and developing of metastatic tumors, which mimics primordial germ cells migration. A malignant tumor is a mimic blastocyst-stage embryo with heterogeneous cell composition which arises from an immortal oncogerminative cell during its passage through its life cycle.

The Theory introduces following formula: “The oncogenesis follows ontogenesis that is blocked at the stage of mimic blastocyst – tumor spheroid”.

The Theory introduces a tangible content into the classic concept “the oncogenesis is a blocked ontogenesis”: during oncogenesis the ontogenesis is blocked at the stage of mimic blastocyst - tumor spheroid.

The Theory states that the progressive decreasing of the fraction of the most differentiated non-malignant oncosomatic cells in metastatic tumors is the essence of the phenomena of tumor

progression .Due to clonal selection “vehicle” metastatic tumors consists in different ratio of the oncogerminative, oncotrophoblastic and oncosomatic cells.

The Theory introduces a new concept the “phylogenetic immune tolerance” for the explanation of nature of host immune tolerance to the embryonic antigens shared by early embryo and cancer. Mammals possess a basic evolutionary conservative mechanism that underlies immune tolerance of adult host to the antigens of early embryo which we named “phylogenetic immune tolerance”. The essence of “phylogenetic immune tolerance” of host to early embryo is absence of the immune response to embryonic antigens due to absence in host of the appropriate clones of the immunocompetent lymphocytes.

Embryo and Cancer share similar defense mechanisms that protect them against host-versus-graft immune response. In case of embryo such mechanisms are transient and are restricted by the term of pregnancy. Unlike of embryo cancer is protected by such mechanisms permanently.

The Theory considers phenomenon of cancer development as a discovered new phenomenon of developmental biology: “desperate asexual self-cloning event”. From the standpoint of developmental biology to have a cancer is the same as be pregnant with a “bad embryo”.

In order to fight cancer the host should “born” tumor forcibly. Ideally that means the removal of “critical mass” of tumor cells combined with the switching over of the host program of preserving of “alien” (cancer) in own body to the program of rejecting of “alien” (cancer cells) by own body.

The Oncogerminative Theory introduces novel research strategy to understand and fight or eradicate Cancer.

The book introduces the data about biochemistry and biology of common markers of embryo and cancer, and its role in common events of embryo development and cancer development such as implantation, invasion, cell migration, and host immune tolerance. Classification, biochemical and biological characteristics of common tumor and embryonic markers are presented. Authors introduce new classification of malignant tumors that ectopically produced hormones and growth factors, which are commonly produced by fetoplacental tissues, discuss clinical and experimental criteria for ectopic tumor hormone production; presenting original data about biochemistry and biology of glycoamines that pretending to be a novel class of tumor markers. Presented wide spectrum of original data proved that antibodies against hCG, α hCG, β hCG as well as against some fetoplacental tissues help to overcome host immune tolerance, which result in suppression of primary and metastatic tumors of different grade of efficacy.

The book is essential reading for every student and teacher of a cancer biology course to get new understanding of the biology of cancer, for scientists in both the academic and private sectors working in cancer research and focused on development of targeted cancer therapeutics. It is also a very welcome book for government institutions that develop and finance the strategic scientific research programs aimed at cancer prevention and cancer eradication.

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ОНКОЛОГИИ
им. Р.Е. КАВЕЦКОГО

БИОЛОГИЯ МАРКЕРОВ РАКА И БЕРЕМЕННОСТИ

Под редакцией
доктора медицинских наук
В.Б. ВИННИЦКОГО

(В.Б. Винницкий, М.Д. Мосиенко, Т.М. Сургова, М.В. Сидоренко,
А.М. Тараховский, А.Б. Иванова, Н.С. Картавова, Л.А. Полищук)

КИЕВ НАУКОВА ДУМКА 1990

ISBN 5-12-001790-8

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие.....	5
Г л а в а 1. Онкогенез и эмбриогенез.....	8
1.1. «Эмбриональные» концепции опухолевого роста	9
1.2. Некоторые аспекты биологии развития тканей эмбриона и опухоли.....	14
1.2.1. Вегетативная и половая фазы в жизненном цикле многоклеточных организмов.....	16
1.3. Онкогерминативная гипотеза опухолевого роста.....	22
1.4. О природе толерантности организма к опухоли.....	37
1.5. Заключение.....	45
1.6. Список литературы.....	51
Г л а в а 2. Классификация, биохимическая и биологическая характеристика опухолевых и эмбриональных маркеров.....	57
2.1. Морфологические особенности процесса плацентации.....	60
2.2. Локализация маркеров беременности по разделам плаценты	63
2.3. Классификация белков беременности.....	66
2.4. Характеристика маркеров, общих для развития беременности и рака.66	
2.4.1. Трофобластический бета-1-гликопротеин (ТБГ).....	66
2.4.2. Плацентарный белок 5 (PP-5).....	68
2.4.3. Плацентарные белки (PP-10, PP-11, PP-12).....	69
2.4.4. Ассоциированный с беременностью белок плазмы А (РАРР-А). 71	
2.4.5. Белковый фактор фкртильности (БФФ).....	72
2.4.6. Онкомодулин.....	73
2.4.7. Хорионический гонадотропин (ХГ).....	74
2.4.8. Плацентарный лактоген (ПЛ), или соматомаммотропин.....	76
2.4.9. Альфа-фетопротеин (АФП).....	77
2.4.10. Раковоэмбриональный антиген (РЭА)	78
2.4.11. Ассоциированный с беременностью α_2 -гликопротеин(АБГ)... 79	
2.4.12. Плацентарная щелочная фосфатаза (ПЩФ)	80
2.4.13. Лейцинаминопептидаза (ЛАП).....	81
2.4.14. Диаминооксидаза (ДАО)	82
2.4.15. Полиамины (ПА).....	83
2.4.16. α_2 -Макроглобулин (α_2 -М).....	84
2.5. Заключение.....	86
2.6. Список литературы.....	88

Г л а в а 3. Ядерные и мембранно-связанные онкобелки-рецепторы гормонов и факторов роста..... 99

3.1. Общие принципы участия протоонкогенов в процессах нормальной и клеточной жизнедеятельности.....	99
3.2. Ядерные белки – рецепторы стероидных гормонов.....	104
3.2.1. Первичная структура рецепторов стероидных гормонов.....	104
3.3. Онкогены семейства <i>erb A</i> и рецепторы тиреоидных гормонов.....	107
3.4. Стероидные гормоны и экспрессия протоонкогенов.....	110
3.5. Онкогены и рецепторы факторов роста.....	114
3.5.1. Рецептор эпидермального фактора роста.....	114
3.6. Протоонкоген <i>c-erb B-2/neu</i>	120
3.7. Заключение.....	126
3.8. Список литературы.....	127

Г л а в а 4. Секреция гормонов злокачественными опухолями и клетками фетоплацентарной системы..... 133

4.1. Секреция гормонов опухолями.....	133
4.1.1. Классификация гормонсекретирующих опухолей.....	134
4.1.2. Клинические и экспериментальные критерии секреции гормонов опухолями.....	140
4.2. Секреция ростовых факторов опухолями и плацентой.....	141
4.3. Заключение.....	146
4.4. Список литературы.....	148

Г л а в а 6. Гормональный статус и гормоночувствительность тканей при беременности и опухолевом процессе: сходство и различия..... 155

6.1. Заключение	176
6.2. Список литературы.....	178

Г л а в а 7. Гормоны беременности как маркеры опухолей, их роль в формировании иммунного статуса при опухолевом процессе и беременности..... 185

7.1. Некоторые механизмы, обеспечивающие физиологическое развитие наполовину чужеродного для организма матери плода.....	185
7.2. Хорионический гонадотропин – специфический гормон беременности. Влияние на интактный организм и систему иммунитета.....	188
7.3. Хорионический гонадотропин при злокачественном росте.....	192
7.4. Влияние ХГ и антител к ХГ на рост и метастазирование некоторых	

экспериментальных опухолей.....	199
7.5. Использование антисывороток к маркерам беременности и рака для получения антифертильного эффекта.....	209
7.6. Трофобластический β -глобулин при беременности и злокачественном росте.....	210
7.7. Плацентарный лактоген человека при беременности и злокачественном росте.....	213
7.8. Заключение	214
7.9. Список литературы.....	216

ПРЕДИСЛОВИЕ

Становление онкологии как науки связано с исследованиями фенотипических и биохимических особенностей клеток злокачественных опухолей, отличающих их от клеток нормальных тканей. Фенотипические особенности поведения злокачественных клеток – способность к неограниченному росту, инвазии, метастазированию – регистрировались сравнительно легко. Значительно сложнее решалась проблема качественных биохимических отличий опухолевой клетки от нормальной. Примечательно, что начало таких исследований было весьма обнадеживающим. В 80-х годах прошлого века в моче больных множественной миеломой были обнаружены специфические белки (иммуноглобулины), получившие название белков Бенс-Джонса. Однако следующего успеха пришлось ждать более 80 лет. Он связан с открытием Г.И. Абелевым и Ю.С. Татариновым α -фетопротейна в крови больных гепатомой, положившим начало новому этапу в исследовании факторов, ассоциированных с ростом злокачественных опухолей.

Успехи молекулярной биологии и генетики, иммунологии, вирусологии обусловили смещение приоритетов в онкологических исследованиях на выявление факторов, детерминирующих злокачественную трансформацию клетки, а также факторов отличающих злокачественную клетку от нормальной. Открытие онкогенов, онкобелков, ростовых факторов стало основой для новейших концепций опухолевого роста и обусловило новую эру в теоретической онкологии. Одним из признаков этой новой эры было создание новых терминов, нового языка науки онкологии. Появился термин «маркеры опухоли», который объединяет большую группу факторов, обнаруживаемых в злокачественных клетках и ассоциированных со злокачественным ростом: эмбриональные антигены (α -фетопротейн, раково-эмбриональный антиген, онкофетальные трансплантационные антигены и др.), дифференцировочные антигены, продукты онкогенов, белки зоны беременности, гормоны, тРНК, энзимы и изоэнзимы, фибронектин, ростовые и трансформирующие факторы, полиамины, гликопротеины, гликолипиды, пектины, иммунные комплексы и многие другие. Количество данных, получаемых в разных лабораториях мира, об обнаружении факторов, ассоциированных с опухолевым ростом, стремительно увеличивается, что обуславливает необходимость координации исследований в этой области на международном уровне. Эту задачу выполняет созданная 7 лет назад Международная академия маркеров опухолей, под эгидой которой ежегодно проводятся международные конференции «Маркеры опухолей человека, их использование в диагностике и лечении рака». Последняя, шестая конференция состоялась в мае 1989 г. в Токио.

В современной онкологии определились два основных направления в исследовании маркеров опухолей: прикладное, заключающееся в использовании

маркеров для диагностики опухолей, мониторинга эффективности лечения онкологических больных, создания новых способов лечения на основе использования моноклональных антител к опухолевым маркерам, и изучение роли маркеров в формировании и проявлении клетками злокачественных свойств.

В предлагаемой читателям монографии впервые в отечественной литературе проанализирована роль маркеров, общих для злокачественных и эмбриональных клеток, в формировании общих биологических свойств этих клеток и развитии схожих изменений эндокринного и иммунного статусов, наблюдаемых в организме при раке и беременности. В ней обобщен и проанализирован большой фактический материал, полученный к настоящему времени специалистами, работающими в разных областях экспериментальной и клинической онкологии. Наряду с авторской интерпретацией данных литературы в монографии представлен ряд принципиально новых сведений, являющихся результатом собственных теоретических и экспериментальных исследований авторов.

Одним из центральных при исследовании маркеров опухолей является вопрос об их специфичности для злокачественных клеток. Современный уровень наших знаний позволяет констатировать, что практически все известные маркеры рака обнаруживаются в эмбриональных тканях на определенных стадиях развития эмбриона. Закономерность обнаружения известных и новых маркеров злокачественных опухолей в фетальных тканях оказывает большое влияние на разработку новых концепций биологии опухолевого роста.

Прогресс в изучении биологии злокачественной клетки неразрывно связан с успехами в решении актуальных проблем биологии развития. Сходство в поведении эмбриональных и злокачественных клеток отмечено около 100 лет назад учеником Вирхова Конгеймом. Принято считать, что он первым предложил теорию онкогенеза, базирующуюся на постулатах биологии развития. Согласно этой теории злокачественные опухоли развиваются из эмбриональных клеток или тканей, не использованных при эмбриогенезе. В то время теория Конгейма не получила экспериментального подтверждения и впоследствии стала если не забытой, то во всяком случае не популярной. Однако мощный теоретический потенциал взглядов Конгейма на природу злокачественных опухолей был недооценен. Это подтвердил дальнейший ход развития онкологии.

Многочисленные доказательства наличия в злокачественных и эмбриональных клетках общих маркеров стимулировали теоретические изыскания для объяснения некоторых эмбриональных свойств опухолевых клеток. Это проявилось в становлении нового этапа изучения биологических свойств опухолей как объекта биологии развития.

В последнее время наблюдается пристальный интерес к ревизии старых «эмбриональных» теорий рака и созданию новых концепций на основе данных современной молекулярной онкологии. Этот процесс в ходе развития

теоретической онкологии закономерен и объясняется тем, что проблема рака – это прежде всего проблема биологии развития. По нашему мнению, в настоящее время теоретическая разработка проблемы канцерогенеза, несомненно, продвинулась, накоплен интереснейший экспериментальный материал, однако особых новаций в представлении о биологии злокачественных клеток по сравнению с представлениями Конгейма не возникло.

Проблема общности маркеров рака и беременности в формировании общих биологических свойств злокачественных и эмбриональных клеток, а также схожих гормонально-метаболических и иммунных перестройках в организме достаточно нова и в настоящее время не разработана. Однако интерес к этой проблеме, стремительно возрастающий как у нас в стране, так и за рубежом, свидетельствует о важности сравнительного изучения биологической роли маркерных веществ при злокачественном росте и эмбриогенезе, поскольку последний является наиболее адекватной моделью для изучения физиологических механизмов, обеспечивающих, с одной стороны, внутриутробное развитие чужеродных для организма матери тканей плода, а с другой – компенсацию гормонально-метаболических перестроек в организме, характерных для беременности, контроль за пролиферативными потенциями фетальных тканей и элиминацию трофобластических клеток из организма матери в послеродовой период.

Возможно, ряд сведений, полученных в самое последнее время в этой быстро развивающейся области исследований, не были учтены авторами. В дальнейшем это послужит стимулом как для авторов, так и для других исследователей в работе по изучению роли общих маркеров рака и беременности в реализации фенотипических свойств злокачественной и эмбриональной клеток (их способности к имплантации, инвазивному росту, метастазированию, аутокринной секреции гормонов и ростовых факторов), модификации нейроэндокринного, иммунного и метаболического статусов организма при опухолевом росте и беременности и созданию на этой основе принципиально новых способов противоопухолевых воздействий.

Глава 1

ОНКОГЕНЕЗ И ЭМБРИОГЕНЕЗ

История развития теоретических взглядов на природу злокачественных опухолей тесно связана с развитием биологических наук, достижения которых могли быть использованы для объяснения феномена неопластического роста. В начале XIX в., когда основными инструментами исследователей биологов и врачей были острый аналитический ум и примитивная техника, появились первые догадки, которые впоследствии оформились как концепции и даже теории о сходстве биологических основ развития злокачественных опухолей и эмбриональных тканей. Сегодня, по прошествии более 150 лет, можно утверждать, что «эмбриональные» концепции опухолевого роста выдержали проверку временем и не только не исчезли в лавине новых и новейших фактов о биохимических, биофизических, молекулярно-биологических, цитогенетических, ультраструктурных, иммунологических и других особенностях злокачественных клеток, но, успешно ассимилировав эти многочисленные факты, обрели более убедительное звучание.

Развитие науки происходит, как известно, по законам маятника и спирали. Колебания маятника попеременно от изучения отдельных фактов – детализации – к осмыслению явления – интеграции – обеспечивают развитие по спирали наших представлений о естественных явлениях. При попытке осмыслить исторический путь развития теоретической онкологии ощущается ритмичность колебаний маятника с явной акцентировкой на детализации. Сегодня мы располагаем уникальными данными об ультраструктуре, биохимических свойствах злокачественной клетки и ее компонентов, функциональном состоянии ее генома, спектре характерных маркеров (антигенов, ферментов, гормонов, факторов роста и др), рецепторном аппарате, биологических свойствах ее поведения и о многом другом. Эти данные легли в основу блестящих теорий, объясняющих механизмы превращения нормальной клетки в злокачественную. Однако злокачественная клетка – это еще не злокачественная опухоль. Представления о механизме малигнизации клеток автоматически не объясняют биологические законы развития в организме злокачественной опухоли.

Примечателен факт: попытки интеграции данных о свойствах злокачественной клетки с целью объяснения феномена роста опухоли в организме на всех этапах развития онкологии, начиная с XIX в. и кончая новейшими работами, сводились к признанию определенного сходства между ростом опухоли и развитием эмбриона на ранних стадиях. С одной стороны, это свидетельствует о правильности основных постулатов «эмбриональных» концепций опухолевого роста, а с другой – ощущается явная качественная диспропорция между этими концепциями и совершенными, по современным критериям теориями, объясняющими механизмы злокачественной трансформации клетки.

Несмотря на привлекательность «эмбриональных» концепций, в том числе и современных, они не обеспечивают качественный прорыв в наших знаниях о природе опухолевого роста. Представления, согласно которым в клетке при ее малигнизации ничего, кроме эмбрионализации, не происходит и что в связи с этим опухоль развивается по законам эмбриогенеза подобно эмбриону, с оговоркой, что это развитие атипичного эмбриона происходит в атипичном месте, по нашему мнению, в целом верны, однако недостаточны для понимания биологической природы феномена злокачественного роста.

В настоящей главе будут рассмотрены основные положения «эмбриональных» концепций опухолевого роста и предпринята попытка сформулировать собственную гипотезу онкогенеза, базирующуюся на законах биологии развития. Полагаем, что предлагаемая гипотеза послужит теоретической основой для рассмотрения роли маркеров в формировании общих свойств злокачественных и зародышевых клеток.

1.1. «Эмбриональные» концепции опухолевого роста

В работе «Загадка рака», опубликованной в 1946 г., Oberling [1] упоминает, что еще в 1829 г. два французских исследователя – Lobstein и Resamier – высказали предположение, согласно которому злокачественные опухоли развиваются из пролиферирующих эмбриональных клеток, всегда присутствующих во взрослом организме. Это предположение явилось, по-видимому, первой рациональной гипотезой происхождения опухолей и получило горячую поддержку врачей и биологов в XIX в. Многие исследователи – Miiller, Paget, Remak, Durante, Cohnheim и др. [1] – приняли и развили эту гипотезу, что способствовало получению огромного количества экспериментальных и клинических фактов, которые в свою очередь расширили существующие взгляды на природу опухолей.

Основоположником «теории эмбриональных зачатков» является Cohnheim [2]. Центральное место в его теории занимает положение, что в раннем периоде эмбрионального развития производится больше клеток, чем нужно для построения данного органа или ткани, поэтому определенное количество эмбриональных клеток остается неиспользованным. Масса таких клеток может быть весьма незначительной, но благодаря эмбриональным свойствам эти клетки обладают выраженной способностью к размножению. В последующие годы в качестве подтверждения справедливости указанной теории публиковались внушительные перечни случаев обнаружения «отклонившихся» эмбриональных клеток в коже и внутренних тканях организма [3]. Однако в то время не были популярны экспериментальные доказательства превращения «отклонившихся» клеток в злокачественные. Развивая свою теорию, Cohnheim указывал, что новорожденный появляется на свет не с готовой опухолью, а лишь с избытком клеточного материала, из

которого при определенных условиях может развиваться опухоль. К таким условиям автор относил травму, хроническое раздражение и другие внешние факторы. Эти взгляды расширил Ribbert [3], объединив «теорию хронического раздражения» Virchow с «теорией эмбриональных зачатков» Cohnheim. Дальнейшее развитие теория Cohnheim получила в работах исследователей, считавших, что причиной злокачественной трансформации соматической клетки является ее оплодотворение.

Допущение, что в основе способности злокачественных клеток и безграничному размножению, морфологически выражающемуся в образовании опухолевого зачатка и росте опухоли, лежат какие-то механизмы, аналогичные механизмам, определяющим образование зародыша из оплодотворенной яйцеклетки, представлялось логичным и качественно новым. Р.Е. Кавецкий [4] в очерке истории развития учения об этиологии и патогенезе злокачественных опухолей приводит взгляды, высказанные в конце XIX в. Simon, Schleich, Recklinghausen и другими исследователями, согласно которым соматические клетки под влиянием раздражения могут выделять какое-то оплодотворяющее вещество и передавать его соседним клеткам. Klebs одним из первых высказал предположение, что оплодотворение происходит путем слияния, гибридизации соматических клеток. Он полагал, что раковая клетка есть продукт слияния эпителиальной клетки с лейкоцитами.

Успехи в изучении биологии развития позволили сделать следующий шаг в разработке «эмбриональной» теории рака – предположить, что опухоли возникают из герминативных клеток, не прошедших весь миграционный путь от желточного мешка до гонад эмбриона и, таким образом, оставшихся не использованными в тканях зрелого организма. По-видимому, первым такой взгляд на природу опухолей высказал зоолог и эмбриолог из Эдинбурга Beard [5], который в 1907 г. предложил трофобластическую теорию рака. Согласно Beard, 10–30 % герминативных клеток не достигает гонад и рассеивается в тканях организма, оседая в экстрагонадных местах, где впоследствии размножения таких клеток может проявиться развитием тератом и злокачественных опухолей.

Новизна взглядов Beard на природу опухолей заключается в том, что он отводит роль единственного источника опухолевого роста эктопически расположенным в тканях зрелого организма герминативным клеткам, естественная функция которых после оплодотворения заключается в формировании тканей зародыша. В первой половине XX в. эти взгляды получили широкую поддержку специалистов в области биологии развития. Согласно Witshi [6], во время миграционного периода амебоподобные герминативные клетки интенсивно делятся и к моменту окончания миграции их количество достигает более 5000. Некоторое количество отклонившихся герминативных клеток дегенерирует или подвергается инволюции. Отклонившиеся герминативные клетки не выполняют обычно никаких функций, но некоторые из них активизируются и дают начало развитию

тератом, тератокарцином и некоторых других злокачественных опухолей [7].

Наиболее демонстративны в этом отношении тератомы, которые могут образовываться как в гонадах, так и в экстрагонадных участках. Теория возникновения тератом и хорионэпителиом из половых клеток путем партеногенеза была высказана Реугоп [8] в 1922 г. По его мнению, партеногенетическому делению подвергаются гонобласты, сохранившиеся с эмбрионального периода. Были получены подтверждения партеногенеза (для мужских половых органов – андрогенеза, или эфебогенеза) при изучении опухолей яичка [9]. Однако остался нерешенным вопрос о времени появления и локализации этих половых клеток. Gutrie [10] считает источником развития тератомы мультипотенциальные клетки разделившегося яйца, которые дают линию клеток трофобласта и линию соматических клеток. В.М. Бреслер [11] полагает, что бластомогенез в яичке начинается с патологического дробления сперматогоний и образования клеток трех зародышевых листков и трофобласта. По его мнению, только трофобласт обладает свойствами инвазивного роста и метастазирования. К.П. Ганина [12] приводит многочисленные описания опухолей яичка: хорионэпителиом, преимущественно из клеток Лангганса, злокачественных тератом различной степени зрелости, которые исходят из незрелых половых клеток и претерпевают трансформацию через стадию малодифференцированной ткани в гоноцитому, эмбрионоподобные тельца, трофобластические структуры, хорионэпителиому, различные тканевые зачатки и образования. Последние могут подвергаться созреванию вплоть до формирования органотипических структур. Морфологические исследования, проведенные К.П. Ганиной на огромном судебно-медицинском и хирургическом материале, не позволили ей обнаружить гипотетические эмбриональные зачатки в яичках. Автор приходит к выводу, что изменения структуры яичка первичны, а возникновение опухоли – вторично.

Таким образом, роль герминативных клеток как источника развития тератом и тератокарцином была доказана. Однако эти доказательства лишь частично подтверждали правоту теории Beard, отводившего герминативным клеткам, не прошедшим миграционный путь, роль универсального источника развития опухолей. С одной стороны, в экстрагонадных тканях организма не удалось достоверно доказать наличие герминативных клеток, с другой – огромное разнообразие гистологических типов опухолей делало весьма сомнительным допущение, что все они развились из герминативных клеток. И все же рациональное зерно, содержащееся в трофобластической теории рака, предложенной Beard, заставило вернуться к ее анализу спустя более чем 70 лет.

Такой анализ был проведен Gurchot [13] в статье «Трофобластическая теория рака (John Beard, 1857–1924) снова возвратилась». Автор восстанавливает теорию Beard в современных терминах. Согласно интерпретации Gurchot, по теории Beard, рак представляет собой первоначально трофобластическую ткань, происходящую либо из

заблудившихся герминативных, либо из соматических клеток, в которых дерепрессированы гены, обеспечивающие проявление трофобластических свойств. Разнообразие гистологических типов опухолей объясняется параллельным функционированием в опухолевых клетках некоторых генов соматического характера. По мнению Beard, это защитная реакция против эктопического паразитирования трофобласта. Она будет проявляться в дифференциации и гиперплазии более примитивных соматических клеток, которые присутствуют в опухолях.

Плодотворная мысль, которая содержится в приведенной теории, заслуживающей, по нашему мнению, пристального изучения, заключается в том, что обязательным компонентом любой опухоли являются трофобластоподобные клетки. Последние обеспечивают возможность имплантации опухоли, ее трофику и инвазивный характер роста.

В той или иной степени это положение поддерживается гипотезами, предложенными в более позднее время. Согласно общей теории онкогенеза, предложенной Л.Б. Меклером [14], злокачественная трансформация клетки происходит в результате наследуемого изменения белков мембран клетки, переходящей к интенсивному делению. На следующем этапе онкогенеза в популяции пролиферирующих трансформированных клеток происходит их гибридизация, дающая начало злокачественным клеткам, из которых формируется опухоль. По мнению Л.Б. Меклера, опухоль представляет собой аномальный и дефектный эмбрион, и ее развитие происходит по тем же законам, которые ответственны за развитие нормального эмбриона. Подобный взгляд на природу рака развивает Tissenil [15], который считает, что опухоль представляет собой эмбрион, развившийся в результате оплодотворения соматической клетки при ее гетерогенной гибридизации с вирусом. Однако авторы не расшифровывают механизмы формирования биологических свойств злокачественных клеток – их способности к имплантации, инвазии и метастазированию. По нашему мнению, эта часть общей теории онкогенеза Л.Б. Меклера, а также гипотеза Tissenil – модернизированный вариант старых теорий оплодотворения соматических клеток в результате их гибридизации.

В течение последних лет Л.Г. Эренпрейсом [16, 17] разрабатывается гипотеза о связи между эмбриогенезом и канцерогенезом, согласно которой опухолевая клетка – это эмбриональная клетка, лишенная возможности участвовать в нормальном эмбриогенезе. Источником опухоли в зрелом организме могут быть эмбриональные клетки, выведенные из нормальных коррелятивных взаимоотношений с развивающимся эмбрионом, а также соматические клетки, у которых под воздействием канцерогенных факторов индуцируются эмбриональные свойства. По мнению автора, эмбрионализация – обязательный компонент процесса малигнизации, а эмбриональные свойства – неотъемлемый атрибут опухолевых клеток. Эмбриональные свойства в данном случае передаются не предназначенным для эмбриогенеза клеткам, которые в тканях зрелого организма лишены возможности участвовать в эмбриональном

развитии. Поэтому размножение клеток, обладающих эмбриональными свойствами, проявляется как опухолевый рост. Единственной отличительной чертой опухолевых клеток – приходит к выводу автор – являются их эмбриональные свойства, и ничего другого, кроме эмбрионализации, при малигнизации не происходит [16].

Справедливость этого вывода подтверждается результатами известных опытов Mintz и соавт. [18], в которых было установлено, что введение определенного количества клеток мышинной тератокарциномы в мышиную бластоцисту приводит к нормализации злокачественных клеток, включению их в эмбриогенез, в результате чего развиваются нормальные химерные мыши.

Достижения в области исследования молекулярно-генетических механизмов злокачественной трансформации клетки, в частности открытие онкогенов и доказательство их роли в процессе малигнизации, позволили перейти к изучению механизмов формирования эмбриональных свойств злокачественных клеток. Авторы «онкогенных» гипотез канцерогенеза Huebner и Todaro, Temin и Baltimore показали участие вирусных и клеточных онкогенов в эмбриогенезе [19, 20]. В настоящее время получено огромное количество данных об участии онкогенов в эмбриональном развитии [17, 21–23], регенерации [24], клеточной дифференцировке [23, 25].

В нашу задачу не входит анализ многочисленных данных о роли онкогенов в онко- и онтогенезе. Подробно роль онкогенов в регуляции пролиферации нормальных и злокачественных клеток рассмотрена нами в гл. 3 настоящей монографии. В качестве резюме считаем целесообразным привести положение, высказанное Л.Г. Эренпрейпсом [17] «...в клетке имеется генетическая информация, управляющая процессами эмбрионального развития, причем не гистогенезом конкретных тканей или органов, а каким-то общим, фундаментальным компонентом онтогенеза».

Заключая краткий обзор «эмбриональных» теорий опухолевого роста, можно констатировать, что взгляды Cohnheim на природу опухолевых клеток, высказанные более 100 лет назад, претерпели изменения преимущественно в плане уточнений. Старому постулату Cohnheim, что источником опухоли являются эктопически расположенные в тканях зрелого организма эмбриональные клетки, придано современное звучание, согласно которому источником опухоли является клетка, злокачественная трансформация которой неразрывно связана с ее эмбрионализацией. Не подвергая сомнению принципиальную значимость такого уточнения, зададим все же вопрос, обеспечило ли модернизированное понимание «эмбриональной» сущности злокачественной клетки прорыв в наших знаниях о биологических законах роста опухоли, о причинах формирования биологических свойств малигнизированной клетки иммортализации, способности к имплантации, инвазии и метастазированию? Вряд ли на этот вопрос можно дать безапелляционно утвердительный ответ. Критикуемый, но в целом верный тезис Potter [26] «онкогенез есть блокированный онтогенез», сегодня, по сути,

является пределом наших знаний о биологии опухолевого роста, за который наши представления об опухоли как объекте биологии развития не простираются.

В следующих разделах мы предпримем попытку изложить собственную гипотезу опухолевого роста, в которой злокачественный рост будет рассмотрен с позиции законов биологии развития.

1.2. Некоторые аспекты биологии развития тканей эмбриона и опухоли

Более 50 лет назад Waddington [27] и Needham [28] предложили рассматривать опухоль как объект биологии развития, исходя из наличия ряда сходных сущностных признаков, характеризующих онко- и эмбриогенез. Предположение авторов, что механизмы, контролирующие морфообразовательные процессы при эмбриогенезе, могут контролировать развитие опухолей (в последующем это предположение было подтверждено), предвосхитили создание современных «эмбриональных» концепций опухолевого роста.

К общему сущностному признаку эмбрио- и онкогенеза относится развитие новообразования из одной клетки во взрослом организме. При эмбриогенезе из оплодотворенной яйцеклетки развивается эмбрион, при опухолевом процессе из малигнизированной клетки развивается злокачественная опухоль. Первый случай представляет собой физиологический процесс, второй – патологический. Так как указанный сущностный признак обоих процессов общий, можно допустить, что онкогенез до определенной степени – пародийный патологический вариант эмбриогенеза.

Предметом изучения биологии нормального развития являются иммортальные герминативные клетки цикла Вейсмана, процесс оплодотворения и развития из оплодотворенной яйцеклетки эмбриональных тканей. Предметом изучения биологии развития злокачественного новообразования является иммортальная злокачественная клетка и развивающаяся из нее опухолевая ткань. В обоих случаях предметом изучения служит как потенциально бессмертная клетка, способная дать начало развитию новообразования, так и само новообразование.

Тотипотентные свойства оплодотворенной яйцеклетки реализуются благодаря способности к диверсивной дифференцировке развивающихся из нее клеток, из которых формируются зародышевые и внезародышевые органы и ткани. В современной онкологии сложились представления об опухолевой прогрессии, в основе которой лежит динамика соотношения между гетерогенными клетками опухоли. Опухоль не является простой ассоциацией копий первичной злокачественной клетки, напротив, популяции клеток

опухоли гетерогенна, и в основе этой гетерогенности лежат общебиологические законы диверсивности свойств клеток, развивающихся из первичной малигнизированной клетки.

Характерный признак малигнизированной клетки – снижение уровня ее дифференцировки. Однако это не возврат к тотипотентной зародышевой клетке. В противном случае теоретически можно было бы допустить возможность развития эмбриона из злокачественной клетки, помещенной в определенные физиологические условия.

В нормальных тканях существует механизм, обеспечивающий редифференцировку дедифференцированных клеток. Согласно гипотезе Ю.М. Оленова [29], в клетках, вступающих на путь малигнизации, этот механизм поврежден и, как следствие, редифференцировка блокирована. По мнению автора, блок редифференцировки представляет собой основу малигнизации.

Таким образом, дедифференцированная клетка, с одной стороны, не является аналогом тотипотентной зародышевой клетки, а с другой – благодаря существованию блока ее редифференцировки принципиально не способна стать источником развития дифференцированных нормальных тканей. Однако биологические свойства потенциально бессмертной малигнизированной клетки, реализующиеся в процессе ее размножения, входят в «репертуар» биологических свойств потенциально бессмертной герминативной клетки, которые также реализуются в процессе жизненного цикла. Высказанная мысль близка по сути формуле Potter [26] «онкогенез есть блокированный онтогенез», однако, по нашему мнению, уточняет эту формулу, подчеркивая, что в случае развития опухоли онтогенез блокирован на участке, лежащем между двумя крайними точками эмбриогенеза: тотипотентная зародышевая клетка – эмбрион. Есть все основания полагать, что этот участок «репертуара» зародышевой клетки, дерепрессированный в злокачественной клетке, ответствен за формирование биологических свойств эмбриональных клеток, характерных для ранних стадий зародышевого развития. Согласно биологическому закону, ранние стадии развития эволюционно более консервативны, так как их изменения ведут к слишком серьезным последствиям, которые редко выдерживают испытания естественным отбором [30].

Биологические свойства эмбриональных клеток, которые реализуются на ранних стадиях зародышевого развития – способность к имплантации, инвазивному росту, аутосекреции, – обеспечивают принципиальную возможность выживания зародыша, его трофику и дальнейшее развитие. Перечисленными свойствами обладают клетки, из которых в дальнейшем формируются внезародышевые ткани – хорион, желточный мешок, амнион, нормальное развитие и функционирование которых определяет возможность развития эмбриона. Чрезвычайно важно, по нашему мнению, что подобными биологическими свойствами обладают и злокачественные клетки. Для того чтобы оценить биологическую значимость указанного подобия, нам

представляется необходимым кратко рассмотреть эволюцию фаз размножения многоклеточных организмов.

1.2.1. Вегетативная и половая фазы в жизненном цикле многоклеточных организмов

В клеточных популяциях прокариотов – бактерий и синезеленых водорослей – свойство неограниченной пролиферации присуще всем клеткам. Это же свойство наблюдается у простейших, которые относятся к эукариотам. Прокариоты и простейшие проходят в жизненном цикле несколько фаз, с которыми связано изменение их морфологических и поведенческих свойств. Некоторые простейшие (например, отдельные разновидности *Sporozoa*) в разных фазах образуют периодически то агрегированную многоклеточную, то одноклеточную форму [31]. В одну из фаз, связанную с дезагрегацией на отдельные клетки, образуются не споры, а половые клетки. У прокариотов и *Sporozoa* не образуются субпопуляции дифференцированных и детерминированных соматических клеток с ограниченной пролиферацией, как у более высокоорганизованных многоклеточных. Дифференцировка у них происходит циклически: в разных фазах своих жизненных циклов, а также под влиянием различных модифицирующих воздействий внешней среды в клетках развиваются специальные структуры, характеризующие то или иное дифференцированное состояние (например, флагеллы, псевдоподии, оболочки цист, реснички, раковины и т. д.). Все эти структуры непостоянны и при смене фаз жизненного цикла либо при изменениях внешних условий быстро утрачиваются и сменяются другими. Важная особенность прокариотов и простейших та, что все гены их геномов участвуют в реализации жизненного цикла [32].

В многоклеточных организмах ситуация более сложная. В основе их размножения лежит особая иммортализованная популяция клеток, существование которой было открыто в последнем десятилетии прошлого века [33]. В 1893 г. August Weisman [34] опубликовал «теорию зародышевой плазмы». Он обратил внимание на то, что у зародышей животных на разных стадиях развития обособляется группа клеток, которые у взрослого организма дают начало репродуктивным тканям. Эти клетки были названы автором «непрерывной линией половых клеток».

В настоящее время существование непрерывной линии половых клеток подтверждено большим числом экспериментальных данных [35–37]. Непрерывная линия половых клеток – это реальный факт природы, а потому вполне обосновано и противопоставление друг другу сомы и этой бессмертной клеточной линии [6].

В жизненном цикле всех многоклеточных эукариотов (включая, по нашему мнению, и плацентарных млекопитающих) происходит смена

основных фаз жизненного цикла – вегетативной и половой. Вегетативная фаза может завершаться образованием новых – вегетативных – и половых организмов (при переходе в половую фазу). В половой фазе происходит половое размножение, причем из зиготы всегда образуется вегетативный организм. Эти особенности жизненных циклов присущи в равной мере многоклеточным животным и растениям (рис. 1). В составе тканей всех многоклеточных растений есть стойко воспроизводящая себя субпопуляция специальных клеток, которая по мере нормальной пролиферации «выделяет» из своего состава часть клеток, проходящих соматическую дифференцировку, образуя ткани и органы растения. Эту субпопуляцию клеток в тканях высших растений называют меристемой [38]. В верхушечной точке роста побега растения функционирует апикальная меристема, которая в результате своей высокоупорядоченной пролиферации, образует все соматические клеточные типы тканей растения, а также стойко и неограниченно воспроизводит свою собственную субпопуляцию.

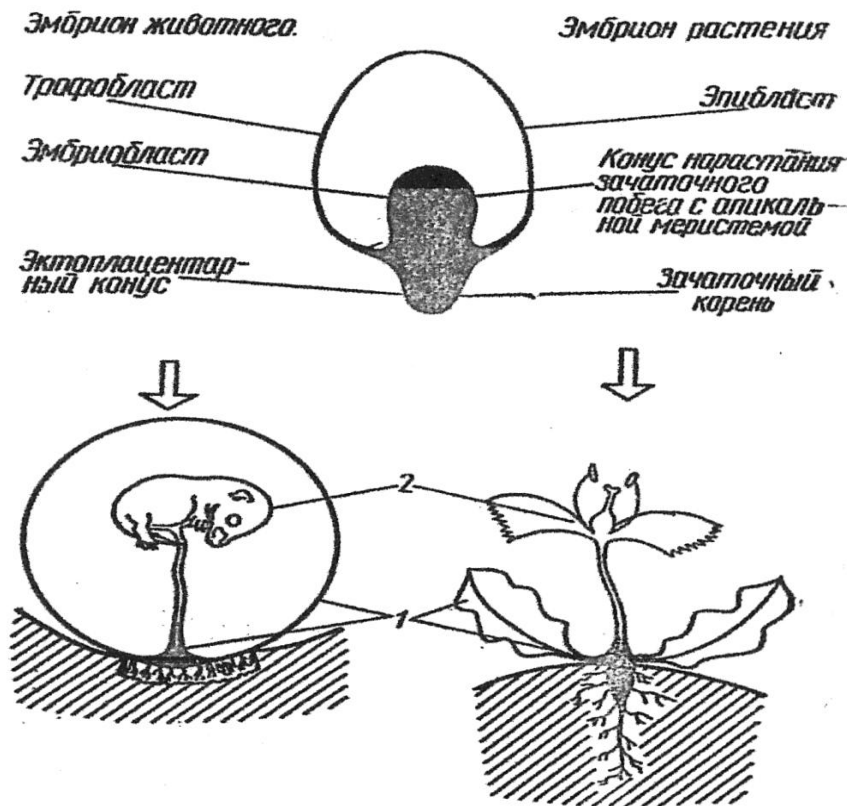


Рис. 1. Организмы вегетативной и половой фаз плацентарных млекопитающих и высших растений:

1 – вегетативная фаза; 2 – половая фаза

Апикальной меристеме свойственно вегетативное размножение: при отрастании побега она оставляет в его отдельных участках запасные меристемы – почки, а также камбиальные и другие клетки сомы, которые при определенных экстремальных условиях могут образовывать каллюсы и новые

меристемальные зоны [38]. При смене очередной фазы жизненного цикла меристема дезагрегируется на отдельные клетки – споры, которые в результате ряда преобразовательных процессов (различных у разных эволюционных групп растений) переходят в половую фазу – образуют половые клетки и гонады [14]. Половые клетки сливаются в зиготу, которая представляет собой вегетативный организм и дает начало агрегированной апикальной меристеме.

Сходным образом происходит смена основных фаз и в жизненном цикле животных. Сравнивая различные виды (многоклеточных) организмов в соответствующих основных фазах, мы обнаруживаем ряд общих морфологических черт: из зиготы образуется вегетативный организм, причем морфологически эти возникающие из зиготы организмы во многом сходны у растений и животных. Механизм имплантации бластоцисты животных (образование эктопланцентарного конуса) напоминает механизм укоренения семени растений (образование зачаточного корня) (см. рис. 1 и 2). Остается открытым вопрос, является ли это сходство организмов вегетативных фаз аналогией или гомологией.

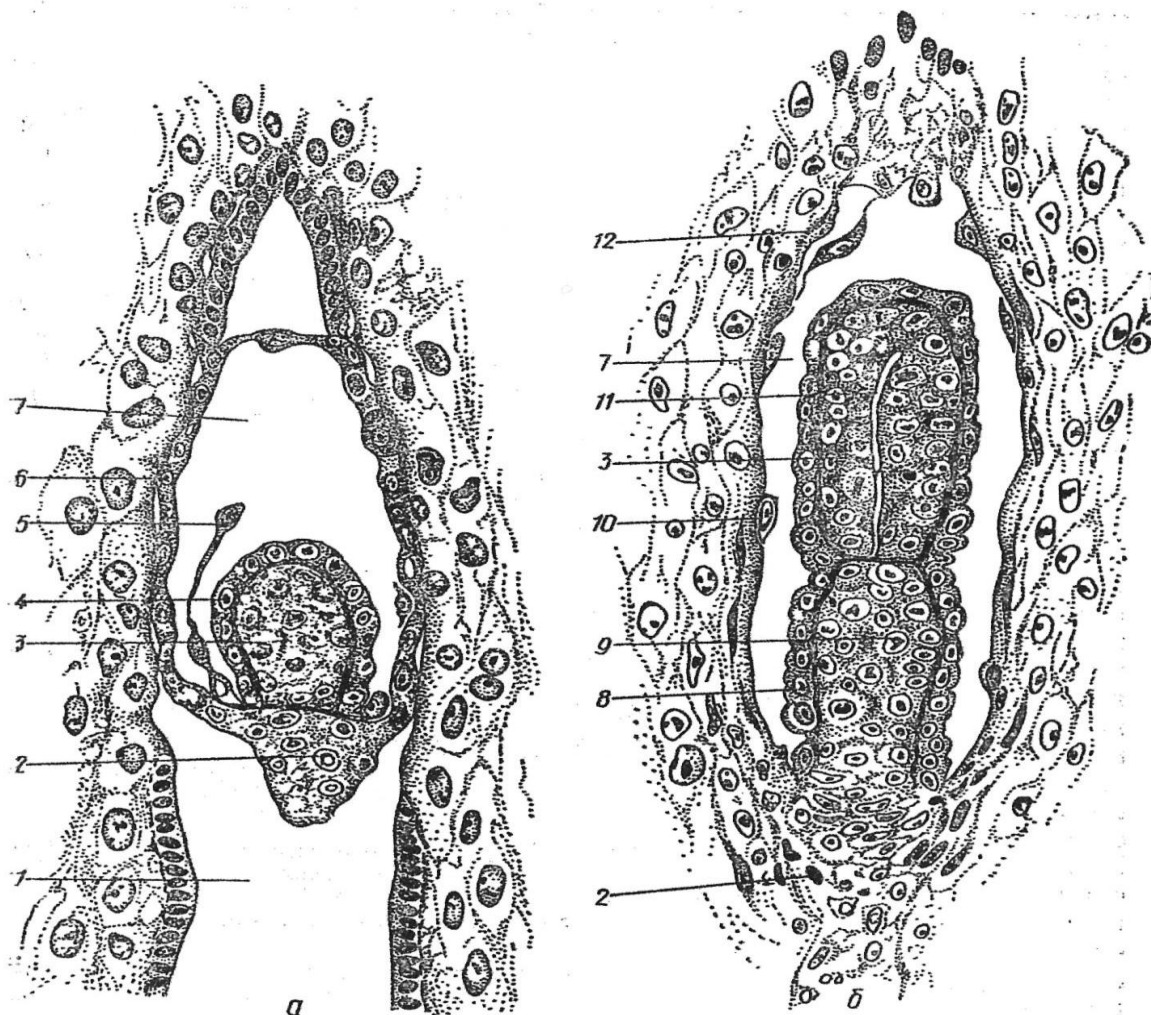


Рис. 2. Бластоциста крысы:
а – начало стадии имплантации; *б* – стадия двухслойного яйцевого цилиндра; 1 – имплантационная крипта; 2 – эктопланцентарный конус; 3 –

зародышевая эктодерма; 4 – проксимальная энтодерма; 5 – дистальная энтодерма; 6 – трофобласт; 7 – «желточный» полость; 8 – проксимальная энтодерма; 9 – внезародышевая (дорсальная) эктодерма; 10 – клетки дистальной эктодермы; 11 – проамниотическая полость; 12 – трофоэктодерма.

В вегетативной фазе организм, развиваясь, может пройти от одного до нескольких (а при соответствующих условиях неограниченное количество) циклов вегетативного размножения, и затем образует организм в половой фазе. При этом образуются гонады, в которые выселяются предшественники половых клеток.

Предшественники половых клеток у растений, как уже указывалось, происходят из апикальных меристем организма вегетативной фазы, которые при этом дезагрегируются.

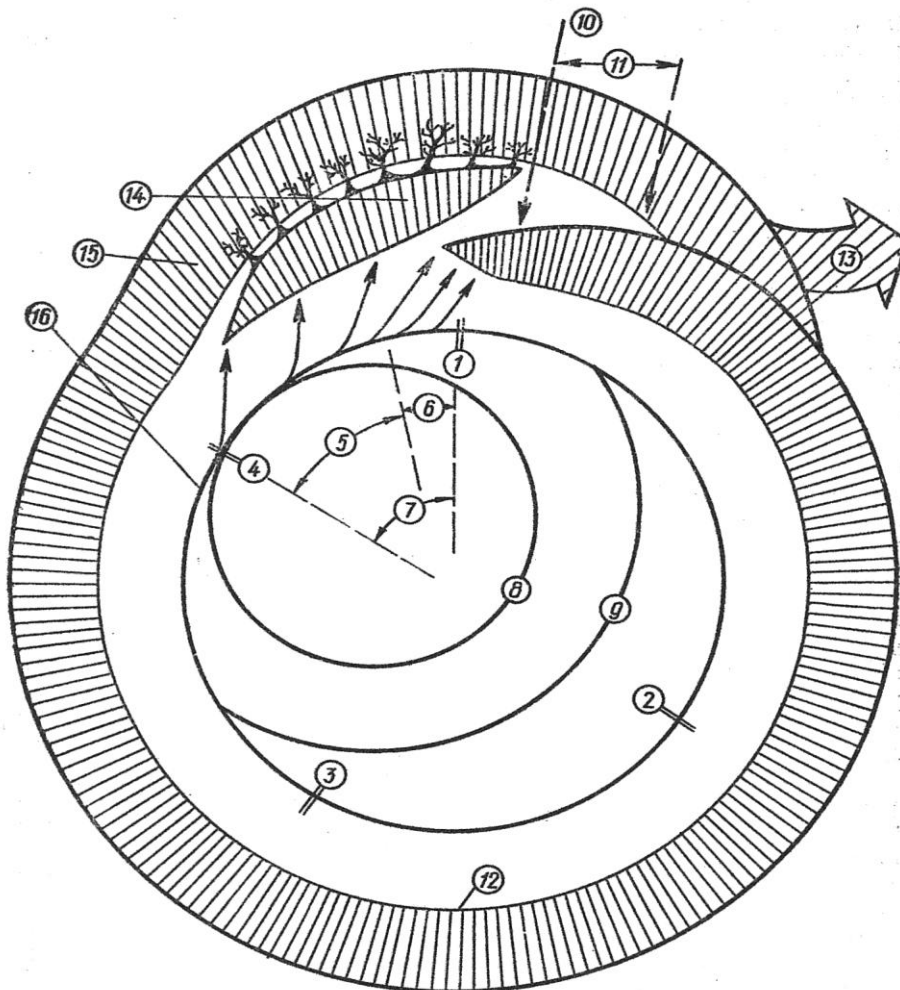


Рис. 3. Непрерывная линия половых клеток в жизненном цикле плацентарных млекопитающих:

1 – выселение гонцитов из желточного мешка; 2 – мейоз; 3 – слияние

половых клеток в образовании зиготы. 4 – начало дробления зиготы и обособления сомы вегетативной фазы; 5 – период развития организма вегетативной фазы; 6 – период закладки сомы организма половой фазы. 7 – период функционирования «апикальной меристемы», 8 – цикл вегетативного размножения (образование однойяйцевых близнецов); 9 – цикл партеногенетического размножения; 10 – момент родов; 11 – период лактации; 12 – завершение полового созревания организма половой фазы. 13 – смерть организма половой фазы; 14 – сома вегетативной фазы; 15– сома половой фазы; 16 – линия» половы клеток.

У животных гоноциты выселяются из специальной герминативной зоны желточного мешка [35] Желточный мешок млекопитающих можно уподобить побегу, а эту особую зону считать апикальной меристемой животных.

В составе тканей организма половой фазы апикальной меристемы нет, воспроизводство сомы обеспечивается камбиальными клетками, выделяющими из своего состава стволовые клетки [39, 40]. Герминативные клетки, заселяющие гонады, фактически наодятся внутри половых протоков и ограничены от тканей организма эпителиальным барьером.

Таким образом, непрерывная линия половых клеток в своем развитии проходит собственный замкнутый жизненный цикл (рис. 3), подобный жизненным циклам прокариотов и Protozoa. В разных фазах этого цикла происходят временные дифференцировочные изменения половых клеток с образованием соответствующих временных функциональных структур – псевдоподий, хвостов спермий, zona Pellucida и т. д. К их числу, по нашему мнению, следует отнести и сому, для образования которой жертвуется часть клеток непрерывной линии. Очевидно, для прохождения непрерывного цикла в линии половых клеток происходит периодическая экспрессия – репрессия определенных групп генов, которые функционируют только в герминативных клетках. Для клеток, которые вступают на путь соматической детерминации, необходима экспрессия еще и многих других групп генов, которые в линии половых клеток, по-видимому, никогда не экспрессируются. Можно предположить, что последовательность включения генов в соматических клетках имеет не циклический характер, как в непрерывной линии половых клеток, а линейный: от начальной, или инициальной, группы генов к конечной или терминальной, обеспечивающей функцию «рабочей» смертной соматической клетки. Эта условная детерминационная линия генной экспрессии разветвлена в соответствии с законом дивергенции, благодаря чему образуются дифференцированные функциональные клетки разных типов [40].

Главные фазы жизненного цикла – вегетативная и половая – у разных животных и растений имеют разный удельный вес, что проявляется в степени функциональной дифференцировки сомы вегетативного либо полового организма, относительной длительности его функционирования [18]. Существуют, например, такие виды метагенетических кишечнополостных –

одиночные или колониальные полипы, жизнедеятельность которых протекает преимущественно в вегетативной фазе [42]. Половые особи (медузоиды) у них образуются редко, у некоторых колониальных видов вообще не отделяются от вегетативной колонии (подобно цветам у высших растений) [42]. Другая крайность – снижение роли вегетативной фазы и превалирование половой. Так, сцифоидная медуза Бугенвиллия (*Bougainvillia platygaster*) не выбрасывает яйца в воду. Яйца развиваются у нее прямо в гонадах, здесь же образуются маленькие полипы, которые выплывают и покидают половые пути материнского организма. Среди растений преобладают виды, у которых главным в жизненном цикле является вегетативный компонент, но есть и исключения, например, тропическое цветковое растение-паразит Раффлезия Арнольда, у которого побег (вегетативная фаза) имеется только в раннем зародыше. Из маленького, с маковое зерно, семени этого растения появляется сразу маленький цветочный бутон (половая фаза) без стебля, который развивается девять месяцев, достигает размеров большого кочана капусты и раскрывается в огромный цветок, достигающий 1 м в диаметре и массой до 6 кг [43].

Существенное снижение роли вегетативной фазы произошло и в жизненном цикле позвоночных животных. Если некоторые формы примитивных хордовых (туникаты – сальпы и асцидии) размножаются в вегетативной фазе не менее эффективно, чем даже многие кишечнорастворимые [27], то у плацентарных млекопитающих вегетативная фаза проявляет себя в редком явлении рождения однойцевых близнецов. Некоторые виды броненосцев (*Dasipodini*) всегда рожают парное (от 2 до 12) количество однойцевых близнецов [37, 44].

Вегетативный организм в ходе эволюции сначала оказался помещенным в гонады, затем был заключен в яйцевую оболочку. У плацентарных млекопитающих вегетативный организм – бластоциста – вновь оказался в половых путях материнского организма, образовав в зоне контакта плаценту. Вегетативное размножение в этой фазе стало сравнительно редким явлением, но оно происходит. Причем, судя по характеру срачивания близнецовых плацент, а также появлению иногда различных сиамских близнецов [45], это размножение происходит отнюдь не только на стадии двух бластомеров, как принято считать, но и на более поздних стадиях развития организма вегетативной фазы, как например у броненосцев [37].

По нашему мнению, факт существования вегетативной и половой фаз в жизненном цикле животных является основой для формирования представлений о биологической сущности феномена злокачественного роста.

1.3. Онкогерминативная гипотеза опухолевого роста

Одним из основных свойств клеток злокачественных опухолей, отличающим их от нормальных соматических клеток, является их иммортализация, или способность к неограниченному самовоспроизводству [46, 47]. Это свойство связано с особенностью стволовой субпопуляции злокачественных клеток, доля которых при длительном культивировании или при перевивке не уменьшается, как в популяциях нормальных клеток, а сохраняется постоянной и может даже возрасти в ходе опухолевой прогрессии [48]. В предлагаемой нами гипотезе предполагается, что если иммортализация свойственна одной из нормальных клеточных субпопуляций организма – непрерывной линии половых клеток, то в опухолевых клетках это свойство эктопически дерепрессировано. Таким образом, определяющим признаком любой злокачественной клетки является функционирование в ней части генома герминативной клетки. Исходя из этого, злокачественная клетка по своим основным признакам пародирует герминативную клетку и может быть названа онкогерминативной клеткой.

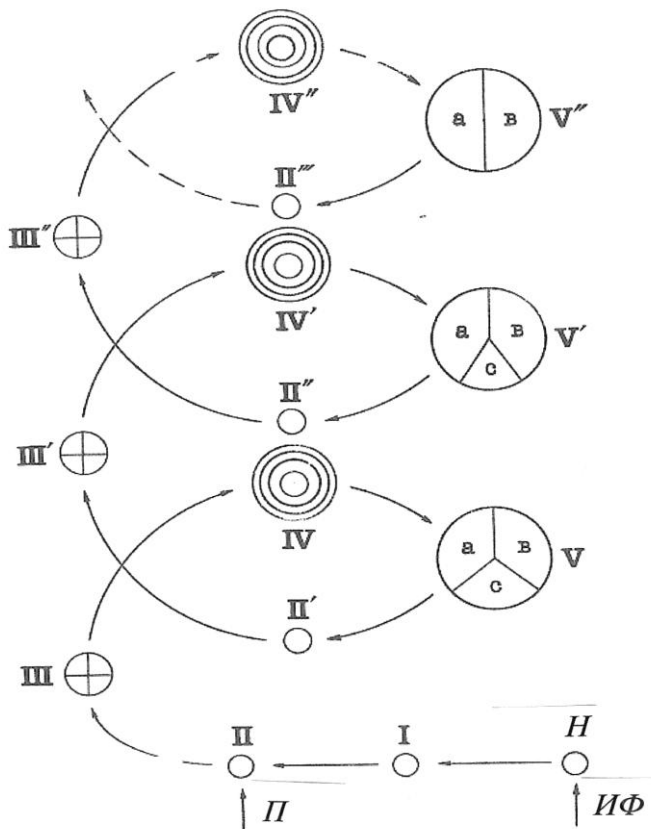


Рис.4. Схема образования злокачественной опухоли и опухолевой прогрессии:

Н – нормальная соматическая клетка; ***ИФ*** – иницирующий канцерогенный

фактор. П – промотор, а – популяция онкогерминативных клеток, б – онкотрофобластических клеток; в – онкосоматических клеток; I – инициированная клетка, подготовленная к трансформации; II – трансформирования (онкогерминативная) клетка; III – партеногенетическое размножение онкогерминативной клетки, IV – многоклеточный онкосфероид; V – первичная опухоль; II', II'', III''' – дезагрегированные метастатические онкогерминативные клетки; III', III''' – партеногенетическое размножение дезагрегированных (метастатических) онкогерминативных клеток; IV', IV'' – вторичные многоклеточные онкосфероиды; V', V'' – вторичные (метастатические) опухоли.

Мы попытаемся обосновать справедливость высказанного тезиса в предлагаемой нами онкогерминативной гипотезе опухолевого роста, которая, по нашему мнению, будет способствовать переходу от описательности тех или иных эмбриональных свойств, особенностей поведения малигнизированной клетки и констатации гетерогенности состава клеточной популяции опухолей к анализу биологической природы злокачественной клетки и опухоли на основе современных достижений биологии развития, эмбриологии и генетики. Предлагаемая гипотеза не отвергает накопленные к настоящему времени фундаментальные данные о механизмах канцерогенеза и построенные на этой основе концепции опухолевого роста. Напротив, основываясь на этих данных, наша гипотеза позволяет, как нам кажется, некоторые из них увидеть в другом аспекте.

Онкогерминативная гипотеза опухолевого роста основывается на традиционном представлении о малигнизации клетки и развитии опухоли как многостадийных процессах (рис. 4). Первая стадия малигнизации соматической клетки вне зависимости от природы иницирующего канцерогенного фактора (вирусной, химической, радиационной) завершается ее иммортализацией и формированием опухолевого фенотипа клетки. Механизм иммортализации клетки окончательно не установлен. Однако успехи, достигнутые в последнее время при изучении генетических аспектов опухолевого роста, позволяют говорить о конкретных механизмах злокачественной трансформации и о главенствующей роли онкогенов в этих механизмах.

Анализируя многочисленные данные о комплементарности онкогенов, Л.Г. Эренпрейс [17] предлагает делить онкогены на три категории в зависимости от их участия в фазах канцерогенеза – инициации и промоции, – которые соответствуют иммортализации и неопластической трансформации клетки. К первой категории относятся гены иммортализации *myc*, *plt*, *Ela*, а также, предположительно, *myb*, *fos*, *ets*, *ski*. Активация этих генов делает клетку иммортальной, однако не обеспечивает формирование опухолевого фенотипа. Ко второй – гены неопластической трансформации семейства *ras*. Активация этих генов наблюдается только в иммортальной (иницированной) клетке и

обеспечивает персистенцию ее опухолевого фенотипа. К третьей категории относятся гены промоции, например онкоген *sis*, онкогены протеиназной группы. Белковые продукты этих генов (эпидермальный и трансформирующий факторы роста, фактор роста фибробластов и др.), связываясь с рецепторами на клеточной поверхности, активируют протеинкиназу C. Последняя является одним из ключевых элементов цепи реакции, реализующей опухолевый фенотип.

Ограничься кратким перечнем сведений об участии онкогенов в трансформации клетки, считаем целесообразным более подробно остановиться на биологической оценке феномена иммортализации трансформированной клетки. Потенциально бессмертными являются все Protozoa. У Metazoa свойством иммортальности обладают, по-видимому, только герминативные клетки. Следовательно, осмысливая феномен иммортальности малигнизированных соматических клеток, логично допустить, что в результате де- или дисдифференцировки опухолевая клетка приобретает одно из сущностных свойств либо Protozoa, либо герминативных клеток Metazoa. Однако допущение, что в результате изменения уровня дифференцировки злокачественная клетка становится подобной одноклеточным организмам, противоречило бы закону необратимости эволюции Л. Долло и биологическим законам, согласно которым рекапитуляция клетки возможна только в пределах данного генотипа. Процесс рекапитуляции всегда начинается с генетических изменений, которые, изменяя ход развития клетки, реализуются в фенотипе. Свойства клетки детерминированы ее фенотипом. Свойство иммортальности присуще только злокачественным и герминативным клеткам. Следовательно, единственная возможность для соматической клетки приобрести свойство иммортальности – дерепрессия в ней части фенотипических свойств герминативной клетки. На наш взгляд, этот вывод весьма важен, так как позволяет объяснить биологию процесса онкоразвития.

Возможность рекапитуляции соматических клеток до состояния непрерывной линии половых клеток – давний спор в биологии. Если в генетике этот вопрос был связан больше с академическим спором о возможности наследования приобретенных в онтогенезе признаков [36], то в онкологии он приобретает принципиальное значение, так как положительное решение этого вопроса позволяет по-новому объяснить такие явления, как наличие дифференцированных клеток в гетерогенной популяции опухолевых клеток [49, 50], эпигеномность механизмов формирования опухолевого фенотипа [29, 50], эктопическую «эмбрионализацию» опухолевых клеток, включая их иммортализацию [17, 51] (см. ниже).

Процесс злокачественной трансформации соматической клетки, в результате которой последняя приобретает некоторые фенотипические свойства герминативной клетки, подчинен, по-видимому, тем же закономерностям, которые определяют дивергентную дифференцировку клеток в онтогенезе. Р. Рэфф и Т. Кофмен [30] в монографии «Эмбрионы, гены и

эволюция» формулируют тезис, согласно которому существует некая генетическая программа, управляющая онтогенезом, и в процессе развития важные решения принимаются относительно небольшим числом генов, несущих функции переключателей между альтернативными состояниями клетки или путями ее дифференцировки. Функцию переключателя выполняют регуляторные гены, которые функционируют на протяжении всего процесса развития, управляя онтогенезом тремя способами: 1) регулируя время наступления тех или иных событий; 2) делая выбор из двух возможностей и тем самым определяя судьбу клеток или частей зародыша; 3) интегрируя экспрессию структурных генов для создания дифференцированных тканей. Регуляторные гены, действуя как переключатели, определяют, по какому из двух альтернативных путей пойдет данная клетка или группа клеток. После того как решение принято, возможность клеток в смысле дальнейшего выбора оказывается ограниченной, их судьба в процессе развития становится более определенной.

Онтогенез начинается с процессов в оплодотворенной яйцеклетке, определяющих ее дробление. Самые ранние стадии онтогенеза характеризуются развитием из тотипотентной зиготы трех типов клеток, из которых образуются три типа тканей: соматические зародышевые, внезародышевые и герминативная. В основе такой дивергентной дифференцировки лежит включение трех основных программ развития: соматических клеток эмбриона, клеток внезародышевых тканей и клеток герминативной ткани. Развитие эмбриона завершается заселением его семенников (яичников) герминативными клетками и обособлением его от внезародышевых тканей. После полового созревания нового организма герминативные клетки могут вновь осуществить свой жизненный цикл. Следовательно, важнейшей фенотипической особенностью герминативной клетки является то, что ее потенциальное бессмертие реализуется не по линейной схеме клетка → клетка → клетка... и т. д., а через механизм прохождения жизненного цикла (см. рис. 1). Жизненный цикл клеток Вейсмана у высокоорганизованных многоклеточных – единственный механизм, обеспечивающий их потенциальную иммортальность. Этот закон биологии развития чрезвычайно важен для понимания биологической сущности развития опухоли из трансформированной клетки.

Важнейшее событие при малигнизации соматической клетки – это переключение программы соматической клетки на программу герминативной клетки и образование, таким образом, онкогерминативной клетки. Онкогерминативная клетка, развившаяся из дифференцированной соматической клетки, принципиально не может обладать всеми функциями тотипотентной зародышевой клетки, так как хорошо известно, что процесс онтогенеза состоит в последовательном распределении цитоплазмы яйца между клетками, которое сопровождается постепенным сужением ее морфогенетических потенций [30]. Следовательно, для того чтобы

онкогерминативная клетка была абсолютно подобна тотипотентной зародышевой клетке, необходима полная идентичность цитоплазм этих клеток. Однако если это условие будет полностью соблюдено, то онкогерминативная клетка может утратить свои злокачественные свойства и превратиться в тотипотентную зародышевую клетку. Основанием для такого вывода служат результаты известных опытов, в которых была продемонстрирована возможность замены ядра оплодотворенной яйцеклетки ядром клетки аденокарциномы без ущерба для эмбрионального развития [17].

Исходя из высказанных соображений, можно предложить следующую формулировку для определения малигнизированной клетки. Малигнизированной, или онкогерминативной, является клетка, в которой функционирует часть генома герминативной клетки и которая обладает основным фенотипическим свойством последней – способностью реализовать свою потенциальную иммортальность путем осуществления своего жизненного цикла. Онкогерминативная клетка может развиваться как из нормальной герминативной клетки, так и из соматической.

Таким образом, первый этап онкогенеза – клеточной рекапитуляции – завершается формированием потенциально злокачественной клетки. Такая клетка потенциально злокачественна, так как свойства злокачественности она может реализовать только через создание морфологической структуры – опухоли, – что составляет сущность следующего этапа онкогенеза (см. рис. 3).

Принципиальными представляются два вопроса: 1) почему онкогерминативная клетка приступает к пролиферации и образованию опухоли; 2) по каким биологическим законам происходит развитие злокачественного новообразования. Ответ на первый вопрос заключается, по-видимому, в том, что реализация злокачественного фенотипа онкогерминативной клетки в процессе ее пролиферации осуществляется под воздействием промотора или промоторов, функцию которых могут выполнять как канцерогенные, так и неканцерогенные вещества [52].

Ответить на второй вопрос гораздо сложнее. Целесообразно, по нашему мнению, рассмотреть два возможных альтернативных варианта онкоразвития. Первый может заключаться в том, что образование опухоли происходит при пролиферации онкогерминативных клеток, которая осуществляется по линейной схеме клетка → клетка → клетка... и т. д., т. е. примерно так, как происходит образование тканей в онтогенезе либо их регенерация в зрелом организме из стволовых и камбиальных клеток. Однако, допустив такой путь образования опухоли, не представляется возможным объяснить ее биологические свойства: гетерогенность клеточной популяции, способность клеток к имплантации, инвазивному росту, аутокринной секреции факторов роста, поразительное постоянство проявлений эмбрионализации, близость или полную идентичность антигенного, изоэнзимного спектра тканям плаценты и, наконец, потенциальную иммортальность.

Второй вариант онкогенеза заключается, по нашему мнению, в том, что

образование опухоли – результат осуществления онкогерминативной клеткой своего жизненного цикла. Согласно предлагаемой гипотезе во втором этапе онкогенеза можно выделить четыре стадии (см. рис. 3). На первой происходит партеногенетическое размножение онкогерминативной клетки. Вторая заключается в образовании и созревании онкосфероида. Третья – развитие из онкосфероида тканей опухолевого зачатка, содержащего три типа клеток, онкогерминативные (стволовые), онкотрофобластические и онкосоматические клетки. На четвертой стадии происходит дезагрегация онкогерминативных клеток, которая манифестируется диссеминацией и образованием метастазов. Метастатическая онкогерминативная клетка снова проходит стадии партеногенетического размножения, формирования онкосфероида, формирования и развития тканей метастатического опухолевого зачатка, содержащих онкогерминативные, онкотрофобластические и онкосоматические клетки. Снова может произойти дезагрегация онкогерминативных клеток, которые могут дать начало новому циклу развития метастазов. При этом доля наиболее дифференцированных онкосоматических клеток в тканях метастатических опухолей может прогрессивно уменьшаться, что и составляет, по нашему мнению, сущность опухолевой прогрессии.

Попытаемся обосновать существование каждой из описанных стадий онкогенеза. Выше уже указывалось, что единственная возможность для соматической клетки превратиться в иммортальную заключается в дерепрессии части генома потенциально бессмертной герминативной клетки. Эта часть генома, в основном определяющая фенотип онкогерминативной клетки, по-видимому, обуславливает наиболее консервативные свойства герминативной клетки. Развившиеся на ранних стадиях эволюции многоклеточных организмов фенотипические свойства герминативных клеток оказались столь консервативными, что в то время как морфология стадий развития и взрослых особей претерпевала глубокие изменения, организация яиц и их дробление упорно оставались сходными [30].

К эволюционно консервативным свойствам герминативных клеток относится их потенциальная иммортальность, реализуемая при прохождении этими клетками жизненного цикла. Логично предположить, что эволюционно древнее свойство потенциальной иммортальности, дерепрессированное в онкогерминативных клетках, также реализуется при прохождении этими клетками своего жизненного цикла.

При неполовом размножении герминативная клетка начинает свой жизненный цикл партеногенетическим размножением. Онкогерминативная клетка также приступает к партеногенетическому размножению в начале своего жизненного цикла. При этом и та и другая клетка реализует эволюционно более древний способ размножения, чем половой. Согласно Мейнард [53], партеногенетический способ размножения, имеющий двукратное преимущество по сравнению с половым, возник около 3 млрд лет назад, а половое размножение у эукариотов – примерно 1 млрд лет назад.

Партеногенетический способ образования злокачественных опухолей из фетальных и герминативных тканей в настоящее время доказан [11, 12]. По мнению ряда исследователей [15, 54, 55], отдельные этапы развития опухолей другого гистогенеза также имеют общие черты с партеногенетической активацией яйцеклетки. Партеногенетическое размножение онкогерминативной клетки, составляющее сущность первой стадии онкогенеза, завершается формированием и развитием онкосфероида (вторая стадия онкогенеза).

Многоклеточные сфероиды являются популярной моделью для изучения вопросов биологии развития и экспериментальной онкологии. Впервые такие сфероиды были получены Holtfreter [56] при культивировании клеток эмбрионов амфибий. Вскоре началось интенсивное изучение многоклеточных сфероидов, полученных *in vitro* из клеток куриных эмбрионов [57], меланомы [58], рака молочной железы [59]. В настоящее время установлено, что многоклеточные сфероиды могут образовываться *in vitro* из нормальных эмбриональных, фетальных и постнатальных клеточек и клеток злокачественных опухолей. В отличие от многоклеточных сфероидов, образующихся из злокачественных клеток всех опухолей (такие образования получили название онкосфероидов), сфероиды из нормальных клеток образуются гораздо реже, не достигают больших размеров и практически не растут в культуре. При подкожной прививке эти сфероиды не дают начало образованию опухолей.

Особенности морфогенеза сфероидов определяются морфогенетическими потенциями составляющих их клеток. Из нормальных клеток, полученных методом дезагрегации тканей щитовидной железы, печени, гипофиза, образовывались сфероиды, которые синтезировали соответственно тиреоидные и гипофизарные гормоны и по своей морфологической структуре были весьма похожи на исходные ткани [60, 61].

Клетки дезагрегированных тканей тератокарциномы образуют *in vitro* многоклеточные сфероиды или эмбриональные тельца [62]. Отличительной их чертой является наличие большого количества морфологических структур разной степени дифференцировки, формирующихся из трех зародышевых листков и характерных для ранних стадий развития яйца. Подкожная прививка эмбрионидных телец сопровождалась, как правило, развитием тератокарцином или тератом.

Весьма показательны результаты экспериментов Mintz и соавт. [9] с клетками мышинных зародышей, диссоциированных на стадии морулы. Авторы *in vitro* вначале дезагрегировали, а затем объединяли клетки двух зародышей, различающихся генами окраски шерсти. В культуре происходила агрегация клеток двух зародышей, образование химерной морулы и бластоцисты. Последняя представляла, по сути, гибридный многоклеточный сфероид, развившийся из агрегированных клеток двух ранних эмбрионов. Если гибридные бластоцисты имплантировали в матку приемной матери, то у нее рождалось здоровое потомство химерных мышей. Если же нормальный ранний

зародыш имплантировали в экстраутеринные места, то наблюдалось беспорядочное развитие такого зародыша и он превращался в солидную опухоль, содержащую популяцию быстро делящихся стволовых эмбриональных клеток, способных дифференцироваться с образованием самых разнообразных тканей. Эти опухоли авторам удалось дифференцировать и превратить в асцитные формы опухоли, состоящей из эмбриональных телец. В центре последних находятся эмбриокарциномные клетки, окруженные слоем недифференцированных энтодермальных клеток.

Приведенные примеры иллюстрируют закономерность, согласно которой морфообразовательные потенции клеток определяют морфологические и биологические особенности развивающихся из них образований. Эта закономерность легко объяснима с позиций современной биологии развития. Один из главных догматов современной эмбриологии состоит в том, что все клетки организма содержат в геноме одну и ту же ДНК, однако находящиеся в клетках разного типа белки и кодирующие их мРНК не идентичны. По единодушному мнению ученых, дифференцировка обусловлена изменениями дифференциальной экспрессии генов в различных клеточных линиях развивающегося зародыша. После того как началось дробление, каждая клетка зародыша получает ядро, равноценное по содержанию ДНК каждому из других ядер, однако эти ядра оказываются в разном цитоплазматическом окружении [30]. По современным представлениям, последнему принадлежит ведущая роль в регуляции генной экспрессии и, следовательно, регуляции дифференцировки клеток. Чем дальше продвинулась комитированная клетка по пути дифференцировки, тем чем дальше она отстоит от тотипотентной эмбриональной клетки, тем меньшим фенотипическим «репертуаром» морфогенетических потенций она располагает.

Схематизируя процесс образования многоклеточных сфероидов разными клетками, можно прийти к следующему заключению. В результате полового или партеногенетического размножения яйцеклетки из последней образуется многоклеточный сфероид – бластоциста. При имплантации бластоцисты в матку реципиента развивается нормальный плод, а при трансплантации в экстраутеринные места – злокачественная эмбриональная опухоль. При партеногенетическом размножении онкогерминативной клетки развивается многоклеточный онкосфероид, который при трансплантации в ткани реципиента дает начало опухолевому росту. При размножении некоторых нормальных клеток *in vitro* последние могут формировать многоклеточные агрегаты, которые в культуре тканей практически не растут и при трансплантации в ткани реципиента не дают начала опухолевому росту.

Таким образом, онкосфероид, развившийся из злокачественных клеток, по своим свойствам занимает промежуточное положение между многоклеточным сфероидом (бластоцистой), развившимся из тотипотентной яйцеклетки, и многоклеточным сфероидом, образованным нормальными клетками. Однако, по нашему мнению, онкосфероид по своим свойствам

гораздо ближе к бластоцисте, так как оба они являются источниками развития новообразований – опухоли и эмбриона. Существенно также то, что многоклеточные онкосфероиды регулярно обнаруживаются в опухолевых эксплантатах, растущих *in vivo*, в то время как многоклеточные сфероиды нормальных клеток при культивировании эксплантатов нормальных тканей не обнаружены [61, 63].

Способность образовывать многоклеточные сфероиды относится, по-видимому к основным древнейшим, а поэтому наиболее эволюционно консервативным свойствам Metazoa. Вилли и Детье в книге «Биологические процессы и законы» [64] указывают, что оплодотворенное яйцо можно сравнить с одноклеточным жгутиковым предком всех живых существ, а стадию бластулы – с колониальным простейшим или шаровидным многоклеточным организмом, от которого, возможно, произошли все Metazoa.

Это положение подтверждается данными эволюционной морфологии и эволюционной биохимии. В «Эволюции развития» Vonner [66] перечисляет по крайней мере 10 попыток перехода к многоклеточности в разных группах эукариотов, результаты которых до сих пор сохранились в виде живых организмов. Остатки первых мягкотелых Metazoa сохранились в породах возрастом $(0,7 - 0,6) 10^9$ лет в Австралии, Канаде, Южной Африке. Проблема многоклеточности решалась по-разному, в результате чего в процессе эволюции независимо возникли координированные и высокодифференцированные многоклеточные формы – растения, грибы, губки, животные.

Berkner и Marshall [67] связывают появление Metazoa с повышением содержания свободного кислорода в среде в позднем докембрии Towe [68] высказал предположение, что пока содержание свободного кислорода было низким, животные вырабатывали слишком мало коллагена, для синтеза которого нужен атомарный кислород, поэтому тело их оставалось мягким, а размеры небольшими. Увеличению содержания коллагена в тканях способствовало появление дыхательных белков системы гемоглобин – миоглобин – цитохром, способных переносить кислород к тканям. Структурные белки (коллаген, глобины, цитохром *c*, фибринопептиды, гистоны и др.) являются продуктами структурных генов. По современным же представлениям, гены, мутационные изменения которых ответственны за морфологическую эволюцию, в большинстве своем не структурные, а регуляторные. Структурные гены относятся к наиболее эволюционно консервативным, а продукты их активации определяют основные свойства зародышевых клеток, развившихся в филогенезе и наблюдаемых в онтогенезе [30]. Это положение соответствует «биогенетическому закону», сформулированному Ernst Haeckel в 1879 г. [65]. Согласно этому закону «онтогенез – это рекапитуляция филогенеза, или, если говорить определенно, – ряд форм, через которые проходит отдельный организм в процессе своего развития от яйцеклетки до вполне сформированного состояния, – это краткое, сжатое воспроизведение длинного

ряда форм, через которые прошли животные предки этого организма... от самых ранних периодов так называемого сотворения органического мира до настоящего времени».

Этот закон, кратко выражаемый формулой «онтогенез повторяет филогенез», подвергался многочисленным поправкам, чему способствовали Менделевская генетика, открытие Вейсманом обособленности клеток зародышевой линии, доказанная Гексли, Бэрром и другими учеными важность морфологических признаков на всем протяжении развития [30]. В настоящее время совершенно несомненно, что зародыши высших животных сходны с зародышами низших форм, а не со взрослыми особями высших, как полагал Наеckel [64].

Для доказательства справедливости этого закона обычно приводится схема сравнения последовательных стадий эмбрионального развития рыбы, цыпленка, свиньи и человека. Эта схема оказалась настолько иллюстративной и так много раз воспроизводилась в разных учебниках по биологии и эмбриологии, что постепенно создано ложное впечатление, будто эта схема полностью отражает всю сущность формулы «онтогенез повторяет филогенез». Однако это не так. На упомянутой схеме приводится сравнение только морфологически четко различимых эмбрионов. Следовательно, сравниваются, во-первых, только морфологические структуры, образованные зародышевыми тканями, а во-вторых – эмбрионы поздних стадий развития. Онтогенез включает вегетативную и половую фазы. Он начинается не непосредственно с формирования эмбриона, а с дробления оплодотворенной яйцеклетки, прохождения стадий морулы, бластулы, дивергентной дифференцировки тотипотентной эмбриональной клетки на клетки, из которых после имплантации бластоцисты развиваются зародышевые, внезародышевые и герминативная ткани.

Через эти стадии развития проходят зародыши практически всех видов Metazoa. В этой связи не лишне еще раз напомнить известное положение эволюционной биологии, согласно которому наиболее консервативны ранние стадии зародышевого развития, относящиеся к вегетативной фазе онтогенеза. Если морфология поздних стадий эмбриогенеза и взрослых особей претерпевала глубокие изменения, то организация яиц и их дробление упорно оставались сходными [30]. По образному выражению Jacob [65], эволюция действует путем «перелицовки» старого. Структуры не появляются *de novo*, эволюция предпочитает создавать новшества, видоизменяя уже существующие структуры. К таким эволюционно древним структурам и относятся, по-видимому, морфологические образования, характерные для самых ранних стадий развития оплодотворенной яйцеклетки.

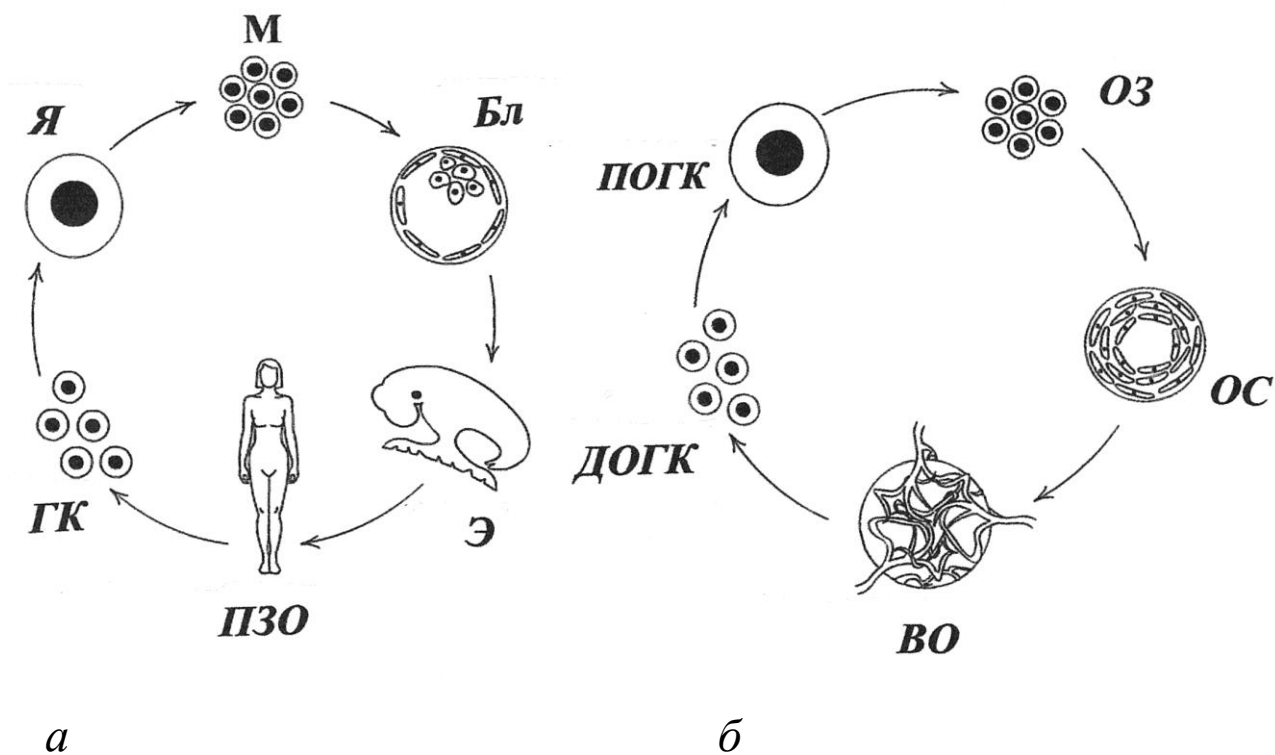


Рис. 5. Схема жизненных циклов герминативной (а) и онкогерминативной (б) клеток:

Бл – бластоциста; **ГК** – герминативные клетки; **ДОГК** – дезагрегированные онкогерминативные клетки; **ПЗО** – половозрелый организм; **М** – морула; **ОЗ** – опухолевый зачаток; **ВО** – васкуляризированная опухоль; **ОС** – онкосфероид; **ПОГК** – партеногенетическая онкогерминативная клетка; **Э** – эмбрион; **Я** – яйцеклетка.

Из приведенных биологических закономерностей вполне логичен, по нашему мнению, вывод, согласно которому первые эволюционно консервативные стадии размножения тотипотентной эмбриональной и онкогерминативной клеток принципиально схожи (рис. 5). Это сходство сохраняется до окончания вегетативной фазы развития – до образования многоклеточных структур – бластоцисты и онкосфероида – и васкуляризации последних. В постваскуляризационную стадию развития бластоцисты и онкосфероида принципиальные различия между ними стремительно нарастают. В первом случае в половой фазе онтогенеза происходит развитие упорядоченных формообразовательных процессов, завершающихся формированием эмбриона, во втором половая фаза отсутствует – происходит рост и увеличение размеров васкуляризированного онкосфероида и никаких новых морфообразовательных процессов не наблюдается. По современным представлениям, онкосфероид, полученный *in vitro*, является микромоделью растущей *in vivo* опухоли в аваскулярной стадии ее развития [61, 63]. Этот

вывод подтверждается данными об идентичности основных свойств онкосфероидов и опухолевой узлы – гетерогенности клеточной популяции, способности к трехмерному росту, пролиферативному градиенту, кинетике роста, образованию экстрацеллюлярного матрикса, содержанию глюкозы, кислородному режиму тканей, наличию некротической зоны в центре, идентичности антигенного состава, способности к секреции факторов ангиогенеза и других ростовых факторов [61, 63].

По данным ряда авторов [69, 70], сфероидообразование – обязательная стадия развития опухоли. Выделяют три стадии развития опухоли в организме: клеточную, аваскулярную, или образование сфероидов, и васкулярную, или образование опухоли. Положение, согласно которому между онкосфероидом и опухолью нет принципиальных различий, кроме роста последней в условиях васкуляризации, чрезвычайно важно для понимания биологической природы онкоразвития и, по нашему мнению, наполняет конкретным содержанием известную формулу Potter [26] «онкогенез есть блокированный онтогенез». При онкогенезе онтогенез блокирован на стадии формирования пародированной бластоцисты – онкосфероидов, т. е. при онкогенезе реализуется только вегетативная фаза пародированного онтогенеза. После васкуляризации онкосфероидов происходит только рост его тканей в условиях улучшенной трофики, но никакого дальнейшего онтогенетического развития. С момента установления анатомического контакта онкосфероидов с тканями организма – его васкуляризации – начинается третья стадия опухолевого процесса – интенсивный локальный рост опухоли.

Значительный интерес представляет анализ механизмов, обеспечивающих трофику раннего эмбриона и опухоли. Развитие зародышей млекопитающих, предшествующее их имплантации, приводит к образованию бластоцисты – полый структуры, состоящей из клеток двух типов: трофобласта, покрывающего зародыш снаружи, и внутренней клеточной массы, располагающейся в полости, ограниченной трофобластом. Из трофобласта развивается плацента, а из внутренней клеточной массы – внезародышевые оболочки и сам зародыш.

Мы делаем акцент на биологической закономерности, определяющей развитие клеток двух указанных типов, так как это весьма важно для понимания механизма формирования разных клеточных слоев сфероидов, обладающих разными свойствами. Оказалось, что в зародышах млекопитающих в отличие от таковых низкоорганизованных животных, например амфибий, преддетерминированные участки цитоплазмы делящейся яйцеклетки не играют никакой роли в дифференцировке бластомера – направление дифференцировки бластомера определяется только его местоположением в ранней бластоцисте. Клетка, оказавшаяся снаружи, становится частью трофобласта, а клетка, попавшая внутрь, развивается во внутреннюю клеточную массу [71]. При переносе меченых бластомеров во внутренние или наружные участки немеченых зародышей оказалось, что эти

бластомеры дифференцировались в трофобласт или внутреннюю клеточную массу в соответствии со своим положением [72]. При патологическом развитии бластоцисты она может не иметь внутренней клеточной массы (трофобластический пузырек), но всегда имеет наружный слой клеток, которые всегда трофобластические.

Онкоосфероид состоит, как правило, из трех четко определяемых клеточных зон, окружающих полость, в которой находятся некротизированные клетки. Первая – наружная – зона представлена пролиферирующими, упорядоченными крупными клетками с крупными ядрами и светлой цитоплазмой, которые образуют от 3 до 5 слоев. Вторая – средняя – зона представлена мелкими непролиферирующими, плотно упорядоченными клетками с мелкими ядрами и темной цитоплазмой. Эти клетки также располагаются в несколько слоев; они находятся в фазе G_0 , но при определенных условиях трофики могут пополнить популяцию пролиферирующих клеток. Непосредственно некротический центр сфероида окружают мелкие клетки третьей зоны, характеризующиеся беспорядочным расположением. Размеры сфероидов, выращенных в культуре, могут варьировать от 1 до 4 мм в зависимости от типа клеток и условий культивирования [61]. По своим размерам онкосфероид вполне сопоставим с опухолевым зачатком аваскулярной стадии развития. Считается, что васкуляризация опухолевого узла начинается по достижении им 1–3 мм в диаметре [63, 69].

Согласно нашей гипотезе, злокачественной является онкогерминативная клетка, характеризующаяся тем, что в ней частично депрессированы фенотипические свойства нормальной герминативной клетки. Причем этот депрессированный участок клеточного генома должен определять сущностное свойство герминативной клетки – способность к осуществлению своего жизненного цикла. Онкогерминативная клетка при прохождении своего жизненного цикла образует ряд морфологических структур, напоминающих структуры вегетативной фазы зародышевого развития. К таким структурам относится многоклеточный сфероид, который формируется по законам развития бластоцисты. Согласно рассмотренным выше закономерностям клетки, расположенные в наружном слое онкосфероида, должны обладать функциями трофобластических. В некоторых типах опухолей, происходящих, например, из эмбриональных и герминативных тканей, наличие трофобластических клеток доказано. Присутствие таких клеток в других типах опухолей менее очевидно. Имеются косвенные доказательства наличия в опухолях клеток, выполняющих роль трофобластических. Эти доказательства базируются на постоянном обнаружении в опухолях белков, изоэнзимов, факторов роста, характерных для плодной части плаценты. Подробно эти данные рассмотрены в соответствующих главах настоящей монографии.

На ранних стадиях развития до образования плаценты питание зародыша происходит главным образом гистотрофным путем. По-видимому, такой же

способностью обладают и клетки опухолей при инвазивном росте. Трофобластические клетки на этапе имплантации бластоцисты и поверхностно расположенные клетки опухоли обладают инвазивными свойствами, а также хорошо выраженной способностью растворять (лизировать) ткани организма и фагоцитировать разрушенные клетки [73].

При искусственном культивировании бластоцисты в культуре ее гигантские трофобластические клетки способны инвазировать и растворять не только одновременно культивируемые другие ткани, но и клетки самого зародыша [73]. Этот факт поразительно напоминает способность онкосфероидов к инвазии в другие ткани при совместном культивировании [74].

Свойство инвазивного роста присуще нормальным трофобластическим клеткам. Благодаря этому свойству осуществляется трофика раннего эмбриона. При маточной беременности инвазивные свойства трофобласта компенсируются децидуальной защитой, осуществляемой децидуальными клетками эндометрия матки, которые наряду с трофобластическими клетками участвуют в образовании плаценты. При естественной или искусственной имплантации зародыша в экстраутеринные ткани организма благодаря отсутствию в них децидуальных клеток наблюдается инвазивный рост трофобласта, который проникает через ткани, вскрывает кровеносные сосуды и приводит к обширным кровотечениям [73]. Описание подобных особенностей роста злокачественных опухолей можно встретить в любом учебнике по онкологии.

Одним из основных свойств онкосфероида и опухоли является гетерогенность их клеточного состава. Полагают, что фракция стволовых опухолевых клеток в солидных опухолях и онкосфероидах составляет менее 1 % [63]. Имеются многочисленные данные о наличии в опухолях клеток, находящихся на разных стадиях дифференцировки [75, 76]. Несмотря на попытки объяснить это свойство, загадка гетерогенности опухолевых клеток остается до настоящего времени не решенной [75].

Мы полагаем, что с позиции онкогерминативной гипотезы опухолевого роста факт гетерогенности популяции опухолевых клеток объясняется дивергентной дифференцировкой клеток, образующихся из онкогерминативной клетки при ее партеногенетическом размножении и прохождении ею своего жизненного цикла. При этом в фенотипический «репертуар» онкогерминативной клетки входит ее способность к образованию по крайней мере трех видов клеток: онкогерминативных, онкотрофобластических и онкосоматических. Эти клетки являются пародированными аналогами нормальных эмбриональных клеток – соответственно герминативных, трофобластических и соматических.

Злокачественность опухоли будет определяться наличием в ней онкогерминативных или стволовых опухолевых и трофобластических клеток. Дифференцированные клетки, повсеместно наблюдаемые в опухолях,

представлены, по-видимому, в основном онкосоматическими клетками. Наличие последних в основном определяет гистологический тип опухоли.

Логично допустить, что соотношение указанных трех типов клеток в опухолях будет определять разные варианты гистологического строения последних и их биологические свойства. Рассмотрим несколько крайних вариантов. Превалирование онкогерминативных клеток может определять высокие метастатические потенции опухоли при сравнительно небольших размерах. При превалировании онкотрофбластических клеток может наблюдаться выраженный инвазивный рост опухоли, способность к достижению больших размеров при умеренном метастатическом потенциале. Превалирование онкосоматических дифференцированных клеток будет сопровождаться снижением злокачественности опухоли, утратой способности опухоли к эксплантации вплоть до тотальной ее дифференцировки. Последняя описана для ряда опухолей [76]. Таким образом, вторая стадия опухолевого процесса заключается в локальном росте опухоли, биологические особенности которой во многом зависят от соотношения в ней онкогерминативных, онкотрофбластических и онкосоматических клеток.

Сущность четвертой стадии опухолевого процесса составляет процесс образования метастазов. По нашему мнению, метастатический потенциал опухоли определяется главным образом наличием онкогерминативных клеток. Это допущение становится понятным, если вспомнить, что герминативная ткань – обязательный продукт развития яйцеклетки при ее половом или партеногенетическом развитии. Свойством герминативных клеток, развившимся в филогенезе и наблюдаемом в онтогенезе, является способность их к агрегации и формированию герминативной ткани с последующей дезагрегацией последней на герминативные клетки в период эмбриогенеза, непосредственно предшествующий миграции этих клеток от желточного мешка в гонады эмбриона. Это свойство фенотипа герминативных клеток эволюционно древнее и постоянно наблюдается у животных, стоящих на разных ступенях эволюционного развития. С позиций нашей гипотезы это свойство входит в фенотипический «репертуар» онкогерминативной клетки. Следовательно, способность к дезагрегации является фенотипическим свойством онкогерминативных клеток и будет проявляться в организме-опухоленосителе процессом метастазирования.

Метастатическая онкогерминативная клетка, оседая в тканях организма, может снова повторить свой жизненный цикл, что приведет к формированию метастатической опухоли (см. рис. 3). Последняя, в свою очередь, может быть источником метастатических онкогерминативных клеток и развития новых метастатических очагов. По мере уменьшения доли онкосоматических клеток в метастатических опухолях злокачественность последних возрастает. Процесс «вымывания» онкосоматических клеток при развитии метастатических опухолей лежит в основе опухолевой прогрессии. Крайним вариантом опухолевой прогрессии являются недифференцированные опухоли, которые

состоят, по-видимому, в основном из онкогерминативных и онкотрофобластических клеток.

Предложенная нами онкогерминативная гипотеза опухолевого роста, опирающаяся на биологические законы развития, позволяет, как нам кажется, продвинуться в понимании биологической сущности злокачественной клетки и развивающегося из нее злокачественного новообразования и его взаимоотношения с организмом. В заключение настоящего раздела нам хотелось бы привести слова Oberling [1], сказанные почти полвека назад: «В один прекрасный день мы обнаружим, возможно, это будет одной из иронии природы, насколько рак, ответственный за бесчисленное количество смертей, неразрывно связан с жизнью».

1.4. О природе толерантности организма к опухоли

Для разработки эффективных лечебных противоопухолевых мероприятий исключительно важно иметь четкое представление не только о механизмах злокачественной трансформации клетки, но и о том, почему, за счет каких особенностей эти в определенной степени чужеродные клетки не уничтожаются защитными механизмами, поддерживающими генный гомеостаз, а напротив, могут активно размножаться в организме, приводя его к гибели. В поисках ответа на этот вопрос исследователи обращали внимание на сходство между эмбриональными и опухолевыми тканями, между эмбрио- и канцерогенезом – процессами, сопровождающимися развитием в организме генетически неоднородной ткани. В последнее время интерес к этой проблеме, тесно связанной с проблемами трансплантологии, значительно возрос

Предложенная нами онкогерминативная гипотеза опухолевого роста позволяет по-новому подойти к оценке биологической природы толерантности организма к опухоли. Этот новый подход заключается в том, что мы рассматриваем злокачественную опухоль как гетерогенное многоклеточное образование, развившееся в результате партеногенетического размножения иммортальной онкогерминативной клетки и представляющее собой пародированный зародыш на стадии бластоцисты. Следовательно, природу взаимоотношений, в том числе иммунологических, между опухолью и организмом нужно рассматривать в контексте взаимоотношений между пародированным зародышем и организмом.

Одной из общих черт эмбриональных и злокачественных клеток является появление у них эмбриональных антигенов, иммуногенность которых в аутологичной и сингенной системах доказана [77–79]. Следовательно, взрослый организм не обладает абсолютной толерантностью к собственным эмбриональным антигенам, существовавшим в период его эмбрионального развития и появляющимся вновь при беременности и злокачественном росте. По-видимому, эмбриональные и злокачественные клетки обладают

развившимся в филогенезе механизмом самозащиты от реакции со стороны иммунокомпетентных клеток собственного организма. В процессе дифференцировки эмбриональные клетки утрачивают способность к самозащите и становятся объектом иммунного надзора. Злокачественные клетки, являясь постоянно незрелыми, не утрачивают этот защитный механизм, следовательно, могут практически беспрепятственно развиваться в организме. Вполне допустимо, что этот механизм детерминирован фенотипом эмбриональной и онкогерминативной клетки.

Показательно сопоставление сроков отторжения аллотрансплантатов тканей с их зрелостью. Отторжение аллотрансплантата от взрослого донора взрослым реципиентом происходит, как правило, в течение 2–3 недель. Трансплантаты эмбриональных тканей могут определенное время развиваться в организме взрослого реципиента, затем зародышевые ткани начинают дифференцироваться и спустя некоторое время рассасываются [80]. Время от момента трансплантации до полной резорбции эмбриональной ткани исчисляется иногда несколькими месяцами. В отдельных случаях эмбриональные трансплантаты способны малигнизироваться [81]. Наконец, практически все штаммы опухолей способны к прогрессивному развитию в организме реципиента и в большинстве случаев приводят его к гибели. Таким образом, длительность выживания трансплантированных тканей и степень их зрелости находятся в обратной зависимости, что, возможно, объясняется наличием в незрелых клетках механизма самозащиты от иммунных трансплантационных реакций.

Незрелость, или дедифференцировку, злокачественной клетки не следует понимать только как возврат к эмбриональному состоянию. Ей присущ мозаицизм сохранившихся признаков соответствующих зрелых клеток и вновь появившихся особенностей, характерных для эмбриональных клеток. Появление в злокачественных клетках способности к самозащите от разрушения иммунокомпетентными клетками организма является, по нашему мнению, важным условием для роста злокачественной опухоли в организме. Следовательно, особенность дедифференцированной злокачественной клетки определяется не суммой свойств, часть из которых присуща эмбриональной клетке, а самим фактом практической необратимости такой дедифференцировки, неспособности злокачественной клетки к редифференцировке.

Предполагаемое наличие механизма самозащиты, однако, не означает, что для злокачественной клетки во всех случаях существует возможность беспрепятственного размножения в здоровом взрослом организме. Если бы дело обстояло именно так, то частота возникновения рака у животных и человека была бы несравненно выше, так как появление в организме трансформированной клетки, неспособной к дифференцировке, неизбежно приводило бы к формированию опухоли. Это противоречит многочисленным наблюдениям, свидетельствующим, что возникновение в организме

ограниченного количества злокачественных клеток далеко не всегда приводит к развитию опухолевого процесса [3, 82]. Единичные малигнизированные клетки в основном распознаются и элиминируются из организма иммунными и другими защитными механизмами. По-видимому, для формирования опухолевого узла и прогрессивного роста опухоли необходима определенная «критическая масса» злокачественных клеток. Величина «критической массы» зависит, вероятно, от активности противоопухолевых реакций и обратно пропорциональна последней. Понятие «критическая масса» вполне применимо к многоклеточным структурам ранних стадий эмбриогенеза.

На раннем аваскулярном этапе формирования злокачественной опухоли возможны разные варианты взаимоотношений между опухолевым зачатком и организмом. Малигнизированные клетки могут быть элиминированы из организма с помощью механизмов аллогенной ингибиции и (или) иммунного надзора. Многоклеточный онкосфероид в силу низкой иммуногенности и отсутствия анатомических связей с тканями организма может «ускользнуть» из-под иммунного надзора [14] либо оставаться длительное время на аваскулярной стадии развития. В последнем случае принято говорить о дремлющем опухолевом зачатке [69]. Интересно, что оплодотворенные яйцеклетки некоторых млекопитающих при определенных условиях также обладают свойством длительное время оставаться в дремлющем состоянии [9, 64].

Рассмотрим некоторые иммунологические аспекты процессов эмбриогенеза и канцерогенеза. Эти процессы характеризуются рядом сходных этапов развития (табл. 1). Первый этап начинается с воздействия иницирующего фактора на соответствующие клетки и завершается образованием многоклеточных структур – онкосфероидов и бластоцисты, – содержащих «критическую массу» клеток. При эмбриогенезе в этот период происходит развитие оплодотворенной яйцеклетки и образование многоклеточного сфероидов – бластоцисты. Характерно, что формирование бластоцисты происходит в полости маточных труб и матки, где бластоциста не контактирует с материнской кровью и не может быть распознана иммунокомпетентными клетками. Имплантация бластоцисты в слизистую оболочку матки происходит у большинства млекопитающих и человека в промежутке между 4-ми и 11-ми сутками после овуляции и оплодотворения [30, 64]. К этому времени количество эмбриональных клеток, по-видимому, достигает «критической массы». Происходит прямой контакт бластоцисты с кровеносными сосудами матки, инвазия бластоцисты прекращается, начинается васкулярная фаза развития эмбриона. На первом этапе канцерогенеза происходит злокачественная трансформация клетки, превращение ее в онкогерминативную под влиянием канцерогенных факторов.

Партеногенетическое размножение онкогерминативной клетки приводит к образованию многоклеточного онкосфероидов, который проходит через аваскулярную стадию развития и достигает «критической» клеточной массы до установления анатомического контакта с тканями организма. После

васкуляризации онкосфероида его размеры интенсивно увеличиваются.

Первый этап рассматриваемых процессов завершается формированием многоклеточных новообразований, несущих антигены, способные вызывать иммунную реакцию организма. Доказано наличие в плаценте гистосовместимых и тканеспецифических антигенов [79, 83, 84]. Об иммуногенности плаценты свидетельствует наличие в крови женщин с нормальной и особенно патологически протекающей беременностью специфических антиплацентарных антител, являющихся иногда причиной прерывания беременности [72, 85]. Установлено, что на ранних стадиях развития зиготы у мышей наблюдается недостаток антигена H-2 или он вообще не выявляется. Однако этот антиген появляется в момент имплантации бластоцисты в слизистую матки [86]. Предполагается существование корреляции между физиологией имплантации и появлением сильной антигенной системы. Не останавливаясь на характере антигенных отличий злокачественных опухолей от тканей организма, отметим, что для новообразований любого генеза характерно наличие трансплантационных антигенов, играющих основную роль в противоопухолевых иммунных реакциях.

Таблица 1. Некоторые этапы эмбриогенеза и онкогенеза

Эмбриогенез	Онкогенез
Первый этап	
<p>Половое или партеногенетическое размножение яйцеклетки, появление стадиоспецифических эмбриональных антигенов, иммуногенных для организма матери.</p>	<p>Действие канцерогенного фактора. Малигнизация клетки – трансформация ее в онкогерминативную клетку.</p>
<p>Образование многоклеточного сфероида (бластоцисты), образование «критической массы» зародышевых клеток, формирование механизмов самозащиты зародышевых клеток от факторов иммунного надзора: появление фибриноидного слоя на зародышевых клетках, секреция блокирующих факторов*.</p>	<p>Партеногенетическое размножение онкогерминативной клетки, появление опухолевых трансплантационных и эмбриональных антигенов, иммуногенных для организма-хозяина.</p>
<p>Имплантация бластоцисты и ее васкуляризация.</p>	<p>Образование многоклеточного онкосфероида, образование «критической массы» опухолевых клеток, формирование механизмов самозащиты от факторов иммунного надзора: появление фибриноидного слоя на опухолевых клетках, секреция блокирующих факторов. Имплантация онкосфероида и его васкуляризация.</p>
Второй этап	
<p>Первая фаза реверсии: комплекс нейрого르몬альных, метаболических и иммунных изменений*, обуславливающий толерантность материнского организма к зародышевым клеткам и обеспечивающий сохранение «чужого» (зародыша) в «своем».</p>	<p>Фаза реверсии: комплекс нейрого르몬альных, метаболических и иммунных изменений, обуславливающий толерантность организма-хозяина к опухолевым клеткам и обеспечивающий, сохранение «чужого» (опухоли) в «своем».</p>
Третий этап	
<p>Роды. Изгнание плода и плаценты из организма матери.</p>	<p>В большинстве случаев прогрессивное развитие опухоли. Гибель организма.</p>
<p>Вторая фаза реверсии: комплекс нейрого르몬альных, метаболических и иммунных изменений*, обуславливающих сенсбилизацию организма к трофобластическим клеткам, их элиминацию из организма, и обеспечивающих, таким образом, отторжение «чужого» (эмбриональных тканей) от «своего».</p>	

* При эмбриогенезе и онкогенезе наблюдаются сходные изменения нейрого르몬альных, метаболических и иммунных изменений и появление в крови идентичных по своей природе блокирующих факторов.

Сущность второго этапа процессов эмбрио- и канцерогенеза заключается в создании в организме условий (местных и общих), обеспечивающих состояние избирательной иммунологической толерантности по отношению к клеткам онкосфероидов и бластоцисты. Такие условия создаются благодаря механизмам самозащиты этих клеток от действия факторов иммунитета, развившихся в филогенезе и функционирующих на определенных стадиях онтогенеза. Степень надежности такой защитной системы, как и любой биологической системы, обуславливается рядом факторов. Общим для клеток, участвующих в рассматриваемых процессах, является наличие на их поверхности пленки фибриноидов, или слоя Нитабуха, маскирующего антигенные структуры этих клеток. Впервые наличие фибриноидного слоя обнаружено у клеток трофобласта. Особенно мощное развитие плаценты, окруженной толстым слоем фибриноидов, наблюдается при неродственном скрещивании [87]. Аналогичный механизм защиты обнаружен у злокачественных клеток [88]. Активность ферментов, способствующих отложению фибрина в трофобластической и злокачественной тканях, значительно выше, чем в нормальных [89]. Характерно, что иммунокомпетентные клетки, в частности макрофаги, обладают фибринолитической активностью. Последняя в активированных макрофагах в 100 раз выше, чем в неактивированных [90].

При эмбрио- и канцерогенезе в крови появляются факторы, блокирующие взаимодействие лимфоцитов с клетками опухоли или трофобласта. Природа большинства изученных блокирующих факторов, обнаруживаемых при беременности и опухолевом процессе, идентична. Так, роль сывороточных блокаторов выполняют преимущественно антитела [91]. Блокирующие антитела, адсорбируясь на клетках плаценты или опухоли, защищают их от цитотоксического действия макрофагов и Т-лимфоцитов [92]. На плаценте мышей обнаружены IgG-антитела материнского организма, преимущественно IgG₁. Наличие этих антител приводит к парадоксальному сосуществованию в одном организме реакций отторжения и облегчения. «Облегчающие» свойства этих антигенов проявляются также в стимуляции роста экспериментальных опухолей у мышей [78, 93]. В сыворотке крови беременных женщин и онкологических больных содержится иммунодепрессивный фактор – антиген, представляющий собой α_2 -глобулин, угнетающий взаимодействие лимфоцитов с клетками-мишенями [94]. Отмечена корреляция между накоплением в сыворотке крови опухолевых антигенов и увеличением ее блокирующей активности [95]. Антигены злокачественных клеток прочно связаны с поверхностью лимфоцитов. Показано, что лимфоциты организма – носителя опухоли, не оказывающие вначале цитотоксического действия на аутологичные клетки опухоли *in vitro*, после отмывания или суточной преинкубации активно разрушали последние [96]. Более подробно данные о блокирующем влиянии антигенов, общих для рака и беременности, рассмотрены в гл. 2 настоящей

монографии.

Имеются данные о выраженном иммунодепрессивном действии эмбриональных антигенов [97]. Показано, что угнетение трансплантационных реакций при беременности происходит за счет активации Т-лимфоцитов супрессоров, подавляющих продукцию антител В-лимфоцитами и эффекторную функцию Т-лимфоцитов помощников и киллеров, как и при опухолевом процессе [98]. Общие для эмбриогенеза и онкогенеза маркеры (полиамины, хорионический гонадотропин, белки зоны беременности и др.) обладают иммуносупрессивной активностью. Подробно этот вопрос рассмотрен в гл. 2 и 6 настоящей монографии.

Беременность и канцерогенез сопровождаются подобными гормональными сдвигами, обуславливающими однотипные изменения метаболических процессов – снижение толерантности к углеводам, гиперинсулинемию, усиление липолиза и утилизацию жира, гиперхолестеринемию. Указанные изменения лежат в основе «метаболической иммунодепрессии» [99], вкладывающей свою лепту в формирование анергии в отношении злокачественных и эмбриональных клеток.

Таким образом, рассматриваемый этап эмбрио- и онкогенеза, завершающийся формированием первой фазы реверсивных изменений в организме, заключается в ориентации деятельности защитно-регуляторных систем на обеспечение сохранения и развития в организме новообразований: эмбриона – при беременности, пародированного зародыша (опухоли) – при онкогенезе. По мнению Н. В. Васильева [100], при беременности и опухолевом росте происходит переключение программы функционирования иммунной системы, направленной на отторжение «чужого» от «своего», на программу «охраны чужою в своем». Триггерную роль при этом, по мнению автора, играют антигены, общие для опухоли и эмбриона.

При беременности можно отчетливо выделить третий этап развития процесса, который начинается в период, непосредственно предшествующий родам. На этом заключительном этапе появляются принципиальные различия между эмбрио- и онкогенезом. На заключительном этапе беременности происходит изгнание плода и плаценты из организма матери с помощью родовых механизмов. Клетки трофобласта, оставшиеся в организме матери, элиминируются с помощью иммунных механизмов. Этот процесс можно сравнить с отторжением трансплантата. При этом происходит смещение иммунореактивности материнского организма от толерантности к сенсбилизации в отношении антигенов плаценты. Развивается вторая фаза реверсивных изменений в организме, сущность которой заключается в формировании нейрогормонального и метаболического фона, обеспечивающего оптимальное протекание иммунных реакций, направленных на элиминацию трофобластических клеток из организма.

Сенсбилизация материнского организма обуславливается исчезновением из сыворотки крови избытка эмбриональных антигенов,

сывороточных блокирующих факторов, гормонально-метаболическими сдвигами, способствующими активации иммунных реакций. Появляются деблокирующие антитела, участвующие в демаскировке антигенов трофобластических клеток [84, 85]. Нормально протекающая беременность и роды с иммунологической точки зрения – уникальные физиологические процессы, на протяжении которых сначала развивается специфическая иммунологическая толерантность матери к тканям плода (I фаза реверсии), которая в послеродовом периоде сменяется сенсibilизацией к эмбриональным клеткам, элиминацией последних из организма с помощью иммунных механизмов и восстановлением генетического гомеостаза (II фаза реверсии). Неэффективность такой иммунной реакции, по-видимому, является одной из основных причин развития хорионэпителиомы. Показательна зависимость между частотой заболевания хорионэпителиомой и патологическим прерыванием беременности: в 77 % случаев развитию хорионэпителиомы предшествовали патологические состояния (пузырный занос, искусственное прерывание и др.) и только в 23 % – нормальная беременность [101].

Злокачественные клетки вследствие неспособности к редифференцировке, по-видимому, постоянно обладают механизмом самозащиты, обуславливающим толерантность организма к этим клеткам. Физиологические механизмы преодоления иммунологической толерантности, характерные для второй фазы реверсивных изменений, при опухолевом процессе отсутствуют, что и обуславливает его, как правило, фатальное влияние на организм. Исключительно важно, однако, то, что механизмы преодоления иммунологической толерантности к трофобластическим клеткам эффективны и для преодоления толерантности к злокачественным клеткам. Так, у рожавших животных, в отличие от девственных, обнаружены цитотоксические антитела к клеткам опухоли, индуцированной вирусом SV40. Частота возникновения опухолей, вызванных этим вирусом, у самок хомячков, перенесших несколько беременностей, существенно ниже, чем у девственных самок того же возраста и у самцов [102]. Показано, что ксеногенные противоэмбриональные сыворотки в отличие от сывороток к тканям взрослого организма оказывают выраженное цитотоксическое действие на клетки ряда злокачественных опухолей [79, 103]. Внутривенное введение РНК из сингенной ткани опухоли или эмбриона мышам с опухолями или беременным вызывало некроз, регрессию опухолей и резорбцию эмбрионов [104]. Действие РНК строго специфично, так как не обнаружено токсического ее влияния на организм беременных мышей или мышей с опухолями. Предварительная иммунизация животных эмбриональной и плацентарной тканями предотвращала прививаемость злокачественных клеток большинства экспериментальных опухолей [79, 105]. Преиммунизация тканями взрослого организма не влияла на развитие опухолей. Показательно, что эффективная иммунизация удается, как правило, облученными клетками или их фрагментами. По-видимому, такие разрушенные или убитые клетки теряют

способность к самозащите от действия лимфоцитов, и их антигенные структуры распознаются иммунокомпетентными клетками. После хирургического удаления опухоли из сыворотки крови исчезают блокирующие и появляются деблокирующие антитела, аналогичные таковым, появляющимся в послеродовой период [106].

Таким образом, характерным признаком, обуславливающим возможность развития в зрелом организме эмбриональных и злокачественных клеток, отличающихся антигенным составом, как мы полагаем, является наличие механизмов самозащиты этих клеток от иммунной реакции. Эти механизмы развились в филогенезе и имеют общебиологическое значение, поскольку во взрослом организме периодически протекают процессы, требующие создания временной толерантности к собственным незрелым клеткам (зародышевым, регенерирующим), несущим стадиоспецифические антигены, иммуногенные для собственного организма. Процессы появления таких защитных механизмов и дифференцировки клеток находятся в альтернативных отношениях. В норме функционирование механизмов самозащиты прекращается в результате дифференцировки клеток или включения деблокирующих иммунных механизмов и развития сенсбилизации к трофобластическим клеткам в послеродовом периоде. Малигнизированные клетки не утрачивают механизм самозащиты, который обуславливает состояние толерантности организма к опухоли.

Преодолению иммунологической толерантности организма к опухоли должны способствовать мероприятия, направленные на удаление максимально большего количества злокачественных клеток из организма, дифференцировку опухолевых клеток и моделирование в организме нейрогормональных, метаболических и иммунных перестроек, подобных развивающимся во второй фазе реверсии при беременности. В связи с этим исключительно важна расшифровка механизмов самозащиты незрелых клеток, выяснение роли маркеров, общих для эмбрио- и онкогенеза, в развитии толерантности к эмбриональным и злокачественным клеткам и разработка на этой основе эффективных методов повышения противоопухолевой резистентности организма.

1.5. Заключение

Положения старых «эмбриональных» теорий опухолевого роста, сформулированных в конце прошлого века, согласно которым источником образования опухоли является либо эмбриональная клетка, отклонившаяся от физиологического пути формирования тканей эмбриона, либо клетка, приобретшая эмбриональные черты в процессе ее де- или дисдифференцировки, в настоящее время подтверждены многочисленными экспериментальными данными. К последним относятся факты о наличии общих для эмбриональной и опухолевой клеток маркеров – антигенов,

изоэнзимов, гормонов, ростовых факторов и других биохимических компонентов, активации одинаковых генов, в том числе онкогенов. а также сходстве между этими клетками по ряду биологических свойств: способности к имплантации, инвазивному росту, аутокринной секреции ростовых факторов, "ускользанию" от иммунного надзора и др.

Современные достижения в области изучения эмбриональных свойств опухолевых клеток, кратко выражаемые формулой, предложенной Я.Г. Эренпрейсом. «Единственной отличительной чертой опухолевых клеток являются эмбриональные свойства их, и ничего другого, кроме эмбрионализации, при малигнизации не происходит», по нашему мнению, верно констатируют указанный факт, однако не проясняют биологическую природу злокачественной клетки и развившейся из нее опухоли.

Предлагаемая нами онкогерминативная гипотеза опухолевого роста является попыткой объяснить природу биологических свойств малигнизированной клетки и опухоли, опираясь на законы эволюционной биологии и биологии развития. Отправным пунктом при построении логической цепи выводов предлагаемой гипотезы стало осмысление факта потенциального бессмертия малигнизированной клетки. Иммортальность не является уникальным свойством малигнизированной клетки – оно присуще всем Protozoa и герминативным клеткам многоклеточных организмов. Поэтому для того, чтобы объяснить механизм появления свойства иммортальности у малигнизированной клетки, следует допустить два варианта: рекапитуляцию при ее малигнизации до одноклеточных предшественников либо дерепрессию фенотипических свойств герминативных клеток.

Первое весьма сомнительно, так как противоречит закону необратимости эволюции Л. Долла и данным современной онкогенетики, согласно которым генотип малигнизированной клетки идентичен генотипу нормальных клеток данного вида. Следовательно, второе допущение, по нашему мнению, альтернативы не имеет. Рассмотрим явление иммортальности герминативных клеток более подробно.

Очевидно, если группа клеток организма обладает каким-либо фенотипическим свойством, то это свойство закреплено в генотипе. Следовательно, фенотипическое свойство иммортализации, которое в норме реализуется только у герминативных клеток, детерминировано в генотипе. Для того чтобы это свойство реализовалось у дифференцированных соматических клеток, в последних должно произойти переключение генетической программы, характерной для данного вида клеток, на генетическую программу герминативных клеток. Следует подчеркнуть, что при таком «переключении» исключается возможность превращения соматической клетки в тотипотентную эмбриональную клетку, так как в соответствии с законами биологии развития тотипотентность эмбриональной клетки определяется свойствами ее цитоплазмы. По мере же дивергентной дифференцировки соматических клеток ядра последних находятся в цитоплазматическом окружении, отличающемся от

цитоплазмы тотипотентной клетки тем больше, чем дальше соматические клетки продвинулись по пути дифференцировки.

Процесс иммортализации соматических клеток действительно имеет место, но нам известно лишь одно явление, сопровождающееся иммортализацией соматических клеток *in vivo* – их малигнизация. Таким образом, согласно первому положению предлагаемой гипотезы опухолевого роста малигнизация соматической клетки завершается формированием онкогерминативной клетки, обладающей свойством иммортальности. Это свойство детерминировано частично дерепрессированным в злокачественной клетке фенотипом нормальной герминативной клетки. Частичная дерепрессия фенотипа герминативной клетки, детерминирующая ее иммортальность, – обязательный компонент фенотипа любой малигнизированной клетки.

В ходе эволюции многоклеточных организмов сформировался механизм, обеспечивающий реализацию потенциального бессмертия герминативных клеток. Таким механизмом является свойство герминативных клеток при половом или партеногенетическом размножении осуществлять свой жизненный цикл, заключающийся в последовательном прохождении стадий эмбриогенеза, формировании нового организма и переселении в его гонады герминативных клеток. Другого механизма, обеспечивающего возможность безграничного размножения герминативных клеток в естественных условиях, по-видимому, не существует. Можно предположить существование биологического закона иммортальности клеток многоклеточных организмов, согласно которому свойством потенциальной иммортальности обладают только клетки, способные к осуществлению своего жизненного цикла. В норме таким фенотипическим свойством обладают только герминативные клетки. Согласно нашей гипотезе свойством осуществлять свой жизненный цикл должны обладать также потенциально иммортальные онкогерми-нативные клетки при их партеногенетическом размножении.

Второе положение онкогерминативной гипотезы опухолевого роста формулируется следующим образом: злокачественной клеткой является онкогерминативная клетка, в которой дерепрессирован участок генома нормальной герминативной клетки, детерминирующий ее способность к осуществлению своего жизненного цикла.

Партеногенетический способ размножения доказан для злокачественных клеток, происходящих из эмбриональных и герминативных тканей. Для злокачественных клеток другого генеза партеногенез менее очевиден, что, по нашему мнению, объясняется неполноценностью партеногенетических потенциалов онкогерминативных клеток, нормальные предшественники которых по своей детерминированности далеко отстоят от тотипотентной эмбриональной клетки. Пародированный партеногенез онкогерминативной клетки сопровождается формированием многоклеточного новообразования – онкосфероида, являющегося пародией бластоцисты. По современным представлениям, онкосфероид по своей гистоструктуре, гетерогенности

клеточной популяции, спектру антигенов, биохимическим и патофизиологическим параметрам – это микромодель опухолевого узла, находящегося на аваскулярной стадии развития. Согласно третьему положению нашей гипотезы образование многоклеточного онкосфероида при пародированное партеногенетическом размножении онкогерминативной клетки является обязательной стадией развития опухоли, а его морфоструктурные особенности определяются морфообразовательными потенциями исходной злокачественной клетки.

Это положение объясняет природу гетерогенности клеток опухоли. Так, согласно законам биологической эволюции наиболее консервативны свойства, развившиеся на ранних этапах филогенеза. К таким ранним свойствам, неизбежно воспроизводимым в вегетативной фазе онтогенеза, относится способность герминативной клетки при половом либо партеногенетическом способах размножения формировать многоклеточный сфероид – бластоцисту, из которой развиваются зародышевые, внезародышевые и герминативная ткани. В норме процесс развития бластоцисты приводит к формированию плода – половая фаза онтогенеза. По нашему мнению, в онкогерминативной клетке фенотипически детерминирована способность к созданию многоклеточных морфологических структур, подобных наблюдаемым в норме в вегетативной фазе онтогенеза. К таким структурам относятся многоклеточный онкосфероид, развившийся в результате размножения онкогерминативной клетки. Благодаря дивергентной дифференцировке клеток, развивающихся из онкогерминативной, онкосфероид состоит из гетерогенной популяции клеток, включающих онкогерминативные (стволовые опухолевые клетки), онкотрофобластические и онкосоматические клетки, которые являются пародированными аналогами клеток бластоцист: соответственно герминативных, трофобластических и соматических. Это положение согласуется с клонально-селекционной концепцией опухолевого роста, согласно которой «злокачественные опухоли представляют собой систему стволовых, т. е. родоначальных клеток, в которой только немногие из них обладают способностью к перманентной пролиферации и самообновлению, тогда как большинство клеток имеют тенденцию к дифференцировке и ограниченный пролиферативный потенциал» [107]. По нашему мнению, эти немногочисленные бессмертные клетки в опухоли и являются онкогерминативными.

Согласно четвертому положению нашей гипотезы гетерогенность клеточной популяции опухоли предопределена фенотипическими свойствами онкогерминативной клетки. По своим свойствам клетки опухоли делятся на онкогерминативные (стволовые), онкотрофобластические и онкосоматические.

Бластоциста и онкосфероид обладают схожими механизмами, обеспечивающими их трофику после установления анатомического контакта с тканями организма. Существует биологическая закономерность, согласно которой свойства клеток бластоцисты плацентарных млекопитающих определяются только их местоположением. Поверхностно расположенные

клетки бластоцисты являются трофобластическими, клетки, располагающиеся внутри бластоцисты, – эмбриобластическими. Трофобластические клетки, обладая инвазивными и фагоцитирующими свойствами, обеспечивают трофику эмбриона. Согласно указанной биологической закономерности трофобластоподобные свойства поверхностно расположенных клеток онкосфероида предопределены. Именно эти клетки инвазируют нормальные подлежащие ткани, осуществляют фагоцитоз нормальных клеток и секретируют индукторы ангиогенеза.

Согласно пятому положению нашей гипотезы поверхностно расположенные клетки опухоли онкотрофобластические. Фенотипическое сходство между герминативной и онкогерминативной клетками ограничивается их способностью к образованию структур вегетативной фазы развития – многоклеточных сфероидов. Дальнейшее развитие бластоцисты после ее васкуляризации, составляющее суть половой фазы онтогенеза, приводит к формированию плода. При онкогенезе половая фаза пародированного онтогенеза отсутствует – при дальнейшем развитии васкуляризированного онкосфероида ничего, кроме его роста, не происходит.

Шестое положение онкогерминативной гипотезы опухолевого роста заключается в утверждении, что злокачественная опухоль представляет собой гетерогенное клеточное образование, развившееся из онкосфероида после его васкуляризации и кроме этого принципиально ничем от онкосфероида не отличающееся. Биологические свойства злокачественной опухоли определяются соотношением в ней количества онкогерминативных, онкотрофобластических и онкосоматических клеток. Исходя из этого, крайними вариантами развития злокачественных опухолей могут быть высокодифференцированные медленно растущие опухоли, в которых преобладают онкосоматические клетки. Рост опухолей, в которых преобладают онкотрофобластические клетки, отличается выраженным инвазивным характером. Опухоли, в которых преобладают онкогерминативные (стволовые) клетки, характеризуются высоким метастатическим потенциалом.

Метастатические свойства онкогерминативных клеток фенотипически обусловлены. Нормальный аналог последних – герминативные клетки – обладают свойством, развившимся в филогенезе и проявляемом в онтогенезе, периодической агрегации и образования герминативной ткани, которая на определенном этапе эмбриогенеза дезагрегирует на отдельные герминативные клетки, начинающие миграционный путь в гонады эмбриона. Это эволюционно древнее, а потому наиболее консервативное свойство детерминировано фенотипом онкогерминативной клетки.

Седьмое положение онкогерминативной гипотезы опухолевого роста заключается в том, что метастатический потенциал злокачественной опухоли определяется наличием в ней популяции онкогерминативных (стволовых) клеток, реализующих свое фенотипическое свойство дезагрегировать и мигрировать в ткани организма. Такая метастатическая онкогерминативная

клетка может осуществить свой новый жизненный цикл, локализуясь в другом месте организма, и дать начало развитию метастатической опухоли. Последняя, как правило, характеризуется иным соотношением онкогерминативных, онкотрофобластических и онкосоматических клеток. Может происходить прогрессивное уменьшение доли онкосоматических клеток вплоть до полного их исчезновения. В этом крайнем случае развивается недифференцированная опухоль.

Согласно восьмому положению сущность опухолевой прогрессии заключается в уменьшении доли онкосоматических клеток в метастатических опухолях и, следовательно, увеличении в них доли онкогерминативных и онкотрофобластических клеток, определяющих потенциал злокачественности новообразования.

Онкогерминативная гипотеза опухолевого роста предполагает существование следующих пяти стадий развития опухоли. На первой происходит малигнизация нормальной клетки и превращение ее в онкогерминативную характеризующуюся дерепрессией в ней эволюционно консервативных фенотипических свойств нормальной герминативной клетки. Вторая заключается в пародированном партеногенетическом размножении онкогерминативной клетки под влиянием промогоров. Третья стадия завершается формированием многоклеточного онкосфероида (пародированной бластоцисты), характеризующегося гетерогенным составом клеточной популяции и являющегося продуктом партеногенетического размножения онкогерминативной клетки. На четвертой происходит васкуляризация онкосфероида и его рост в условиях анатомического контакта с организмом. Развитие большинства злокачественных опухолей сопровождается дезагрегацией онкогерминативных клеток, миграцией их в ткани организма и развитием метастатических очагов опухолевого роста. Процесс метастазирования составляет сущность пятой стадии опухолевого роста, а изменения соотношения онкогерминативных, онкотрофобластических и онкосоматических клеток в метастатических опухолях является основой опухолевой прогрессии.

Мы полагаем, что онкогерминативная гипотеза более полно объясняет биологическую природу феномена развития злокачественных опухолей и позволяет сделать ряд важных в теоретическом и практическом отношении выводов. Обнаружение общей природы бластоцисты и онкосфероида делает понятным феномен толерантности организма к развивающемуся новообразованию, так как эта толерантность филогенетически обусловлена. С позиций онкогерминативной гипотезы становятся объяснимы многочисленные данные об общности маркеров опухолей и беременности, о неоднозначном влиянии беременности на рост опухолей, о возможности ингибирования опухолевого роста при иммунизации организма тканями плаценты и эмбриона и введении антисывороток к маркерам беременности. Наиболее важный практический вывод заключается в том, что, по нашему мнению, существует

принципиальная возможность элиминации опухолевых клеток из организма с помощью моделирования состояния резистентности, характерного для дородового и послеродового периодов беременности.

Для разработки сроссбвов такого моделирования необходимо изучение роли маркеров, общих для рака и беременности в формировании биологических свойств опухолевой и эмбриональной клеток, а также многоклеточных образований – бластоцисты и эмбриона, онкосфероида и опухоли. Рассмотрению этого вопроса посвящены последующие главы настоящей монографии.

1.6. Список литературы

1. *Oberling C.* The riddle of cancer. – New Haven. Yale Univ. press, 1946. – P. 26–37.
2. *Connheim I* Vorlesungen uber ellgemine Pathologie. – Berlin : Hirschwald, 1877–1880. – 2. – 691 p.
3. *Каудри Е.* Раковые клетки. – М.: Иностр. лит. – 1958. – 655 с.
4. *Кавецкий Р. Е.* Этиология и патогенез злокачественных опухолей // Общая и частная онкология / Под редакцией А. В. Мельникова. – М.; Л.: Медгиз. 1940. – Т. 1. – С. 333–369.
5. *Beard I.* The enzyme treatment of cancer and its scientific basis // Collected papers. – Chatto ano Windus, 1911. – 290 p.
6. *Witschi E.* Migration of the germ cells of human embryos from the yolk sac to the primitive gonadal folds // Carnegie Inst. Contrib. Embr. – 1948. – N 32. – P. 67–80.
7. *Stevens L. C.* The biology of teratomas // Adv. Morphol. – 1967. – N 6. – P. 1–31.
8. *Peyron A.* Tumeurs des glandes genitales // Bull. Assoc. franc. Etude. Cancer. – 1922. – N 11. – P. 215–274.
9. *Гайдар Ж. А.* Лшия половых клеток и половые эмбрионы человека // Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп беспозвоночных. – Л.: Медицина, 1968. – С. 278–327.
10. *Gutrie I.* Testicular neoplasma // Med. World. – 1960. – 93, N 3. – P. 207–215.
11. *Бреслер В. М.* Экспериментальные тератоиды яичка белых мышей, индуцированные тестостероном и сернокислой медью // Вопр. Онкологии. – 1959. – № 12. – С. 663–668.
12. *Ганина К. П.* Морфология и патогенез опухолей яичка. – Киев : Здоров'я, 1964. – 210 с.
13. *Gurchot Ch.* The trophblast theory of cancer (John Beard, 1857–1924) revisited. – Oncology. – 1975. – 31, N 5/6. – P. 310–333.
14. *Меклер Л. Б.* Механизмы индукции опухолей в свете общей теории онкогенеза // Успехи соврем. биологии. – 1978. – 85, вып. 1. – С. 134–151.
15. *Tissuil P. I.* Le cancer n'est-il que l'embryon d'une fecondation cellulaire par hybridation heterogene d'un virus? // Bull. Soc. Pathol. Exot. – 1977. – 70, N 6. – P.

565–569.

16 Эренпрейс Я. Г. Эмбриональные свойства опухолевых клеток факты и гипотезы // Экспериментальная онкология. – 1982. – 4, № 6. – С. 13–19.

17. Эренпрейс Я. Г. Современные концепции опухолевого роста. – Рига: Зинатне, 1987. – 120 с.

18 Mintz B., Illmensee K. Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1975. – 72, N 9. – P. 3585–3589.

19. Group-specific antigen expression during embryogenesis of the genome of the C-type RNA tumor virus: Implication for ontogenesis and oncogenesis / R. I. Huebner, G. I. Kelloff, P. S. Sarma et al. // Ibid. – 1970. – 67, N 1. – P. 366–376.

20. Temin H. M. The provirus hypothesis: Speculations on the significance of RNA-directed DNA synthesis for normal development and for carcinogenesis // J. Nat. Cancer Inst. – 1971. – 46, N 2. – P. 3–7.

21. Сейц И. Ф., Князев П. Г., Федоров С. Н. Онкогены: Происхождение, распространение, структура и функции в канцерогенезе // Вопр. онкологии. – 1982. – 28, № 10. – С. 84–114.

22. Slamon D. I., Cline M. J. Expression of cellular oncogenes during embryonic and fetal development of the mouse // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1984. – 81, N 22. – P. 7141–7145.

23. Tsonis A. Embryogenesis and carcinogenesis: order and disorder anticancer research // Int. J. Cancer Research and Treatment. – 1987. – 7, N 4A. – P. 617–625.

24. Goyette M., Pefropoulos Ch. J., Shank P. R., Fausto N. Expression of a cellular oncogene during liver regeneration // Science. – 1983. – 219, N 4584. – P. 510–512.

25. Miiller R. Proto-oncogenes and differentiation // Trends Biochem. Sci. – 1986. – N 11. – P. 129–132.

26. Potter V. R. Recent trends in cancer biochemistry the importance of studies on fetal tissue // Canad Cancer Conf. – 1968. – N 8. – P. 9–30.

27. Waddington C. H. Cancer and the theory of organizers // Nature. – 1935. – 135. – P. 606–608.

28. Needham J. New advances in the chemistry and biology of organized growth // Proc. Roy. Soc. Med. – 1936. – 29. – P. 1577–1626.

29. Оленов Ю. М. Проблемы молекулярной генетики. – Л.: Наука. – 1977. – 202 с.

30. Рэфф Р., Коффен Т. Эмбрионы, гены и эволюция. – М.: Мир. – 1986. – С. 402.

31. Жизнь животных: В 6 т. – М.: Просвещение, 1986. – Т. 1. Беспозвоночные. – 577 с.

32. Конюхов Б. В. Экспрессия и взаимодействие генов в онтогенезе млекопитающих // Биология развития и управления наследственностью. – М.: Наука, 1986. – С. 256–267.

33. Светлов П. Г. Предисловие к русскому изданию // Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп

- беспозвоночных. – Л.: Медицина, 1968. – 5–12.
34. *Weisman A.* The germ-plasm: A theory of heredity. – New York: C. Scribner's Sons. – 1893. – 165 p.
35. *Блэклер А. В.* Непрерывность линии половых клеток у амфибий и млекопитающих // Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп беспозвоночных. – Л.: Медицина, 1968. – С. 337–346.
36. *Вольф Э.* Идея о непрерывности линии половых клеток и возражения против нее // Там же. – С. 314–326.
37. *Гайар Ж. А.* Линия половых клеток и половые эмбрионы у человека // Там же. – С. 278–296.
38. *Васильев А. Е., Воронин Н. С., Еленевский А. Г., Серебрякова Т. И.* Ботаника. Анатомия и морфология растений: Учебник для биол. вузов. – М.: Просвещение, 1978. – 478 с.
39. *Щелкунов С. И.* Основные принципы клеточной дифференцировки. – М.: Медицина, 1977. – 256 с.
40. *Швембергер И. Н.* Рак и дифференцировка клетки. – Л.: Наука, 1976.
41. *Астауров Б. Л.* Наследственность и развитие: Избр. тр. – М.: Наука, 1974.
42. *Наумов Д. В., Пастернак Ф. А.* Тип Кишечнополостные: Беспозвоночные // Жизнь животных. – М.: Просвещение, 1968. – Т. 1. – С. 223–328.
43. *Еник Я.* Иллюстрированная энциклопедия лесов. – Прага: Артия, 1987. – С. 118.
44. *Банников А. Г.* Отряд неполнозубые // Жизнь животных. – М.: Просвещение, 1971. – Т. 6. – С. 120–128.
45. *Гершензон С. М.* Основы современной генетики. – Киев: Наук. думка, 1983. – С. 510.
46. *Игнатова Т. И.* Трансформация клеток // Биология клетки в культуре. – Л.: Наука, 1984. – С. 101–194.
47. *Михельсон В. М.* Строение клеточных культур // Там же. – С. 235–254.
48. *Бахтин Ю. Б.* Популяционный подход к изучению клеточных культур // Там же. – С. 255–274.
49. *Фридлянская Ч. И.* Постоянные клеточные линии, дифференцирующиеся in vitro // Там же. – С. 50–100.
50. *Эренпрейс Я. Г.* Морфологические потенции опухолевых клеток // Эксперим. онкология. – 1981. – 6, № 3. – С. 11.
51. *Винницкий В. Б.* О природе толерантности организма к опухоли // Там же. – 1931. – 3, № 2.
52. *Банников Г. А.* Химический канцерогенез и дифференцировка // Явления индукции и дифференцировки при опухолевом росте. – М.: Наука, 1981. – С. 4–70.
53. *Мейнард С. Д.* Эволюция полового размножения. – М.: Мир, 1981. – 271 с.
54. *Setälä H.* Tumor promoting and co-carcinogenic effects of some non-ionic lipophilic-hydrophylic (surface active) agents: All experimental study on skin tumors

in mice. – Helsinki: Oy Weilin and Goos, 1956. – 93 p.

55. *Setton A., Morelto R., Marafante D., Caddeo A. U.* Cancer as a symbol of an unconscious partenogenesis // Abstr. Joint symp. Eur. Work. group psychosom. cancer res. (EUPSYCA) "Stress, emotions and behavior, higher nervous, activity, biological mediators and neoplastic disease", Kiev, June 4 – 9. 1984. – Kiev, 1984. – P. 13.

56. *Holtfreter I.* A study of the mechanics of gastrulation // *J. Exp. Zool.* – 1944. – N 95. – P. 171–212.

57. *Moscona A.* Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos // *Exp. Cell Res.* – 1952. – N 3. – P. 535–539.

58. *Moscona A.* The development in vitro of chimenc aggregates dissociated embryonic chick and mouse cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1957. – N 43. – P. 184–194

59. *Dabrowska-Ptaskowska.* Observations on the histofomative capacities of tumor cells dissociated by digestion with trypsin // *Exp. Cell Res.* – 1959. – N 16. – P. 315–323.

60. *Mulcahy R. T., Rosenkrans W. A., Penney D. P., Cooper R. A.* The growth and morphology of FRTL 5 thyroid epithelial cells growth as multicellular spheroids in vitro // *In Vitro.* – 1985. – 21 – P. 513–520.

61. *Mueller-Klieser W.* Multicellular spheroids, a review on cellular aggregates in cancer research // *J. Cancer Res. and Clin. Oncol.* – 1987. – 113, N 2. – P. 101–122.

62. *Pirs B. G.* Teratocarcinoma // *Cancer markers.* – Clifton; New Jersey HUMANA press, 1980. – P. 1–36

63. *Sutherland R. M.* Cell and environment interactions in tumor microregions. The multicell spheroid model // *Science.* – 1988. – 240, N 4849. – P. 177–184.

64. *Вилли К., Детье В.* Биология. Биологические процессы и законы. – М.: Мир, 1974. – 822 с.

65. *Jacob F.* Evolution and tinkering // *Science.* – 1977. – 196, N 3961. – P. 1161–1166.

66. *Bonner J. T.* The evolution of development. – Cambridge: Cambridge Univ. press, 1958. – 287 p.

67. *Berkner L. V., Marshall L. C.* The history of oxygenic concentration in the earth's atmosphere // *Dis. Farady Soc.* – 1964. – N 37. – P. 122–141.

68. *Towe K. M.* Oxygen collagen priority and early metazoan fossil record // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1970. – N 65. – P. 781–788.

69. *Folkman J.* Influence of geometry on growth of normal and malignant cells // *Adv. Pathobio.* – 1976. – N 4. – P. 12–28.

70. *Sleet G. G.* Growth kinetics of tumors. – Oxford: Clarendon, 1977. – 245 p.

71. *Tarkowski A. I., Wrobtewska J.* Development of blastomeres of mouse eggs isolated at the 4- and 8-cell stage // *J. Embryol and Exp. Morphol.* – 1967. – 18. – P. 155–180.

72. *Hillman N., Sherman M. J., Graham C.* The effect of spatial arrangement on cell determination during mouse development // *Ibid.* – 1972. – 28. – P. 263–278.

73. Зыбина Е. В. Цитология трофобласта. – Л.: Наука, 1986. – 192 с.
74. Storme O. A., Mareel M. M., Dragonetti C. H. Recovery from growth inhibition in irradiated MO₄ spheroids: suspension cultures versus explanted cultures // Cell. Biol. – 1983. – N 7. – P. 99–108.
75. Райхлин Н. Т., Катенками Д. Гетерогенность популяции опухолевых клеток новообразований мягких тканей и возможные причины ее развития // Вопр. Онкологии. – 1987. – 33. – С. 7–16.
76. Эренпрейс Я. Г. Морфологические потенции опухолевых клеток // Эксперим. онкология. – 1984. – 6, № 3. – С. 10–14.
77. Johuson P. M. Immunohastological and serological applications of monoclonal antibodies to human trophoblast membrane antigens in pregnancy and malignancy // Reprod. Immunol. – 1983. – 5. – P. 8–9.
78. Агеенко А. И., Ерхов В. С., Гардиенко С. П., Авясов Р. М. Иммунитет к эмбриональным стадиоспецифическим антигенам при вирусном канцерогенезе // Эксперим. онкология. – 1985. – 7, № 2. – С. 38–39.
79. Говалло В. И. Иммунология репродукции. – М.: Медицина, 1987. – 302 с.
80. Transplantation of neonatal pancreas in thymectomised hamsters / E. L. House, V. Pansky, M. Jacobs et al. // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1964. – 120. – P. 652–659.
81. Петров Н. Н. Руководство по общей онкологии. – М.: Медгиз, 1958. – 368 с.
82. Кавецкий Р. Е. Взаимодействие организма и опухоли. – Киев: Наук думка, 1977. – 325 с.
83. Татаринов Ю. С. Трофобластоспецифический бета₁-гликопротеин // Успехи соврем. Биологии. – 1983. – 95. – Вып. 1. – С. 57–64.
84. Шабалов Н. П. Шабалова Н. Н. Иммунологические взаимоотношения матери и плода // Вопр. охраны материнства и детства. – 1987. – № 11. – С. 68–72.
85. Трунова Л. Д. Реакция трансплантационного иммунитета при физиологически протекающей беременности // Акушерство и гинекология. – 1975. – № 1. – С. 1–9.
86. Heuner S. Detection of N-L antigens on the cells of the early mouse embryo // Transplantation. – 1973. – 16, N 6. – P. 675–678.
87. Kirby D. R. S. Immunology of implantation // Immunology and reproduction. – London, 1969. – P. 231–242.
88. Curri G. A, Bagehawe K. D. The masking of antigene on trophoblast and cancer cells // Lancet. – 1967. – 1, N 7492. – P. 708–710.
89. Claser E. M., Spmk P., O'Meara R. A. Screening test for substances inhibiting the cancer coagulative factory // Nature. – 1965. – 208, N 5014. – P. 1008–1009.
90. Unkelles J., Cordon S., Retch E. Secretion of plasminogen activator by stimulated macrophages // J. Exp. Med. – 139, N 4. – P. 834–850.
91. Hellstrom J., Sjogren H. O., Warner U., Hellstrom K. E. Blocking of cell-mediated tumor immunity by sera from patients with growing neoplasma // Int. J. Cancer. – 1971. – 7, N 2. – P. 226–237.
92. Hellstrom J, Hellstrom K, Allison A. Neonatally induced allograft tolerance may

- be mediated by serum-borne factors // *Nature*. – 1971. – **230**, N 5328. – P. 49–51.
93. *Chaiuat G.* Role des anticorps facilitants dans la grossesse et le prise des tumeurs // *Bull. Cancer*. – 1976. – **63**, N 2. – P. 261–268.
94. *Stein-Werblowsky R.* Amergy in pregnancy and malignant disease the role of the immunosuppressive globulin // *Oncology*. – 1975. – **32**, N 3/4. – P. 196–200.
95. *Chism S. E.* Oncofetal transplantation antigens // *Cancer markers*. – Clifton; New Jersey: HUMANA press, 1980. – P. 115–132.
96. *Currie G. A., Basham C.* Serum mediated inhibition of the immunological reactions of the patient to his oven tumour: a possible role for circulating antigen // *Brit. J. Cancer*. – 1972. – **26**, N 6. – P. 427–438.
97. *Абелев Г. И.* Эмбриогенные антигены в опухолях – анализ на экспериментальных моделях // Биологические аспекты злокачественного роста: Тез. Докл. Выезд. Сес. АМН СССР. – Таллин, 1977. – С. 3–5.
98. *Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А.* Контроль и регуляция иммунного ответа. – Л.: Медицина, 1981. – 311 с.
99. *Дильман. В. М.* Эндокринологическая онкология. – Л.: Медицина, 1983. – 408 с.
100. *Васильев Н. В.* Программы функционирования систем иммунитета и их связь с проблемой онкогенеза // Вопросы экспериментальной и клинической онкологии. – Томск, 1982. – С. 7–24.
101. *Семеновский А. В.* О химиотерапии трофобластической болезни // *Вопр. онкологии*. – 1974. – **20**, № 2. – С. 93–96.
102. *Вендров Е. Л.* Влияние однократной и многократной беременностей на частоту возникновения первичных опухолей, вызванных вирусом SV-40 у сирийских хомячков / *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1977. – № 11. – С. 595–597.
103. *Броновицкий А. Ю., Лемешонок Л. С.* Воздействие антисывороток к тканям различных стадий эмбриогенеза на клетки асцитной гепатомы 22а и развитие опухоли у мышей СЗН // *Докл. АН БССР*. – 1975. – **19**, № 9. – С. 847–850.
104. *Pottathil R., Meier H.* Antitumor effects of RNA isolated from murine tumors and embryos // *Cancer Res*. – 1977. – **37**, N 9. – P. 3280–3286.
105. *Effect of immunization against human chorionic gonadotropin (LCG) on transplantation of Yoshida ascitic tumor* // *A. Bernardini, N. Corbino, P. G. Bapisarda et al. // Microbiologica*. – 1982. – **5**, N 4. – P. 383–388.
106. *Sjogren H. O.* Neuere Erkenntnisse tiber immunologische Kontrollmechanismen des Tumorwachstums // *Schweiz. med. Wochenschr*. – 1972. – **102**. – N 33. – S. 1152–1154.
107. *Бахтин Ю. Б., Пинчук В. Г., Швембергер И. Н., Бутенко З. А.* Клонально-селекционная концепция опухолевого роста. – Киев: Наук думка. – 1987. – 215 с.

Глава 2

КЛАССИФИКАЦИЯ, БИОХИМИЧЕСКАЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОПУХОЛЕВЫХ И ЭМБРИОНАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ

При беременности и развитии злокачественных опухолей в биологических жидкостях и тканях млекопитающих обнаруживается ряд соединений, получивших название маркерных. В настоящей главе будут упомянуты только те из них, биосинтез которых усиливается как при беременности, так и при раке. Имплантация зародыша в материнский организм, образование плаценты, рост и развитие плода – все эти события служат пусковым моментом и причиной появления многих метаболитов, которые можно сгруппировать по их биологической активности следующим образом [1]:

Биологически активные белки плаценты

<i>Гормоны</i>	<i>Иммунорегуляторные белки</i>
Хорионический гонадотропин Плацентарный лактоген Хорионический тиреотропин Хорионический кортикотропин Лютеинизирующий релизинг гормон Тиреотропин рилнзинг гормон Кортикотропин-релизинг-гормон Соматостатинподобная активность Релаксин	Плацентарный белок 15 (PP ₁₅) Ассоциированный с беременностью белок А (РАРР-А) Ассоциированный с беременностью β ₁ -микроглобулин Ассоциированный с беременностью α ₂ -Макроглобулин Трофобластспецифичный β ₁ -гликопротеин Фактор ранней беременности
<i>Ферменты</i>	<i>Транспортные и запасующие белки</i>
Термостабильная щелочная фосфатаза Диаминоксидаза Лейцинаминопептидаза Цистинаминопептидаза 17β- Оксистероид дегидрогеназа Глутатион-S-трансфераза (PP ₇) α-Галактозидаза β-Глюкозидаза β-Гексозаминидаза Протрансглутаминаза	Трансферрин Ферритин Лактоферрин Кальцийсвязывающий белок
<i>Активаторы</i>	<i>Рецепторные белки</i>
Колонийстимулирующие факторы Активатор плазмипогена	Трансферрина Инсулина Соматомедина Транскобаламина 11 Имуноглобулина G (Fcγ) Лютеинизирующего релизинг гормона Эпидермального фактора роста
<i>Ингибиторы</i>	<i>Структурные белки</i>
Урокиназ Рибонуклеаз Протеаз (PP ₅), α ₂ -М, РАРР-А, АБГ	Коллагены Фибронектин Фибрин (оген) Ламинин Протеогликаны

Таблица 2. Локализация маркерных соединений, общих для беременности и развития опухоли (по данным литературы)

Название	Обозначение	Здоровый организм		Беременность			Эмбрион плода	Опухоленоситель	
		Кровь	Ткань	Кровь материнского организма	Плацента			Кровь	Ткань
					децидуа	трофобласт			
Трофобластический β -1-гликопротеин	ТБГ	Следы	–	+++		+	–	+	+
Плацентарный белок-5	PP-5	–	–	++	–	+	–	+	+
Плацентарный белок-10	PP-10	Следы	Нет данных	+++	+	+	Нет данных	+	+
Плацентарный белок-11	PP-11	–	То же	Нет данных	Нет данных	+	То же	Нет данных	+
Плацентарный белок-12	PP-12	Следы	» »	++	+	+	» »	+	+
Ассоциированный с беременностью белок плазмы А	РАРР-А	–	+	Нет данных	+	+	» »	Нет данных	+
Белковый фактор фертильности	БФФ	–	+	То же	+	Нет данных	–	+	+
Онкомодулин	–	–	Нет данных	+		+	–	+	+
Хорионический гонадотропин	ХГ	–	То же	+	То же	+	Нет данных	+	+
Плацентарный лктоген	ПЛ	–	» »	+	+	+	То же	+	+

Альфа-фетопроtein	АФП	Следы	–	+	Нет данных	Нет данных	+	+	+
Раковоэмбриональный антиген	РЭА	Нет данных	Нет данных	–	То же	То же	+	+	+
Ассоциированный с беременностью α_2 -гликопротеин	АБГ	Следы	То же	+++	+	» »	Нет данных	+	Нет данных
Плацентарная щелочная фосфатаза	ПЩФ	Нет данных	+	Нет данных	Нет данных	+	То же	+	То же
Лейцинаминопептидаза	ЛАП	+	++	То же	То же	+	» »	+	» »
Диаминооксидаза	ДАО	Следы	+	+++	+	–	» »	+	+++
Полиамины	ПА	+	+	++	++	++	++	++	++
α_2 -Макроглобулин	α_2 -М	+	+	+++	Нет данных	+	Нет данных	+	+

Примечание. Знак – – отсутствует (не определяется); + – присутствует; ++ – содержание увеличено; +++ – содержание значительно увеличено.

Перечисленные соединения – преимущественно белки, функция которых в настоящее время более или менее обоснована. Описаны и выделены [1] из плаценты млекопитающих многие другие белки неизвестной биологической значимости. Биологически активные соединения, специфичные для беременности, ассоциирующиеся с беременностью или обнаруживаемые в повышенных по сравнению с нормой концентрациях, определяют в кровотоке материнского организма, в биологических жидкостях, в тканях плаценты, эндометрия и эмбриона.

В табл. 2 представлена немногочисленная группа соединений, появление которых в организме в повышенных количествах описано как при беременности, так и при развитии злокачественных опухолей. Ассоциированные с опухолевым ростом белки, не обнаруженные при беременности, мы не рассматриваем.

2.1. Морфологические особенности процесса плацентации

Процессы роста эмбриона и злокачественной опухоли имеют много общих признаков. Прежде всего это быстро развивающиеся процессы, которым свойственно морфологическое подобие, способность к имплантации, инвазии, метастазированию, а также иммунная толерантность к ним организма. Зная функцию маркерного белка, обнаруживаемого при беременности, его локализацию в ткани плаценты, можно рассуждать, какую возможную роль он играет при выработке его в организме-опухоленосителе, в эктопическом локусе его образования. При рассмотрении функции метаболитов, появляющихся или усиленно продуцирующихся при беременности, очень важно понять, какая популяция клеток синтезирует или запасает то или иное биологически активное вещество. Это даст возможность определить функции зародышевой ткани и функции метаболита.

Имплантация зародыша у человека сопровождается процессами плацентации, обеспечивающими взаимосвязь тканей эмбриона и материнского организма (рис. 6). Из клеток, окружающих полость бластоцисты, развивается трофобласт. Стромальные фибробласты эндометрия материнского организма подвергаются трансформации и дают начало децидуальной популяции клеток. Взаимоотношения между децидуализированным эндометрием и растущим трофобластом регулируют процесс инвазии эмбриона в эндометрий и контролируют пролиферацию последнего. Нам представляется очень важным проследить формирование этих двух популяций клеток в плане проявления их свойств с помощью вырабатываемых ими биологически активных веществ по мере развития беременности.

Имплантация бластоцисты в стенку рога матери у крысы начинается на 6-е сутки развития, фагоцитирующая активность свойственна первичным

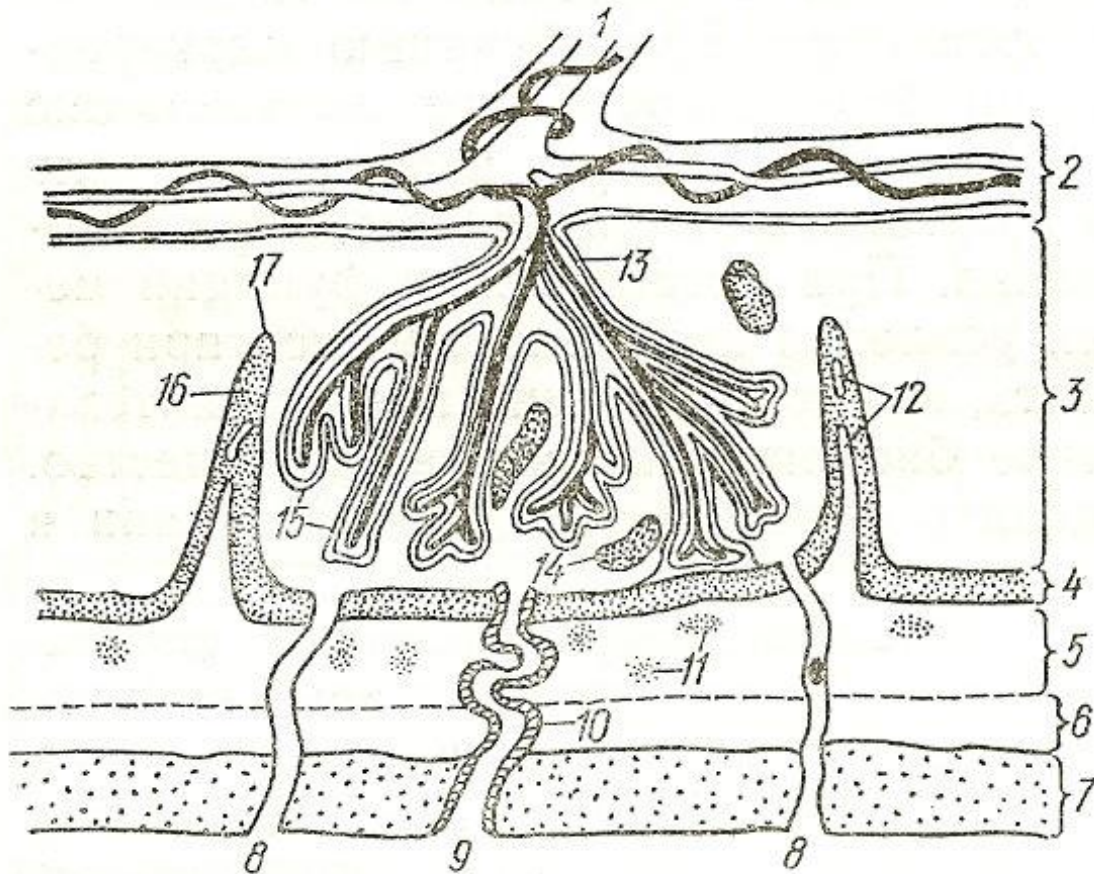


Рис.7. Детальная структура плацентарной долики (цит. по Ranigel, 1985):

1 – пупочный канатик; 2 – хориальная пластинка; 3 – межворсинчатое пространство; 4 – цитотрофобласт базальной пластинки; 5 – децидуа базальной пластинки; 6 – глубокая децидуа; 7 – миометрий; 8 – маточно-плацентарная вена; 9 – маточно-плацентарная спиральная артерия; 10 – внутрисосудистый трофобласт; 11 – интерстициальные клетки цитотрофобласта; 12 – децидуальная часть перегородки; 13 – синцитиотрофобласт хорионических ворсинок; 14 – островковые клетки цитотрофобласта; 15 – хорионические ворсинки; 16 – цитотрофобласт дольчатой перегородки; 17 – междольчатая перегородка

Что касается инвазивности (пожалуй, основного свойства трофобласта), то она проявляется у крысы только в первые 5–6 сут. Способность к инвазии и фагоцитозу это те особенности клеток трофобласта, которые делают сравнение отдельных звеньев их метаболизма при беременности ценными при проведении аналогий со злокачественным ростом.

При гемакхориальной плаценте, как у человека, трофобласт непосредственно проникает в материнские кровеносные сосуды. В то же время трофобласт – это единственная и очень сложная (рис. 7) фетальная ткань, которая контактирует с

клетками материнского организма. При беременности у человека для усиленной имплантации необходимо взаимодействие цитотрофобласта со спиральными артериями матки, при этом трофобласт замещает эндотелий этих артерий [2].

2.2. Локализация маркеров беременности по разделам плаценты

Плацента представляет собой высокоспециализированный орган и в то же время это наиболее комплексная ткань. Ткань плаценты не имеет аналогов в организме млекопитающих как по сложности строения (рис. 8), так и по набору вырабатываемых ею метаболитов. И хотя цитология отдельных разделов плаценты изучена достаточно подробно [2], очевидно, что совершенствование современные иммунохимических, цитохимических и радиоиммунных методов будет способствовать уточнению и получению новых данных о локализации и выработке многих биологически значимых соединений.

Наиболее изучена белковая продукция синцитиотрофобласта. Слой клеток синцитиотрофобласта окружает хорион и создает условия для контакта кровообращения матери и плода. Поскольку это ткань фетального происхождения, она образует и содержит метаболиты, кодируемые как материнскими, так и отцовскими генами. Наиболее логично предполагать, что именно в этом слое должны быть сосредоточены механизмы толерантности к полуаллогенному трансплантату, каковым является плод.

Синцитиотрофобласт находится на границе с материнским кровотоком и содержит большое количество рецепторов к сывороточным белкам, поэтому данные иммунохимического анализа не всегда можно оценить однозначно. Эпителий синцитиотрофобласта поляризован. Имеются различия в ультраструктуре, локализации и функции апикальной плазматической мембраны микроворсинок и базальной плазматической мембраны [3]. На плазматической мембране микроворсинок обнаруживают сывороточные белки. По всей вероятности, это связано с тем, что поскольку *in vivo* она находится в прямом контакте с материнским кровотоком, то содержит рецепторы к этим белкам. Обнаружены рецепторы к IgG, трансферрину, липопротеидам низкой плотности и транскобаламину [3–6]. Базальная мембрана прямо не контактирует с кровью, она отделена от фетальной крови внеклеточным матриксом и эндотелием. Поэтому трансферрин в составе базальной мембраны рецепторсвязанный [6], а IgG – в состоянии транцитоза при переносе его к плоду. Базальная плазматическая мембрана синцитиума содержит белки, участвующие во взаимодействии с внеклеточным матриксом, в частности фибронектин [4].

Фракция плазматических мембран синцитиотрофобласта всегда содержит ХГ и ПЛ. Однако неясно, являются эти белковые гормоны интегральной частью синцитиотрофобласта или они рецепторсвязанные [4]. Определен липидный

состав фракции плазматических мембран синцитиотрофобласта, в котором преобладают фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин и сфингомиелин, и углеводное содержание – озамины, сиаловые кислоты, галактоза, глюкоза, фукоза и манноза [4]. Обнаружение в составе синцитиотрофобласта таких белков, как альбумин, трансферин, АФП, IgG, ХГ, ПЛ, обладающих иммуномодулирующей активностью, еще раз подтверждает важность синцитиотрофобласта в обеспечении механизмов иммунной толерантности [4–9].

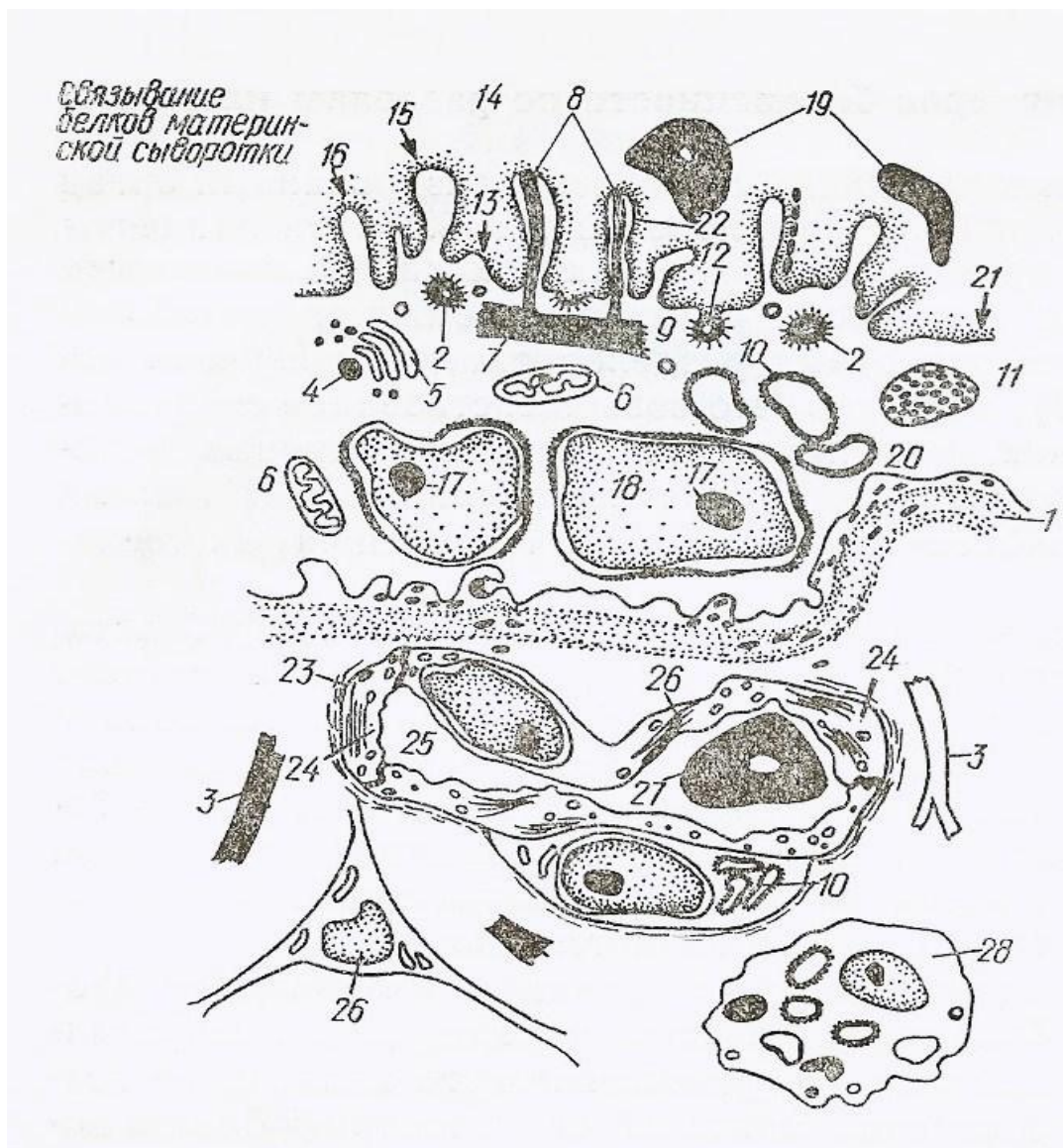


Рис. 8. Ультраструктура плацентарной мембраны человека (цит. по Ranigel, 1985):

1 – базальный слой; 2 – везикула; 3 – коллаген; 4 – стероид; 5 – аппарат Гольджи; 6 – митохондрия; 7 – скелет синцитиотрофобласта; 8 – микрофибриллы; 9 – микротрубочки; 10 – эндоплазматический ретикулум; 11 – лизосома; 12 – микрокрипта; 13 – рецепторы инсулина; 14 – межворсинчатое пространство; 15 – трансферин; 16 – лектин; 17 –

нуклеолы; 18 – ядро синцитиотрофобласта; 19 – клетки материнской крови; 20 – ламинин; 21 – сиалогликопротеин; 22 – микроворсинки; 23 – околососудистая оболочка; 24 – эндотелии; 25 – просвет fetalного капилляра; 26 – фибробласты; 27 – fetalный форменный элемент; 28 – клетка Хофбауэра.

Аналогии с трофобластом, возможно, будут полезны при рассмотрении механизмов инвазии опухолевых клеток в окружающие ткани. Что касается защитных механизмов от инвазии и имплантации зародыша, то носители этих свойств локализованы скорее всего в децидуальной ткани. До образования плаценты, когда зародыш питается гистотрофным путем, децидуальные клетки участвуют в питании зародыша. При переходе к гемотрофному, питанию, с образованием плаценты, децидуальные клетки выполняют главным образом барьерную и эндокринную функции.

Многочисленные исследования показали, что различные иммунологические реакции супрессируются при беременности или супрессируются сывороткой беременных женщин [10]. Супрессии подвергаются реакция смешанных лейкоцитов [11], натуральная киллерная активность [12], бластогенез лимфоцитов лектинами *in vitro* [13]. Ослабление специфического иммунитета компенсируется усилением иммунитета неспецифического. Так, при беременности наблюдался усиление фагоцитирующей и бактерицидной активности нейтрофилов и макрофагов [14, 15], увеличивается выработка антител к специфическим антигенам [16], активируется система комплемента [17], возрастает образование интерферона, повышается противовирусная активность сыворотки даже в отсутствие индуцирующих стимулов [18]. Хотя механизмы иммунных реакций не всегда идентифицированы в достаточной степени, известно, что осуществляются они в условиях увеличенного белкового синтеза. Частичную ответственность за это увеличение может нести повышенный уровень эстрогенов при беременности. Гормональный фон беременности изучен достаточно подробно. Что касается механизмов регуляции метаболизма с участием гормонов, здесь много неизученного. Например, ХГ и ПЛ всегда обнаруживаются во фракции плазматических мембран синцитиотрофобласта зрелой плаценты, где они являются их интегральной частью [19], а в сыворотке беременных концентрация ХГ снижается к концу первого триместра [20]. Установлено также [21], что ХГ, один или в комбинации с фактором(ами), секретиремым(и) трофобластом первого триместра, *in vitro* угнетает белковый синтез в децидуальных эксплантатах такого же срока беременности.

Таким образом, механизмы иммунологической защиты плода и усиление механизмов неспецифического иммунитета опосредуются с помощью конкретных биохимических носителей, во многих случаях еще не идентифицированных. После родов, когда плацента элиминируется, клеточно-

опосредованный иммунитет возвращается к норме [22].

2.3. Классификация белков беременности

Предпринят ряд попыток классифицировать маркерные вещества, ассоциированные с беременностью и неопластическим ростом у животных и человека, по их биологической активности, физико-химическим свойствам, специфичности и месту выработки [1, 23–27]. Определенным шагом в понимании функциональной значимости маркерных соединений, общих для указанных состояний, может служить место их обнаружения, так как то или иное соединение появляется в организме только тогда, когда есть необходимость, и обнаруживается в тех тканях, где его биологическая активность должна быть реализована. При этом естественно ожидать, что данные факторы присутствуют в кровотоке как в системе транспорта.

В табл. 2 обобщены данные литературы о локализации наиболее изученных маркерных соединений, общих для беременности и развития злокачественных опухолей. Несколько условно рассматриваемые соединения можно сгруппировать таким образом: 1) общие для трофобласта и ткани опухоли; 2) обнаруживаемые у плода, в материнском кровотоке и крови опухоленосителей; 3) обнаруживаемые только в кровотоке при беременности и развитии опухолей, 4) обнаруживаемые в тканях и крови практически здоровых лиц, но выработка которых значительно возрастает при беременности и развитии опухолей.

2.4. Характеристика маркеров, общих для развития беременности и рака

2.4.1. Трофобластический бета-1-гликопротеин (ТБГ)

Впервые этот белок был обнаружен Ю. С. Татариновым и соавт. в 1970 г. [28] и назван трофобластическим бета₁-гликопротеином (ТБГ). Синонимы: бета₁-глобулин зоны беременности, ассоциированный с беременностью белок плазмы С (РАРР-С), специфичный для беременности гликопротеин (SP₁). С 1978 г. в зарубежной литературе принято последнее название.

Первичная структура ТБГ определена – это гликопротеин, содержащий около 30 % углеводов. Молекулярная масса протомера 42,3 кД [29]. При физиологических значениях рН и ионной силы ТБГ существует в форме олигомеров, которые очень медленно диссоциируют при разбавлении [307]. Коэффициент экстинкции $E_{1\text{см}}^{1\%}$ (278 нм) составляет 11,2–12,1 [10]. Изoeлектрическая точка между 3,8 и 4,15. Белок стабилен при 60 °С в течение 30 мин, при 0 °С – в течение 120 мин (рН 4–10), но нестабилен при рН 2 [31].

У небеременных женщин ТБГ обнаруживается в сыворотке крови в очень низких концентрациях – от 0,2 до 5 мкг/л, он определяется также в полиморфноядерных нейтрофилах и в культуре фибробластов человека [32]. В других тканях здорового человека ТБГ не обнаружен.

ТБГ выделен как из плаценты, так и из плазмы беременных женщин. Концентрация ТБГ в сыворотке беременных очень высока – 100–290 мг/л, что почти в двадцать раз выше содержания хорионического гонадотропина и хорионического соматомаммотропина. Значение ТБГ для беременности в настоящее время неизвестно. Установлено, однако, что он является обязательным белком сыворотки беременных.

При беременности, кроме основного, в сыворотке обнаруживают еще по крайней мере три вторичных компонента белка: один с γ - и два с α_2 -электрофоретической подвижностью, соответственно $SP_1(\gamma)$, $SP_1(\alpha_2^2)$ и $SP_1(\alpha_2)$ [33]. Белок, антигенно родственный ТБГ, был выделен также из мочи беременных. Его молекулярная масса 65,0 кД, изоэлектрическая точка – от 3,5 до 5,5. Считают, что это продукт расщепления ТБГ [34]. По другим данным, в моче беременных женщин обнаруживается два компонента, перекрестно реагирующих с антителами к ТБГ с изоэлектрической подвижностью в зоне β -компонентой [33].

Сведения об обнаружении ТБГ в сыворотке больных со злокачественными и доброкачественными опухолями многочисленны и противоречивы; это же справедливо и в отношении гомогенатов данных опухолей. ТБГ в сыворотке крови онкологических больных впервые был обнаружен Ю. С. Татариновым и соавт. [35] у пациентов с трофобластическими опухолями. У таких больных в сыворотке крови обнаруживается как ТБГ, так и ХГ. Информативным оказалось соотношение концентраций ТБГ и ХГ, которое для хориокарциномы составляет 0,3, для инвазивного заноса – 1,5, а для пузырьного – 10,9 [33]. При эффективном лечении количество обоих белков уменьшалось примерно с равной скоростью и нормализовалось при наступлении ремиссии. Оба маркера – чувствительные индикаторы остаточной опухолевой активности, хотя у некоторых пациентов может обнаруживаться только один из них. Считают, что ТБГ – более информативный маркер трофобластического остаточного опухолевого роста, особенно когда очень низкие значения содержания β -ХГ указывают на наличие остаточной болезни [36]. Соотношение массовых концентраций ТБГ и ХГ, возможно, связано со степенью дифференцировки трофобластических клеток и обычно повышается после курса химиотерапии, отражая более высокую степень дифференцировки.

Наблюдаемая при беременности молекулярная гетерогенность ТБГ продемонстрирована также в сыворотке пациентов с трофобластическими опухолями [35]. При некоторых несеминомах половых желез ТБГ обнаружен и в плазме, и в тканях. Незначительное повышение уровней ТБГ наблюдали в сыворотке и в тканях пациентов со злокачественными не трофобластическими опухолями и в не связанных с половыми клетками

опухолях [33].

Биологическое значение присутствия ТБГ в опухолях неизвестно. Выживаемость женщин, у которых с помощью иммуногистохимического метода не обнаруживали ТБГ в тканях при раке молочной железы, была значительно большей по сравнению с таковой у пациенток, у которых он был найден. В гомогенатах низкодифференцированных карцином концентрация ТБГ была выше, чем в гомогенатах хорошо дифференцированных.

Иммунологически перекрестно реагирующие аналоги ТБГ человека обнаружены у обезьян и мышей [24]. В ТБГ пока не найдены эпитопы общие с другими белками и гормонами.

2.4.2. Плацентарный белок 5 (PP-5)

В физико-химическом отношении PP-5 – гликопротеин с коэффициентом седиментации 2,8 и молекулярной массой 36 кД; углеводный компонент – 19,8 %, изоэлектрическая точка при 4,6,; имеет β_1 -электрофоретическую подвижность [37]. PP-5 в небольшом количестве (15 мг на зрелую плаценту) присутствует в тканях плаценты, локализован в цитоплазме синцитиотрофобласта; не обнаружен в других тканях [37].

PP-5 можно обнажить в материнском кровотоке в незначительном количестве начиная с 8-й недели беременности. Затем его уровень постепенно повышается, достигая максимума (100 мкг/л) к 34–35-й неделе, а после 40-й недели снижается. Быстрое уменьшение концентрации происходит в течение 5–10 мин после родов. Время его полужизни в материнском кровотоке – 15–30 мин [38]. Считают, что биологическая функция этого белка связана с коагуляционной и фибринолитической системами при беременности. Показано, что PP-5 угнетает активность трипсина и плазмина, что, возможно, связано с его биологической функцией – ингибированием активности пролеаз [37]. По некоторым данным [39], PP-5 может быть аналогом антитромбина-III, кофактора гепарина в плазме. PP-5 иммунологически взаимодействует с урокиназным ингибитором [40].

Показано, что содержание PP-5 и ПЛ всегда выше в ретроплацентарной крови по сравнению с периферической. И наоборот, уровни ТБГ чаще всего ниже в ретроплацентарной крови, чем в периферической. Соотношение содержания в ретроплацентарной и периферической крови составляет для PP-5 4,18, для ПЛ 3,97, для ТБГ 1,07 [41].

Установлено присутствие PP-5 в цитоплазме опухолевых клеток у 63 % больных раком молочной железы, у 75 % злокачественными заболеваниями семенников и у 42 % больных раком желудка [26]. При опухолях яичников PP-5 был обнаружен у 78 % больных цистаденокарциномой и не найден в нормальных яичниках.

В гомогенатах злокачественных и доброкачественных опухолей молочной железы PP-5 обнаружен у 55 % проверенных больных со

злокачественным характером опухоли и у 71 % с доброкачественными опухолями. Однако в сыворотке крови таких больных уровень РР-5 не был повышен [26].

2.4.3. Плацентарные белки (РР-10, РР-11, РР-12)

Растворимые белки ткани плаценты мало изучены, их биологическая функция не установлена. Для РР-12 определен аминокислотный состав, в котором сравнительно высоко содержание треонина и пролина, углеводов – 4,3%. Белок имеет две полностью различные антигенные детерминанты, дающие две отдельные линии преципитации. Природа этого различия пока неясна принадлежат они одной полипептидной цепи или белок имеет субъединичную структуру и т. п. РР-12 иммунологически идентичен хорионическому α_1 -микроглобулину, обнаруженному Д. Д. Петруниным и соавт. [42]. Этот же белок обозначен Ю. А. Петруниной как плацентаспецифичный α_1 -микроглобулин [42].

Аминокислотный состав белков РР-10 и РР-11 относительно богат глутаминовой и аспарагиновой кислотами, лейцином, серином, аланином и глицином, углеводов – соответственно 6,6 и 3,9%. Другие физико-химические свойства РР-10, РР-11 и РР-12 представлены в табл. 3, содержание их в биологических жидкостях и тканях – в табл. 4.

В нормальной сыворотке обнаруживаются следы РР-10 и РР-12, РР-11 нет. Эритроциты и лимфоциты не содержат этих белков. Моноциты иногда, а цитоплазма гранулоцитов всегда окрашивалась положительно на присутствие РР-10 и РР-12. Высказано предположение, что РР-10 и РР-12 синтезируются гранулоцитами нормальной крови или аккумулируются в них [26]. Следовательно, они, возможно, не являются строго специфичными для трофобласта.

Таблица 3. **Физико-химические свойства [37] плацентарных белков PP-10, PP-11, PP-12**

Белок	Электрофоретическая подвижность	pI	Коэффициент седиментации	Молекулярная масса, кД	$E_{1\text{ см}}^{1\%}$ при 280 нм
PP-10	α_1	5,1	3,8	48,0(1) 65,0(2)	10,9
PP-11	α_1	5,1–5,2	3,5	44,3(1) 62,0(2)	13,4
PP-12	α_1	4,6–4,7	2,7	25,2(1) 51,0(2)	13,6

Примечание. Коэффициент седиментации выражен в единицах Сведберга (S); молекулярная масса (1) – по данным ультрацентрифугирования, (2) – по данным SDS-электрофореза в полиакриламидном геле.

Таблица 4. **Концентрация плацентарных белков [37] в жидкостях тела и плаценте человека**

Жидкость, ткань	PP-10	PP-11	PP-12
Сыворотка крови (норма)	0,006	Не обнаружен	♀0,019 ♂0,013
Сыворотка материнского организма (перед родами)	3,5	<1	0,17
Сыворотка пуповины	~0,01	<1	<1
Амниотическая жидкость	0,6	<1	40*
Ткань плаценты	33,0	18,0	8,0

Примечание: Концентрация в жидкости: PP-10 – м-ед./л, PP-11 и PP-12 – мг/л; в ткани – мг/г серой массы; * на 20-й неделе беременности.

При беременности концентрация PP-10 в сыворотке возрастает более чем в 100 раз, тогда как для PP-12 это увеличение менее выражено. Считают, что колебания содержания PP-10 при отклонениях в течение беременности более информативно, чем значения ТБГ. Сведения о концентрации PP-12 не представляют ценности в мониторинге беременности.

Локализованы плацентаспецифичные тканевые белки в синцитиотрофобласте плаценты. Для белков PP-10 и PP-12 дополнительное сильное окрашивание наблюдали в цитоплазме и ядрах гистиоцитов, обнаруживаемых в амниотической и децидуальной ткани. Эти гистиоциты

иногда находят в межворсинчатом пространстве.

Содержание РР-10 и РР-12 в сыворотке крови у больных с опухолями часто повышено. У 85 % больных раком молочной железы и всех пациентов с карциномой гениталий концентрация РР-10 в сыворотке была повышенной [26]. Для РР-12 таких данных нет.

В опухолевых тканях нетрофобластического происхождения эти белки были обнаружены в 55,6% (РР-10); 38,0 (РР-11) и 31,9 % (РР-12) случаев. При аденокарциномах яичников чаще обнаруживался РР-11 (57,1%), затем РР-12 (23,8%) и РР-10 (9,5%). РР-11 обнаруживали как в нормальном, так и в неопластическом синцитиотрофобласте.

2.4.4. Ассоциированный с беременностью белок плазмы А (РАРР-А)

Впервые описан в 1974 г. [43]. Обнаружен при беременности в кровотоке материнского организма на 28-е сутки после оплодотворения, количество его экспоненциально нарастает в течение беременности [44]. Концентрация РАРР-А достигает 320 мг/л. Белок обнаружен также у небеременных женщин в фолликулярной жидкости яичников на всех стадиях развития вплоть до овуляции [45], в перитонеальной жидкости [46], при трофобластических болезнях [47] и у мужчин в плазме семенников [48]. В норме в крови не обнаруживается, а продуцируется исключительно интрафолликулярно. У беременных женщин РАРР-А иммуногистохимическим методом определяется в децидуальных клетках [49], а также в виде тонкой полоски на апикальных тельцах синцитиотрофобласта и в цитоплазме [44]. Секретируется в материнский кровоток трофобластическими клетками, что подтверждается исследованиями в культуре [50], прямым определением в ткани [51], а также иммуногистохимически [52].

РАРР-А – высокомолекулярный димерный Zn^{2+} -гликопротеин с молекулярной массой 800 кД и электрофоретической подвижностью в зоне α_2 -глобулинов [53], 19,2 % молекулы составляют углеводы.

Фолликулярный РАРР-А иммунологически и физико-химически идентичен белку беременности. Он специфически ингибирует эластазу гранулоцитов, протеазу, специфически гидролизующую коллаген базальной мембраны. При этом не влияет на плазмин, трипсин, химотрипсин или коллагеназу [45]. Следует подчеркнуть, что фолликулярная жидкость яичников содержит как протеазы, так и их ингибиторы. Это, в частности, α_2 -макроглобулин [53], РАРР-А и еще примерно десяток других, но только РАРР-А в норме в периферическом кровотоке не обнаруживается. В то же время коллагеназа, гидролизующая коллаген, является ключевым ферментом в освобождении ооцита, так как гидролизует клеточную стенку преовуляторного фолликула [54]. И хотя механизм участия РАРР-А в качестве ингибитора протеазы в жизнедеятельности преовуляторного фолликула неизвестен, вероятно, он вносит свой вклад в поддержание протеолитического гомеостаза

внутри фолликула и в перитонеальной полости в постовуляторный период, тем более что концентрация PAPP-A повышается на протяжении фолликулярных фаз, достигая максимума в период перед овуляцией [45].

Присутствие PAPP-A в эндометрии в момент имплантации зародыша, учитывая антипротеазную функцию этого белка, наводит на мысль об участии его в процессе имплантации. Кроме того, присутствие здесь PAPP-A совпадает по времени и месту с обнаружением PP-12, PP-14 и релаксина [6], функция которых при беременности также неизвестна. Тем не менее присутствие этих белков вблизи оплодотворенного яйца в эндометрии зарегистрировано и не может быть случайным. PAPP-A – чувствительный диагностический маркер гибели плода, причем количество этого белка уменьшается за несколько недель до клинических проявлений [55].

Таким образом, основная функция PAPP-A – способность специфически и неконкурентно ингибировать эластазу лейкоцитов [54]. Исходя из этого, можно предполагать, что PAPP-A участвует в создании местного антилейкоцитарного барьера на границе между материнским организмом и плацентой. В создании системного иммуносупрессивного барьера [45] наряду с ингибиторами протеаз (PAPP-A) участвуют такие иммуносупрессивные факторы, как фактор ранней беременности [56] и белок зоны беременности [57]. Они могут действовать одновременно, создавая барьер материнским защитным механизмам.

В настоящее время есть только одно сообщение [58] о специфическом синтезе *in vitro* PAPP-A нетрофобластическими опухолевыми зернистыми клетками. Белок, продуцируемый зернистыми опухолевыми клетками, иммунологически идентичен белку беременности и фолликулярному PAPP-A из яичников. Фолликулярная базальная мембрана сохраняет структурную целостность при наличии интрафолликулярных ингибиторов и тем самым ограничивает распространение опухолевого процесса в пределах фолликулярного микроокружения. А при сниженной экспрессии протеазных ингибиторов или при относительном увеличении активности протеаз структурная целостность фолликулярной базальной мембраны нарушается, что может послужить пусковым моментом для роста опухоли и метастазов [58].

2.4.5. Белковый фактор фертильности (БФФ)

БФФ – сиалогликопротеид, содержащий 17,5 % углеводов (гексозы, гексозамины, фукозу, сиаловые кислоты). Молекулярная масса 25 кД для мономерной и 42 кД для димерной формы. Изoeлектрическая точка 4,6 [59].

БФФ обнаруживают в децидуальной ткани плаценты (в среднем $407,6 \pm 26,2$ мкг/мл экстракта) и в амниотической жидкости ранних сроков беременности; у плода не найден [24]. У здоровых людей БФФ можно обнаружить только в репродуктивных органах, например в эндометрии

женщин в секреторную фазу менструального цикла, в сперме и семенных пузырьках у мужчин (в среднем $23,0 \pm 3,0$ мкг/мл). БФФ продуцируется с различной интенсивностью в зависимости от этапов дифференцировки эндометрия. Появление этого белка в циркуляции может служить показателем перехода эндометрия из фазы пролиферации в фазу секреции. Иммунохимически БФФ идентичен плацентарному белку PP-14. Другие синонимы: ХАГ-2, РАМg-2, АМГФ; у кроликов аналогом является утероглобин. Аналогом БФФ может считаться также прогестоген-ассоциированный белок эндометрия (PER), который, предположительно, также синтезируется эндометрием. Иммунохимически он идентичен альфаматочному белку – АИР [59].

Содержание БФФ в плаценте к III триместру значительно уменьшается, а из амниотической жидкости он вообще исчезает. В материнском кровотоке регистрируется только в I триместре, когда наблюдается максимальная выработка его плацентой. Предполагают, что синтез БФФ при беременности регулируется хорионическим гонадотропином, а у небеременных женщин – лютеинизирующим гормоном гипофиза. БФФ обладает ферментативной активностью фосфолипазы A_2 – ключевого фермента биосинтеза простагландинов, освобождая из фосфолипидов арахидоновую кислоту. Другие авторы [24] полагают, что БФФ участвует в инактивации простагландинов. БФФ играет важную роль в репродуктивной функции человека как обязательный фактор для процессов оплодотворения и развития беременности.

БФФ обнаруживается в крови больных с опухолями репродуктивных органов – матки, яичников, хорионэпителиоме. Частота обнаружения БФФ при этой локализации 5–12 % [59].

2.4.6. Онкомодулин

Онкомодулин (кальмодулинподобный) – кальцийсвязывающий белок с молекулярной массой 11,5 кД, имеет два Ca^{2+} -связывающих центра на молекулу. Ни в одной нормальной ткани человека и грызунов онкомодулин не обнаружен. Его также не находят в фетальных органах крысы [60]. Присутствие онкомодулина продемонстрировано на всех стадиях беременности в популяции клеток цитотрофобласта. Обнаружен также в клеточных линиях хорикарциномы человека [61].

Клетки, положительно окрашивающиеся на присутствие онкомодулина, были, кроме того, идентифицированы в трофобласте амниохориона [62] и в промежуточном трофобласте – образовании, отличающемся от цитотрофобласта и синцитиотрофобласта [63]. У крыс онкомодулин синтезируется плацентой (базальной зоной или спонгиотрофобластом и лабиринтом), парьетальным желточным мешком и амнионом [64]. Онкомодулин обнаружен также в висцеральном желточном мешке, хотя синтез

его в этом локусе не доказан.

В плаценте человека онкомодулин, по-видимому, ограничен цитотрофобластом, включая экстраворсинчатый цитотоофобласт или промежуточный трофобласт. Онкомодулин можно считать маркером цитотрофобласта [65]. Обнаружение онкомодулина в высокопролиферативных и инвазирующих клетках цитотрофобласта дает основание предполагать участие этого белка в указанных процессах. Ген онкомодулина активируется рано, на стадиях пролиферации и инвазии зародыша. Однако биологическая функция онкомодулина при нормальном развитии плаценты так же неизвестна, как и повторная экспрессия ею при неоплазии. Появление онкомодулина в клеточных линиях хориокарциномы не является неожиданным, поскольку он обнаружен в разных опухолевых тканях.

Кальцийсвязывающий белок гораздо большего размера, чем онкомодулин, с молекулярной массой 150 кД обнаружен в цитотрофобласте и синцитиотрофобласте хорионических ворсинок [66]. Хотя биологическая функция этого белка в клетке неизвестна, но установлена его способность модулировать активность кальмодулинзависимой фосфодиэстеразы [67].

Впервые онкомодулин обнаружен в гепатоме Морриса, затем идентифицирован во многих других опухолях грызунов, индуцированных различными канцерогенами, онкогенами, ДНК- и РНК-содержащими вирусами [67]; обнаружен также в крови животных-опухоленосителей [68]. У человека онкомодулин выявлен в опухолевых клетках мочевого пузыря, молочной железы, шейки матки, прямой кишки, гортани, печени, легких, кожи и языка.

Судя по содержанию онкомодулина в трансформированных клетках, он, подобно кальмодулину – универсальному Са-связывающему белку, по-видимому, может участвовать в регуляции пролиферации клеток. Тот факт, что количество клеточного кальмодулина также сильно увеличивается при неопластической пролиферации, дает основание для предположения, что изменения общей Са-связывающей активности клетки могут быть важными для экспрессии трансформированного фенотипа.

Аминокислотные составы плацентарного онкомодулина человека и крысы сходны как между собой, так и с аминокислотным составом онкомодулина из опухолей человека и грызунов. В картах триптических пептидов плацентарных онкомодулинов двух видов и полученных из опухолевой ткани гепатомы крыс обнаружено сходство, что свидетельствует об эволюционной консервативности аминокислотного состава этого белка.

2.4.7. Хорионический гонадотропин (ХГ)

Гликопротеидный гормон, имеющий четвертичную структуру, состоит из двух субъединиц – α - и β -, нековалентно связанных между собой. α -Субъединица состоит из 92 аминокислот, она идентична α -субъединице

лютеинизирующего гормона, фолликулстимулирующего гормона и тиреотропина (тиреоидстимулирующего гормона) гипофиза. β -Субъединица специфична для ХГ, она состоит из 145 аминокислот и содержит от 5 до 6 олигосахаридных боковых цепей. 115 N-концевых аминокислот сходны с аналогичной цепью лютеинизирующего гормона, а 30 других индивидуальны для β -субъединицы ХГ. Они также связываются с одними рецепторами в яичниках и семенниках [69]. α -Субъединица кодируется одним геном на хромосоме 18 у человека [70]. Гены, способные экспрессировать β -субъединицы, сгруппированы на хромосоме 19. Имеются семь таких генов для β -ХГ и только один ген кодирует α -субъединицу лютеинизирующего гормона. Вероятно, этим и обусловлена более частая экспрессируемость ХГ в опухолях и то, что чаще это β -субъединица.

ХГ обнаруживают в материнской сыворотке на 6–10-е сутки после оплодотворения, начиная с того момента, когда яйцо достигает стадии бластоцисты, на ранних стадиях имплантации и еще через 1–2 сут в моче. При беременности ХГ синтезируется клетками синцитиотрофобласта [71]. Концентрация ХГ в амниотической жидкости коррелирует с таковой в сыворотке крови, хотя и составляет величину, на 1–2 порядка меньшую.

Биологическая роль ХГ при беременности заключается в регуляции овариальной функции посредством влияния на процессы гаметогенеза и синтеза стероидных гормонов в гонадах [70]. Гормональная активность такого характера проявляется при условии специфического нековалентного взаимодействия α - и β -субъединиц [69]. Исследования *in vitro* децидуальных эксплантатов показали, что ХГ, возможно, причастен к регуляции белкового синтеза в культуре ткани [21].

ХГ имеет диагностическое значение. Отклонения от минимального уровня в 1–3 ед/мл, определяемого в сыворотке крови мужчин и небеременных женщин, являются прогностическими. Снижение количества наблюдают при внематочной беременности и угрожающем выкидыше. Трофобластические неоплазмы, как доброкачественные, так и злокачественные, вызывают увеличение содержания ХГ в сыворотке крови [71]. При пузырьном заносе, хориокарциноме, семиномах, тератомах яичника и яичек концентрация ХГ в сыворотке повышается, достигая максимума при хориокарциноме (порядка 100 тыс. ед/мл).

ХГ был найден в сыворотке крови пациентов с разнообразными опухолями незародышевых клеток (гепатомами и аденокарциномами поджелудочной железы, желудка и др.). Однако частота обнаружения ХГ в этих типах опухолей недостаточна для проведения скрининга у большинства больных [71–74].

Кроме нативного ХГ, опухоли могут синтезировать и секретировать его свободные субъединицы. Некоторые опухоли продуцируют только отдельные субъединицы ХГ, которые могут не регистрироваться при проведении стандартных аналитических процедур на присутствие ХГ. Установлено [74],

что у пациентов с аденокарциномой поджелудочной железы свободные α -субъединицы обнаруживаются чаще, чем нативный ХГ.

ХГ является примером информативного маркера хориокарциномы. Эта опухоль продуцирует около 5 мкг ХГ в сутки на каждый миллиграмм влажной массы опухоли. Примерно 10–20 % этого количества выводится с мочой. Анализ β -ХГ дает значение 0,45 мкг на суточное количество мочи и, следовательно, около 1 мг опухоли можно обнаружить с помощью данного метода [75].

Определение уровня ХГ в сыворотке оказалось ценным для мониторинга, терапии и диагностики рецидивов трофобластических опухолей, а также у мужчин с эмбриональной карциномой, тератомами и хориокарциномами [76].

2.4.8. Плацентарный лактоген (ПЛ), или соматомаммотропин

Полипептидный гормон с молекулярной массой 22 кД [77], его молекула состоит из 190 аминокислотных остатков. Обнаружена 85%-я гомология ПЛ с гормоном роста человека по аминокислотной последовательности, имеет с ним иммунологическое сходство. Время полужизни составляет в среднем 12–25 мин и варьирует в довольно широких пределах [24]. Обладает лактогенной и ростовой активностью.

В сыворотке крови мужчин и небеременных женщин не определяется. При беременности обнаруживается в сыворотке крови, в амниотической жидкости, где его уровень постепенно нарастает (хотя место его выработки неизвестно), и в плаценте, откуда был впервые выделен и изучен [78]. В сыворотке беременных женщин появляется на 5-й неделе после оплодотворения, достигая максимума (6–10 мг/л) в конце беременности. При беременности ПЛ синтезируется синцитиотрофобластом и, по-видимому, децидуальной тканью матки, о чем свидетельствуют более низкие уровни лактогена, поступающие в циркуляцию при эктопической беременности [79]. Концентрация ПЛ в ретроплацентарной крови выше, чем в периферической, после родов фактор исчезает.

Плацентарный лактоген обнаружен в сыворотке женщин с пузырным заносом и хориокарциномой (в том числе и у мужчин) [27]. Однако при трофобластических опухолях его уровни в сыворотке крови были ниже, чем при беременности, в противоположность ХГ, концентрация которого при этой локализации максимальна.

В плазме крови больных со злокачественными нетрофобластическими опухолями различной локализации ПЛ в концентрации не менее 1 мкг/л определяется редко (в 16 случаях из 295) [80], в то время как ни одна контрольная плазма не содержала ПЛ. Концентрация его в крови порядка 1 мкг/л отмечена у больных раком молочной железы [81]. В другом исследовании

[27] с применением иммунопероксидазного метода показано, что 82 % злокачественных опухолей молочной железы давали положительную реакцию при окрашивании на наличие плацентарного лактогена.

2.4.9. Альфа-фетопроtein (АФП)

Аминокислотный состав и последовательность сходны с альбумином (30%-я структурная гомология). При электрофорезе мигрирует в зоне α -глобулинов. Изоэлектрическая точка 4,7–4,8. Время полужизни от 4 до 6 сут. В отличие от альбумина АФП содержит около 4 % углеводов, что обуславливает его электрофоретическую гетерогенность [82]. Обладает высокой эстрогенсвязывающей способностью. Причем показано, что эстрогены связываются с преципитатами АФП-анти-АФП и с очищенными препаратами АФП. Связывание специфично, неэстрогенные стероиды не взаимодействуют с АФП.

В нормальной сыворотке взрослого организма обнаруживаются следы АФП [83]. При беременности он вырабатывается клетками желточного мешка (у человека) и позднее печенью эмбриона. Концентрация АФП в сыворотке плода человека достигает максимума на 13-й неделе беременности и составляет 2–3 мг/мл, максимальная продукция в материнской сыворотке примерно 0,5 мкг/мл обнаруживается на 30-й неделе беременности, а в амниотической жидкости максимальное значение 10 мкг/мл определяется на 15-й неделе беременности. Нормальный уровень АФП устанавливается в организме через 35 сут после рождения, достигает 5 нг/мл, время полужизни 1–3 сут [84]. Методом иммунодиффузии АФП обнаружен в сыворотке беременных и новорожденных мышей.

АФП, продуцируемый печенью плода, является нормальным ингредиентом амниотической жидкости и сыворотки плода. К концу беременности концентрация АФП в сыворотке материнского организма снижается. Однако в последнем триместре беременности его концентрация в сыворотке еще недостаточна для супрессии *in vitro* клеточноопосредованного иммунитета. В опытах *in vitro* 3 мкмоль/л АФП индуцировали выработку супрессорных клеток и угнетали экспрессию поверхностных антигенов Ia [85, 86].

На основании большого числа экспериментальных данных для АФП в настоящее время постулированы следующие основные функции при нормальном развитии плода: 1) поддержание осмотического давления крови плода; 2) предохранение плода от иммунной системы матери; 3) связывание эстрогенов, содержащихся в материнском кровотоке; 4) участие в органогенезе печени плода; 5) является эндогенным антагонистом эстрогенов.

АФП обнаруживается у пациентов с тератокарциномами желточного мешка яичника или яичек и при гепатоцеллюлярных карциномах [84] и реже у

больных с опухолями желудочно-кишечного тракта и легких. При гепатоцеллюлярной карциноме (в том числе у мышей) с частотой обнаружения 70 % и тератокарциномах уровень АФП в сыворотке крови (более 1000 нг/мл) коррелирует с размером растущей опухоли и эффективностью терапии. Снижение концентрации ЛФП в крови после удаления опухоли или лечения до нормального значения служит благоприятным признаком, в то время как повторное повышение уровня или недостаточное его снижение может свидетельствовать соответственно о рецидиве заболевания или наличии метастазов.

2.4.10. Раковоэмбриональный антиген (РЭА)

Раковоэмбриональный антиген – это гликопротеин. Молекулярная масса 175–200 кД, константа седиментации 6,2–6,8, изоэлектрическая точка 3–4, N-концевая аминокислота лизин, при электрофорезе мигрирует в зоне подвижности β -глобулинов [70].

Вероятно, одна из самых существенных особенностей его молекулярной структуры – высокое (50–60%, массовая доля) содержание углеводов. Это предопределяет необычно высокую гетерогенность его физико-химических свойств (широкие профили при гель-фильтрации, диффузную, плохо окрашиваемую полосу при SDS-электрофорезе в ПААГ и т. д.). Часто наблюдаемое свойство РЭА – непостоянство заряда, по-видимому, следствие колебаний содержания сиаловой кислоты. Поэтому изоэлектрическую точку для этого сиалогликопротеина определяют после обработки нейраминидазой Субфракции РЭА, получающиеся при ионнообменной хроматографии, хроматографии на конканавалине А и при изоэлектрофокусировании, отличаются молекулярной массой, углеводным составом, зарядом и константой седиментации. Судя по аминокислотному составу субфракций, в основе молекулы РЭА одна полипептидная цепь, что подтверждается также наличием единственной N-концевой аминокислоты – лизина. В настоящее время содержание РЭА в биологическом материале определяют радиоиммунным анализом [87] и с помощью ферментсвязанного иммуносорбента [20]. В сыворотке крови беременных женщин этот гликопротеин не выявлен. Однако он вырабатывается в тканях пищеварительного тракта эмбриона и плода.

При развитии опухолей концентрация РЭА в сыворотке крови повышается и достаточно точно отражает состояние злокачественного процесса. При карциномах пищеварительного тракта и дыхательных путей у 50–90 % больных уровни РЭА в крови были выше нормальных [20, 70], то же наблюдалось у 30–50% больных карциномой молочной железы, головы и шеи и у 25 % больных злокачественными заболеваниями соединительнотканного происхождения.

В условиях патологии РЭА синтезируется тканями энтодермального

происхождения как при злокачественных, так и при доброкачественных опухолях. Ранее считали, что повышенные уровни РЭА в сыворотке могут быть диагностическим признаком при раке прямой кишки, и РЭА определяли как опухолеассоциированный антиген пищеварительного тракта человека. Позднее было показано [87], что содержание РЭА возрастает не только при различных типах рака, но и при ряде воспалительных заболеваний.

2.4.11. Ассоциированный с беременностью α_2 -гликопротеин (АБГ)

Синоним: pregnancy-associated α_2 -glycoprotein, pregnancy-associated globulin, α_2 -acute phase glycoprotein, α_2 -pregnoglobulin, pregnancy-associated α_2 -macroglobulin, Schwangerschaftsprotein-3, Xh-antigen, Pa-1.

Количественно наиболее важный из всех белков беременности. АБГ представляет собой димер с массой 320 кД или тетрамер 720 кД подобно α_2 -макроглобулину человека. Коэффициент специфической экстинкции ($E_{1\text{ см}}^{1\%}$, 280 нм) $8,2 \pm 0,2$ [88]. При электрофорезе свободной границы (рН 8,6) белок мигрирует с α_2 -глобулинами, а при электрофорезе в полиакриламидном геле – гораздо быстрее, чем α_2 -макроглобулин. Его изоэлектрическая точка при рН 4,7 [89]. По аминокислотному составу имеет сходство с α_2 -М: идентичны 6,8% аминокислотных остатков [90].

В состав АБГ входит до 11–12% углеводов. Молекулярная масса 180 кД для субъединицы. Каждая субъединица состоит из двух фрагментов 120 и 60 кД и содержит функционально интактный β -цистенил- γ -глутамилтиоловый эфир [88]. Аналогично α_2 -макроглобулину АБГ образует комплексы с различными протеиназами, в которых протеиназа сохраняет активность, но плохо доступна крупным ингибиторам, подобным α_1 -протеиназному ингибитору.

В плазме здоровых людей АБГ обнаруживается в незначительных количествах: 10–30 мг/л у небеременных женщин и 10 мг/л у мужчин [91]. При беременности его концентрация резко повышается, составляя к концу беременности 1000 мг/л; после родов содержание АБГ в крови возвращается к нормальным показателям. Время полужизни этого белка 6–7 сут. У женщин с ранним спонтанным абортom АБГ отсутствует или обнаруживается в небольших количествах [92].

Место синтеза АБГ окончательно не определено. Считают, что он может продуцироваться децидуальными клетками [27], лейкоцитами периферической крови [93] или же В-лимфоцитами, моноцитами и эпителиальными клетками [94]. Обнаружено, однако, что этот белок не выделяют клетки трофобласта.

Функция АБГ при беременности окончательно не установлена. Полагают [89, 95], что *in vivo* АБГ играет важную иммунорегуляторную роль: обладая иммуносупрессивными свойствами, способностью ингибировать пролиферацию стимулированных лимфоцитов, он может участвовать в

поддержании иммунологически привилегированного статуса плода [57]; однако механизм антипролиферативного действия АБГ неизвестен [94].

Гомология АБГ с α_2 -макроглобулином дает основание предполагать, что он может участвовать в контроле активности клеточных протеиназ, освобождающихся в условиях усиленного клеточного обмена, а также протеолитических процессов, протекающих при беременности [88]. Кроме того, АБГ можно рассматривать как эквивалент у человека остеофазных α -макроглобулинов, обнаруженных у других видов. Считается [57], что иммуносупрессивный эффект АБГ может препятствовать цитотоксической лекарственной терапии.

При раке, в том числе метастазировании, различных злокачественных новообразований концентрация АБГ в сыворотке крови возрастает. Так, у пациентов с хориосаркомой уровень АБГ в сыворотке был повышен, а после удаления опухоли нормализовался. Полагают, что увеличение концентрации АБГ в сыворотке – следствие выделения опухолью эстрогенов [96], под действием которых активируется синтез АБГ.

При раке молочной железы концентрация АБГ повышена у больных с рецидивами и при развитии метастазов, после удаления опухоли содержание АБГ также снижается [97]. При бронхиальной карциноме, меланоме и раке гортани уровни АБГ коррелируют со стадией заболевания [95]. Следует, однако, отметить значительные колебания уровней АБГ в зависимости от пола и возраста пациентов, а также то, что повышение его концентрации может быть вызвано другими причинами (например, травмой и т. п.).

2.4.12. Плацентарная щелочная фосфатаза (ПЩФ)

Нативный фермент зрелой плаценты (КФ 3.1.3.1) представляет собой димер с молекулярной массой 125 кД, состоящий из двух субъединиц примерно по 64 кД. Плацентарная форма отличается от формы, обнаруженной в печени, молекулярной массой, аминокислотой последовательностью, пептидными картами и аминокислотным составом, что свидетельствует о различии первичной структуры и кодировании разными структурными генами. От кишечной и тканеспецифической фосфатаз ПЩФ отличает более высокая термостабильность (60 °С), ингибирование *L*-фенилаланином и наличие уникальных антигенных детерминант. Плацентарный тип ПЩФ (но не другие типы) индуцируется преднизолоном, бутиратом натрия, 5-бромдиоксиуридином и бутирил-цАМФ [98].

Природными субстратами для ПЩФ служат фосфотирозин в гистонах и мембранные белки. О регуляции выработки этого фермента *in vivo* известно мало. Некоторые нормальные ткани – шейка матки, легкие, семенники – продуцируют ПЩФ аутопически [99]. При беременности ПЩФ вырабатывается трофобластом. Ген фермента экспрессируется в течение двух

последних триместров беременности у человека и некоторых приматов [100].

Культивируемые раковые клеточные линии содержат форму ЩФ, сходную с плацентрной по молекулярной массе, электрофоретической подвижности и иммунологическим свойствам. Изучена его индукция в клетках HeLa, где он определяется в таких внутриплазматических структурах, как аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум и перинуклеарная мембрана [100].

ПЩФ – мембранно-связанный фермент, имеющий множество аллельных форм со сходными биохимическими и биологическими свойствами. В частности, ПЩФ сходен с изоферментом Регана, который экспрессируется в раковых клетках трофобластического и нетрофобластического происхождения.

ПЩФ рассматривают как онкотрофобластический антиген и маркер семинома. Он обнаруживается в сыворотке крови онкологических больных при раке яичников и при семиномах [100, 101]. При этих же заболеваниях в сыворотке крови выявляют *L*-лейцинчувствительную форму (изофермент Nagao), изофермент Kasahara, соответствующий ПЩФ из кишечника плода, и нерегановский изофермент, характерный для первого триместра беременности. Структурные исследования свидетельствуют, что перечисленные изоформы кодируются по крайней мере тремя генами. Применяв моноспецифические антисыворотки, в молекуле ПЩФ различают три антигенные группировки. Плацентарная и кишечная фосфатазы имеют общие детерминанты [101]. На использовании моноклиальных антител основан метод обнаружения ПЩФ в сыворотке, растворимых тканевых экстрактах и фиксированных тканях при раке яичника У более 30 % больных опухолями яичника в крови обнаружена ПЩФ [102], однако концентрации ее не коррелировали со стадией заболевания. Так как это мембранный белок, то для появления его в крови требуется повреждение мембраны или гибель клетки. Кроме того, полагают, что опухолевые клетки экспрессируют ПЩФ только на отдельных стадиях клеточного цикла [100]. Высокая специфичность используемых для обнаружения ПЩФ моноклональных антител создает некоторые ограничения для диагностики. Например они не реагируют с изоферментом, продуцируемым некоторыми опухолями яичников. Однако большинство опухолей яичников экспрессируют одновременно оба изофермента – Nagao и Regan [103]. Распределение ПЩФ между серозными и муцинозными опухолями различно.

2.4.13. Лейцинаминопептидаза (ЛАП)

Лейцинаминопептидаза (КФ 3.4.11.1) наряду с цистинаминопептидазой (КФ 3.4.11.3), аминопептидазой А (КФ 3.4.11.7) и аланинаминопептидазой (КФ 3.4.11.2) составляет группу ариламидаз. Благодаря широкой специфичности ЛАП гидролизует с N-конца не только лейцинсодержащие, но и пептиды с другими аминокислотами (фенилаланином, триптофаном, гистидином,

тирозином), отщепляет амидные группы от различных аминокислот, особенно активно от лейцина, норлейцина и норвалина. Молекулярная масса микросомальной ЛАП 80 кД; она активируется ионами Ca^{2+} , Mn^{2+} или Mg^{2+} , ингибируется цианидом и ЭДТА [104].

При электрофорезе обнаруживаются множественные формы А и В. Основные источники ЛАП в организме – печень, кишечник и почки [104, 105a]. Цитохимически ЛАП обнаружена во всех типах трофобластических клеток, но главным образом в базальной пластинке и амниохорионическом эпителии.

Ариламидазная активность сыворотки крови линейно увеличивается в ходе беременности и связана в основном с повышением концентрации цистинаминопептидазы и в меньшей степени с ЛАП [105]. Активность ЛАП в сыворотке крови возрастает и на поздних стадиях беременности, что, вероятно, обусловлено появлением фермента плацентарного происхождения [104].

Активность лейцинаминопептидазы в сыворотке крови повышается у больных гепатокарциномой, раком поджелудочной железы, холангиомой, а также циррозом печени [105, 107]. Цитохимически определяется в нейтрофилах и лимфоцитах периферической крови у больных со злокачественными новообразованиями различной локализации. У больных с метастазами активность фермента в сыворотке значительно выше по сравнению с таковой у больных контрольной группы без метастазов [108].

Предполагается, что в нейтрофилах фермент участвует в деградации поглощаемого материала – главным образом микробного происхождения. Что касается лимфоцитов, то там предполагается участие ЛАП в цепи событий, связанных с бласт-трансформацией после стимуляции митогенами и с удалением внутриклеточных остатков этого процесса. Высказано предположение, что внутриклеточный дефицит отдельных ферментов в нейтрофилах может играть определенную роль в снижении противоопухолевой защиты [108]. В связи с тем что *L*-лейцин в настоящее время рассматривался как опухолевый промотор при раке мочевого пузыря у крыс [68], метаболизм этой незаменимой аминокислоты при злокачественных новообразованиях заслуживает более глубокого анализа.

2.4.14. Диаминооксидаза (ДАО)

ДАО – (КФ 1.4.3.6) – амин: кислородоксидоредуктаза дезаминирующая, пиридоксальсодержащая. Молекулярная масса 180 кД, представляет собой димер, состоящий из двух субъединиц по 90 кД. Фермент дезаминирует путресцин и другие диамины, такие, как гистамин и кадаверин, с образованием аминоальдегида, аммония и перекиси водорода. ДАО ингибируется карбонильными реагентами (аминогуанидином и гидроксиламином).

При беременности в сыворотке крови содержание фермента

увеличивается на два-три порядка. Как известно, полиамины вырабатываются быстрорастущими тканями в повышенных количествах и поэтому, вероятно, высокая активность ДАО, обнаруживаемая в плаценте, кишечнике, строме тимуса и других образованиях, связана с увеличенной продукцией этих аминов (плодом, эпителием кишечника, тимоцитами и т. д.). Внутри клетки фермент обнаруживают в митохондриальной и микросомальной фракциях и в пероксисомах [109].

ДАО выявлена также в больших количествах в некоторых злокачественных С-клетках щитовидной железы и рассматривается как удобный маркер для разграничения гиперплазии и злокачественности в щитовидной железе с ранними пролиферативными нарушениями [110]. При медуллярной тиреоидной карциноме у 70 % пациентов с метастазами активность ДАО в сыворотке крови была повышена. Ткань опухоли содержала в 15–1500 раз больше ДАО, чем прилегающие неопухолевые железистые ткани. Повышенный уровень активности ДАО обнаружен в выделяемых жидкостях у больных раком яичника (87 %), прямой кишки (73%) и желудка (88%) [111].

2.4.15. Полиамины (ПА)

Органические алифатические поликатионные соединения, которые обнаружены во всех живых клетках, где они участвуют в многообразных процессах, связанных с клеточным ростом и дифференцировкой [112]. Уникальная стереоспецифическая форма ПА позволяет им непосредственно взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами и влиять, таким образом, на процессы трансляции и транскрипции [113]. Являясь физиологическими субстратами транскламиназы, ПА широко участвуют в посттрансляционной модификации белков путем образования внутри- и межмолекулярных γ -глутамил- ϵ -лизильных сшивок в белках. Усиленный биосинтез и накопление ПА происходит в клетках (как нормальных, так и неопластических) перед началом процессов роста [114, 115].

Клетки экскретируют ПА в ответ на задержку роста. В ходе клеточного цикла внутриклеточная концентрация ПА снижается при выходе из G₁-фазы и повышается на протяжении S- и G₂-фаз [116]. Спермидин (СПД), спермин (СПМ) и их предшественник путресцин (ПУТ) определяют в различных биологических образцах (тканях, сыворотке, эритроцитах, амниотической жидкости и т. п.) и в норме, и при патологии.

Основная масса (до 80 %) ПА в крови локализована в эритроцитах, где уровень неконъюгированного спермидина достигает $14,1 \pm 3,1$, а спермина – $8,4 \pm 2,8$ нмоль/млн эритроцитов [117]. Около 20 % общего содержания спермидина и спермина сосредоточено в лейкоцитах, концентрация ПА в нормальной человеческой плазме составляет примерно 0,1 нмоль/мл. В норме

отношение содержания спермидин/спермин в эритроцитах составляло 1,7, в лейкоцитах – 0,25; путресцин в человеческой цельной крови в неконъюгированном состоянии не обнаружен.

Концентрация свободных и конъюгированных полиаминов при нормальном ходе беременности у человека в плазме крови изменяется и достигает в конце III триместра для спермидина $85,18 \pm 45,08$, для спермина – $149,64 \pm 38,50$, для ПУТ – $85,08 \pm 26,97$ пмоль/мл плазмы. Наблюдаемые уровни ПА коррелируют с содержанием в плазме эстрадиола и прогестерона [113].

Повышенная экскреция ПА в целом характерна для развития опухоли, хотя прямая корреляция со скоростью роста опухоли не установлена. Вариации, наблюдаемые во внеклеточных уровнях ПА у больных со злокачественными опухолями, связывают с изменениями кинетики опухолевого роста [116]. В частности, замечено, что внутри- и внеклеточный уровни ПУТ пропорциональны числу клеток опухоли, находящихся в клеточном цикле, т. е. растущей фракции опухоли [114]. Внеклеточные концентрации СПД и СПМ повышались при спонтанной гибели опухолевых клеток.

Трехкратное повышение концентрации ПА в моче больных со злокачественными опухолями обнаружено у больных раком желудка (68,1 %), ободочной кишки (68,8 %), легкого (66,7 %), печени (21,4%), желчного пузыря (100 %), пищевода (87,5%) и лейкозом (55,6 %) [118].

Определение динамики содержания ПА в физиологических жидкостях хотя и не является диагностическим средством, но имеет клиническую ценность. Так, более чем двукратное увеличение количества СПД в моче в период от 24 до 48 ч после начала химиотерапии связывают с выраженной гибелью опухолевых клеток и расценивают как свидетельство эффективности лечения. Повышение уровней ПА в послеоперационном периоде [116] помогает оценить состояние больного (ремиссия, рецидив).

2.4.16. α_2 -Макроглобулин (α_2 -М)

α_2 -М – высокомолекулярный тетрамерный гликопротеин. Дисульфидные связи попарно связывают субъединицы с молекулярной массой 360 кД. Сильные нековалентные взаимодействия удерживают две пары субъединиц в составе нативной молекулы общей массой 718 кД. При включении протеазы любой специфичности и образовании функционально активного комплекса α_2 -М – протеаза молекула глобулина подвергается структурным изменениям, в результате чего комплекс становится неспособным к диссоциации. Протеаза в составе такого комплекса сохраняет гидролитическую активность в отношении низкомолекулярных субстратов и отдельных белков, таких, как фибриноген, фактор VIII.

α_2 -М – универсальный ингибитор протеиназ всех классов. Эта универсальность создает предпосылки для участия α_2 -М во множестве

жизненно важных систем: в механизмах свертывания крови, фибринолиза, иммунных реакциях. Специфичность участия α_2 -М в этих процессах определяется протеазой, которая, находясь в комплексе с ингибитором, обеспечивает необходимые химические и стерические изменения в его молекуле.

Комплексы α_2 -М – протеаза наряду с элиминацией и инактивацией протеолитических α_2 -М ферментов выполняют ряд других функций. Они регулируют деятельность макрофагов [119] путем снижения количества медиаторов, секретлируемых макрофагами в присутствии комплексов α_2 -М – протеаза, что выражается в супрессии гибели опухолевых клеток *in vitro*. Макрофаги продуцируют и секретируют множество протеаз [120], а также сам α_2 -М, что может предотвращать повреждение нормальных клеток. Иммунорегуляторный эффект нативной антипротеазы существенно менее выражен по сравнению с тем, который оказывает ингибитор, находящийся в комплексе. Есть мнение [121], что α_2 -М может считаться маркером субпопуляции макрофагов.

Комплексы α_2 -М – протеаза угнетают лизис эритроцитов нейтрофилами [122], снижают реакцию ответа смешанных лимфоцитов [123] и угнетают натуральную киллерную и антителозависимую клеточно-индуцированную цитотоксичность [124]. Кроме того, комплексы α_2 -М – протеаза могут функционировать как ростовые факторы в бессывороточной среде *in vitro* [125]. Механизмы этих реакций мало изучены, поэтому роль комплексов в этих процессах установлена эмпирически.

В результате исследований *in vivo* установлено присутствие α_2 -М в биологических жидкостях [126], эндотелии сосудистой стенки [127], синцитиотрофобласте плаценты [128] и нормальном цервикальном эпителии матки [129, 130]. В хориокарциномах и злокачественном цервикальном эпителии α_2 -М не обнаружен [128, 131].

Выработка и секретирование α_2 -М в клеточных линиях человеческой меланомы впервые описаны в работе [126]. Ранее эта способность отмечена в культурах фибробластов легкого человека [140]. Рецепторопосредованное включение α_2 -М изменяется в культуре вирустрасформированных клеток опухолевого происхождения [141]. При проведении иммуногистологических исследований α_2 -М обнаружен в срезах тканей многих меланом и их метастазов [126].

Показано, что при беременности нативный α_2 -М, а не комплексы α_2 -М – трипсин связываются везикулами плазматической мембраны микроворсинок синцитиотрофобласта плаценты человека. С помощью радиоактивной метки и методов иммунофлюоресценции выявлено, что α_2 -М может связываться с протеазами на поверхности трофобласта [129]. Такое связывание, возможно, ограничивает количество доступного нативного α_2 -М в пределах межворсинчатого пространства и влияет на процессы свертывания и фибринолиза. Во всех здоровых плацентах обнаружены запасы фибрина,

содержащие α_2 -М, так что связывание нативного α_2 -М мембраной трофобласта играет важную роль в регуляции запасания фибрина.

Физиологическая роль связывания α_2 -М с протеазами на поверхности трофобласта может заключаться в модуляции инвазивности и изменении деструктивной способности популяции клеток трофобласта, соприкасающихся с материнским кровотоком в межворсинчатом пространстве плаценты и спиральных артериях матки. Отсутствие α_2 -М при инвазивном заносе и хориокарциноме указывает на участие α_2 -М в регуляции протеолиза при инвазии клеток. Такое связывание при беременности, очевидно, является частью системы, обеспечивающей нормальное регулирование инвазии трофобласта и поддерживающей равновесие в пределах плаценты между репарацией и гемостазом.

2.5. Заключение

Таким образом, клетки эукариотов секретируют в окружающую среду гликопротеины, гликозаминогликаны и белки, обладающие биологической активностью, с целью создания условий, природных для их пролиферации, дифференцировки и миграции. Особая роль в этих процессах принадлежит протеолитическим ферментам и их ингибиторам, так как с их помощью осуществляются многие иммунные и метаболические процессы. При беременности и развитии злокачественных опухолей некоторые протеолитические ферменты, их активаторы и ингибиторы начинают вырабатываться в повышенных количествах или освобождаться в результате гибели клеток [49]. Протеиназы модифицируют микроокружение и могут служить как межклеточные мессенджеры, переносчики митогенного сигнала. Для тромбина, трипсина и активатора плазминогена описана способность стимулировать пролиферацию и митогенный ответ фибробластов на ростовые факторы [132].

С комплексом протеиназ и их ингибиторов, хорошо уравновешенных при нормальной беременности, связаны процессы имплантации и инвазии бластоцисты. Что касается опухолевой инвазии, то здесь мы имеем отличный набор протеиназ и их ингибиторов, пока еще мало изученный. От взаимоотношений в этой системе зависит способность опухолевых клеток разрушать гематопаренхиматозный барьер и проникать в окружающие ткани, а также экстравазация в отдельные органы. Есть мнение [133], что способность раковых клеток быстро расти и размножаться *in vivo* зависит от набора протеиназ и их ингибиторов в микроокружении клеток. Например, освобождение из клеток катепсина В способствовало метастазированию и коррелированию со злокачественностью [134]. Блокирование инвазии достигалось применением ингибиторов протеиназ.

При беременности системы свертывания крови материнского организма и

крови, циркулирующей через плаценту, претерпевают существенные изменения. В общих чертах можно утверждать, что коагуляционные факторы усиливаются, а фибринолитическая активность снижается. При этом уместно вспомнить, что с коагулирующей системой крови связана активация по меньшей мере семи сериновых протеиназ, а сама коагулирующая система запускает фибринолитическую систему с многочисленными активаторами проферментов. При родах процессы имеют противоположную направленность. Ретроплацентарная кровь обладает повышенной способностью к образованию сгустка. Факторы, регулирующие эти сложнейшие системы, находятся в плаценте.

Системы, генерирующие протеолитический потенциал, уравниваются системой ингибиторов, которые составляют до 20 % белков плазмы, не считая альбумина и иммуноглобулинов. Снижение концентрации или отсутствие ингибитора может повлечь патологические расстройства. Таким образом, при беременности функционирует очень мощная система ингибиторов протеиназ. В настоящем обзоре описаны только те из них, которые обнаружены при опухолевом росте – АБГ, α_2 -М, РАРР-А и РР-5. Такое мощное увеличение ингибиторного потенциала существует при беременности наряду с присутствием обязательных протеиназных ингибиторов – α_2 -антиплазмина, антитромбина-III и α_1 -протеиназного ингибитора. Однако десятки других протеиназ разной специфичности обнаружены в плаценте [53].

При опухолевой инвазии наряду с металле-, сериновыми и вистеиновыми протеиназами на модели амниотической мембраны человека *in vitro* изучали их ингибиторы. Ингибиторы коллагеназы и плазмина предотвращали инвазию амниона опухолевыми клетками так же, как антитела к урокиназе. Ингибиторы цистеин-протеиназы и антисыворотка к тканевому активатору плазминогена были неэффективны в предотвращении инвазии.

Базальная мембрана амниона человека непроницаема для молекул большего размера, чем 60 кД [135]. Однако она становится проницаемой для более крупных белков в результате ее модификации при воспалении, неоплазии и других патологических процессах [136]. Освобождение лизосомального содержимого вследствие гибели клеток в зоне воспаления сопровождается появлением кислых, тиоловых и металлопротеаз, что и вызывает протеолитическую деградацию окружающих тканей. Базальная мембрана амниона человека содержит коллаген IV типа, отличающийся от интерстициального коллагена, для деградации которого требуется специфическая коллагеназа. Показано [137], что образование этой коллагеназы коррелирует с метгастатическим потенциалом некоторых опухолевых клеток. Кроме того, следует заметить, что коллаген IV типа может разрушаться другими протеиназами в неспирализованных областях после действия специфической коллагеназы, и тогда базальная мембрана становится проницаемой не только для белков, но и для клеток. Сывороточные ингибиторы коллагеназы, в том числе α_2 -М могут включаться в модуляцию опухолевой

инвазии.

Продемонстрирована важная роль в этой системе взаимоотношений активатор пламиногена – плазмин. Инвазию удалось полностью заблокировать, избирательно ингибируя активность урокиназы специфическими антителами. Аналогичные данные получены при изучении деградации внеклеточного матрикса поперечнополосатых мышц клетками фибросаркомы человека [138]. В этой системе удавалось тормозить инвазию с помощью ингибиторов урокиназы и плазмина. α_2 -Антиплазмин также предотвращал инвазию амниона [139].

Среди молекулярных механизмов, лежащих в основе многоступенчатых процессов имплантации, инвазии и метастазирования, протеолиз и его регуляция с помощью специфических и неспецифических ингибиторов занимают центральное место. С участием гидролитических ферментов опосредуются многочисленные процессы пролиферации, дифференцировки, специфического узнавания и элиминации, иммунные и многие другие. Поэтому изучению закономерностей функционирования протеолитических ферментов, их активаторов и ингибиторов как при беременности, так и при опухолевом росте следует уделить более пристальное внимание.

Приведенные данные об общих белковых маркерах беременности и рака свидетельствуют о существовании биологической закономерности – появлении в организме при развитии эмбриона (плода) и прогрессе опухоли группы веществ (маркеров), общих для указанных процессов, что возможно отражает общие биологические свойства эмбриональных и малигнизированных клеток. Это, в частности, способность к имплантации, инвазии, метастазированию, аутокринной секреции, самозащите от иммунных механизмов, особенности энергетических и пластических процессов.

Рассмотренные данные приводят к заключению о необходимости изучения маркеров эмбрионального и злокачественного роста не только как веществ, свидетельствующих о появлении в организме указанных новообразований, но прежде всего как факторов, играющих важную роль в формировании в организме гормональных, иммунных и метаболических перестроек, способствующих реализации потенций злокачественных опухолей. Изучение биологии маркеров злокачественного роста позволит по нашему мнению, создать более эффективные способы мониторинга и терапии злокачественных новообразований.

2.6. Список литературы

1. *Bohn H.* Biochemistry of placental proteins // Proteins of the placenta / P. Bischof, A. Klopffer. – Basel. Karger, 1985. – P. 1 – 25.
2. *Зыбина Е. В.* Цитология трофобласта. – Л.: Наука, 1986. – С. 192.
3. *Vanderpuye O. A., Smith C. H.* Proteins of the apical and basal plasma membranes

of the human placental syncytiotrophoblast immunochemical and electrophoretic studies // *Placenta*. – 1987. – **8**. – P. 591–609.

4. *Characterization* of the human syncytiotrophoblast plasma membrane associated components // B. Khalfoun, M. Lacord-Bonneau, D. Degenne et al // *Int. J. Biochem.* – 1986. – **18**, N 4. – P. 351 – 360.

5. *Lin C. T.* Immunoelectron microscopic localisation of immunoglobulin G in human placenta // *J. Histochem and Cytochem.* – 1980. – **28**. – P. 339 – 346.

6. *Pregnancy* proteins in the endometrium after follicle aspiration for in vitro fertilization / T. Wahlsrom, J. Koskimies, A. Tenhunen et al. // *Ann. N. Y Acad. Sci.* – 1985. – **442**. – P. 402 – 407.

7. *Brundin J.* In vitro induction of human suppressor T-cell by a chorionic gonadotropin preparation // *J. Reprod. Immunol.* – 1981. – **3**. – P. 75 – 84.

8. *Peck A. B., Mingita R. A., Wigzell H.* Cellular and genetic restrictions in the immunoregulatory activity of alpha foetoprotein III. Role of the MLC-stimulating cell population in alpha foetoprotein induced suppression of T-cell-mediated cytotoxicity // *J. Immunol.* – 1982. – **128**. – P. 1134 – 1140.

9. *Tamerius J., Hellstrom J., Hellstrom K.E.* Evidence that blocking factors in the sera of multiparous mice are associated with immunoglobulin // *Int. J. Cancer.* – 1975. – **16**. – P. 456 – 464.

10. *Effect* of placental tissue on immunological responses / M. Barg, R. C. Burton, J. A. Smith et al. // *Clin and Exp. Immunol.* – 1978. – **34**. – P. 441 – 449.

11. *Kasakura S.* A factor in maternal plasma during pregnancy that suppresses the reactivity of mixed leukocyte cultures // *J. Immunol.* – 1971. – **107**. – P. 1296 – 1301.

12. *Natura* killer cell activity during pregnancy // K. Okamura, K. Fukukawa, M Nakakuki et al. // *Amer. J. Obstet and Gynecol.* – 1984. – **149**, N 3. – P. 396 – 399.

13. *Suppression* of in vitro lymphocyte stimulation in mice by uterine and placental extracts / N. M. Kottab, A. K. Fowler, J. E. Strickland, A. Hellman // *J. Immunol.* – 1976. – **177**. – P. 1644 – 1647.

14. *The role* of the phagocyte in host-parasite interactions 4. The phagocytic activity of leukocytes in pregnancy and its relationship to urinary tract infection / G. W. Mitchell, R. J. McRipley, R. J. Selvaraj, A. J Sbarra // *Amer. J. Obstet. and Gynecol.* – 1966. – **96**, N 6. – P. 687–692.

15. *The role* of the phagocyte in host-parasite interactions. 25. Metabolic and bactericidal activities of leukocytes from pregnant women / G. W. Mitchell, A. A. Jacobs, V. Haddad et al. // *Ibid.* – 1970. – **108**, N 8. – P. 805 – 807.

16. *Fabris N., Serri F.* Immunological reactivity during pregnancy in the mouse // *Immunology in obstetrics and gynecology* / Eds A. Cantaro, N. Carreti. – New York: Elsevier, 1974. – P. 183 – 188.

17. *Tedder R. S., Nelson M., Eisen V.* Effects on serum complement of normal and preeclamptic pregnancy and of oral contraceptives // *Brit. J. Pathol.* – 1975. – **56**. – P. 389 – 392.

18. *Study* of mterferon production during pregnancy in mice and antiviral acivity in the placenta / K. Yamada, Y. Shimizu, K. Okamura et al. // *Amer. J. Obstet and*

Gynecol. – 1985. – **135**, N 3. – P. 335 – 341.

19. *Immunofluorescent* localization of placental lactogen, chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunit in organ culture of human placenta / U. J. Gaspard, J. Hustin, A. M. Reuter et al. // *Placenta*. – 1980. – **1**. – P. 135 – 140.

20. *Nature* of the tumor-associated determinant (s) of carcinoembryonic antigen / S. Hammarström, E. Engvall, B. G. Yohansson et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1975. – **72**, N 4. – P. 1528 – 1532.

21. *Vicovac L., Vučković M., Genbučev O.* Trophoblast research / Eds. R. K. Miller, H. A. Thiede. – New York: Plenum press, 1997. – **2**. – P. 85–93.

22. *Weinberg E. D.* Pregnancy-associated depression of cell-mediated immunity // *Rev. Infect. Dis.* – 1984. – **6**, N 6. – P. 814 – 831.

23. *Вишневский А. С.* Опухолевые маркеры в онкогинекологии // *Вопр. Онкологии*. – 1984. – **30**. – С. 23 – 34.

24. *Татаринов Ю. С.* Трофобластспецифический бета₁-гликопротеин // *Успехи соврем. биологии*. – 1983. – **95**. – С. 57 – 64.

25. *Цапок П. И.* Специфические белки беременности // *Акушерство и гинекология*. – 1983. – № 8. – С. 3 – 5.

26. *Bohn H.* Systematic identification of specific oncoplacental proteins // *Oncodevelopmental markers, biologic, diagnostic and monitoring aspects* / Ed. H. Fishman. – New York: Acad. press, 1983. – P. 69 – 86.

27. *Home H. W., Bremner R. D.* Pregnancy proteins as tumor markers // *Cancer markers; Diagnostic and developmental significance* / Ed. S. Sell. – New York: Humana press, 1980. – P. 225 – 247.

28. *Татаринов Ю. С.; Масюкевич В. Н.* Иммунохимическая идентификация нового β₁-глобулина в сыворотке крови беременных женщин // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1970. – **69**, № 6. – С. 66 – 68.

29. *Phisicochemical* studies of pregnancy-specific β₁-glycoprotein: unusual ultracentrifugal and circular dichroic properties / J. Osborne, J. C. Rosen, B. Nilsson et al. // *Biochemistry*. – 1982. – **21**. – P. 5523 – 5528.

30. *Oligomerization* of pregnancy-specific β¹-glycoprotein (SP₁) at physiologic pH and ionic strength / S. W. Rosen, I. Calvert, N. Lee et al. // *Clin. chim. acta* – 1986. – **157** / – P. 65 – 71.

31. *Characterization* of four human pregnancy-associated plasma proteins / T. M. Lin, S. P. Halbert, D. Kiefler, S. Gali // *Amer. J. Obstet and Gynecol.* – 1974. – **118**, N 2. – P. 223 – 226.

32. *Engvall E., Miyashita M., Ruoslahti E.* Monoclonal antibodies in analysis of oncoplacental protein SP₁ in vivo and in vitro // *Cancer Res.* – 1982. – **42**. – P. 2028 – 2033.

33. *Sörensen S.* Pregnancy-"specific" β-glycoprotein (SP₁): purification, characterization, quantification and clinical application in malignancies // *Tumor boil.* – 1984. – **5**, N 6. – P. 275 – 302.

34. *Towler C. M., Glover R. G., Horne C. H. W.* Problems encountered in the measurement of pregnancy-specific β₁-glycoprotein // *Clin. chim. acta*. – 1978. – **87**.

– P. 289 – 296.

35. Tatarinov Y. S., Falateeva D. M., Kalashnikov V. V. Human pregnancy-specific beta₁-globulin and its relation to chorioepithelioma // *Int. J. Cancer.* – 1976. – **17.** – P. 626 – 632.

36. *Detection* of trophoblastic tumour activity by pregnancy-specific beta-1-glycoprotein / M. Seppälä, E.-M. Rutanen, M. Heikinheimo et al. // *Ibid.* – 1978. – **21.** – P. 265 – 267.

37. Bohn H., Winckler W. Isolierung und charakterisierung des plazenta-proteins PP₅ / *Arch. Gynäckol.* – 1977. – **223.** – P. 179 – 186.

38. *The radioimmunoassay* of placental protein 5 and circulating levels in maternal blood in the third trimester of normal pregnancy / B. Obiekwe, D. J. Pendlebury, Y. B. Gordon et al. // *Clin. chim. acta.* – 1979. – **95.** – P. 509 – 516.

39. Salem H. T., Seppälä M., Chard T. The effect of trombin on serum placental protein 5 (PP₅): is PP₅ the naturally occurring antitrombin III of the human placenta? // *Placenta.* – 1981. – **2.** – P. 205 – 210.

40. *Studies* on the function of placenta protein 5 / Y. E. Siiteri, H. Bohn, R. Koistinen, M. Seppälä // *Pregnancy proteins* / Eds. J. G. Grudzinskas et al. – New York: Acad. press, 1982. – P. 263 – 269.

41. *The relation* between the concentration of placental specific proteins in retroplacental and peripheral blood / J. G. Grudzinskas, M. Menabawey, B. A. Wiley et al. // *Brit. J. Obstet and Gynaecol.* – 1979. – **86.** – P. 891 – 893.

42. Петрунин Д. Д., Грязнова И. М., Петрунина Ю. А., Татарина Ю. С. Сравнительная иммунологическая характеристика человеческого хорионического α₁ и α₂-микроглобулина // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1978. – № 5. – С. 600 – 602.

43. *Characterization* of four human pregnancy-associated plasma proteins / T. M. Lin, S. P. Halbert, D. Kiefler et al. // *Amer. J. Gynecol.* – 1974. – **118.** – P. 223 – 236.

44. *Comparison* of different antibody preparations against pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP A) for use in localization and immunoassay studies / J. Chemnitz, J. Folkersen B. Teisner et al. // *Brit. J. Obstet and Gynaecol.* – 1986. – **93.** – P. 916 – 923.

45 *Pregnancy-associated* plasma protein-A (PAPP-A) in preovulatory, nonovulatory, healthy and atretic human ovarian follicles during the natural cycle / L. Westergaard, M. J. Sinosich, J. G. Grudzinskas et al. // *Ann. New York Acad. Sci.* – 1985. – **442.** – P. 205 – 211.

46. Sinosich M. J. Biological role of pregnancy-associated plasma protein-A in human reproduction // *Proteins in the Placenta* / Eds. P. Bishop, A. Kloppper. – Basel Karger, 1985. – P. 158 – 183.

47. *Prognostic* significance of the new placental proteins in trophoblastic disease / F. H. M. Tsakok, S. Koh, S. E. Chua et al. // *Brit. J. Obstet and Gynaecol.* – 1983. – **90.** – P. 483 – 486.

48. *Pregnancy-associated* plasma protein-A and placental protein 5 in human seminal

- plasma / M. J. Sinosich, M. Seppälä, D. M. Saunders, J. G. Grudzinskas // Ann. New York Acad. Sci. – 1985. – **442**. – P. 287 – 292.
49. *In vitro* production of pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) by trophoblastic cells / E. R. Barnea, M. K. Sanyal, C. Brami, P. Bischof // Arch. Gynecol. – 1986. – **237**. – P. 187 – 190.
50. *In vitro* production of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) by human decidua and trophoblast / P. Bischof, S. Du Berg, M. T. Sizonenko et al. // Amer. J. Obstet and Gynecol. – 1984. – **148**, N 9. – P. 913 – 920.
51. *Wahlström T., Teisner B., Folkersen J.* Tissue localisation of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in normal placenta // Placenta. – 1981. – **2**. – P. 253 – 261.
52. *Radioimmunoassay* for pregnancy-associated plasma protein A / M. J. Sinosich, B. Teisner, J. Folkersen et al. // Clin. Chem. – 1982. – **28**. – P. 50 – 56.
53. *Studies* on human pregnancy-associated plasma protein A. Purification by affinity chromatography and structural comparison with α_2 -macroglobulin / R. G. Sutcliffe, B. M. Kukulska-Langlands, J. R. Coggins et al. // Biochem. J. – 1980. – **191**. – P. 799 – 809.
54. *Specific* inhibition of human granulocyte elastase by human pregnancy-associated plasma protein A / M. J. Sinosich, M. W. Davey, P. Ghosh, J. Q. Grudzinskas // Biochem. Int. – 1982. – **5**. – P. 777 – 787.
55. *Pregnancy-associated*, plasma protein A in the prediction of early pregnancy failure / J. D. Westergaard, M. J. Sinosich, M. Bugge et al. // Amer. J. Obstet and Gynecol. – 1983. – **145**. – P. 67 – 74.
56. *An early* pregnancy factor detected in human serum by the rosette inhibition test / H. Morton, B. Rolfe. G. J. A. Clunie et al. // Lancet. – 1977. – **80**, N 8. – P. 394 – 397.
57. *Schoultz B. van, Stigbrand T., Tarnvik A.* Inhibition of PHA-induced lymphocyte stimulation by the pregnancy zone protein // FEBS Lett. – 1973. – **38**, N 1. – P. 23 – 26.
58. *Production* of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) by cultured tumour granulosa cells / M. J. Sinosich, J. Dodd, M. D. Banifacio et al. // Gynecol. Obstet. Invest. – 1987. – **23**. – P. 60 – 66.
59. *Татаринов Ю. С., Петрунин Д. Д.* Белковый фактор фертильности // Акушерство и гинекология. – 1987. – № 8. – С. 10 – 13.
60. *McManus J. P., Brewer L. M., Whitefield J. F.* The widely distribution tumour protein, oncomodulin, is a normal constituent of human and rodent placentas // Cancer Lett. – 1985. – **27**. – P. 145 – 151.
61. *Brewer L. M., McManus J. P.* Detection of oncomodulin, an oncodevelopmental protein in human placenta and choriocarcinoma cell lines // Placenta. – 1987. – **8**. – P. 351 – 363.
62. *Bourne G.* The human amnion and chorion – London: Lloyd-Luke, 1962. – P. 4 – 55.
63. *Kurman R. J., Main C. S., Chen H. C.* Intermediate trophoblast a distinctive form

of trophoblast with specific morphological biochemical and functional features // *Placenta*. – 1984. – **5**. – P. 349 – 370.

64. *Brewer L. M., McManus J. P.* Localisation and synthesis of the tumor protein oncomodulin in extraembryonic tissues of the fetal rat // *Develop. Biol.* – 1985. – **112**. – P. 49 – 58.

65. *McManus I. P.* Occurrence of a low-molecular weight calcium-binding protein in neoplastic liver // *Cancer Res.* – 1979. – **39**. – P. 3000 – 3005.

66. *Tuan R. S.* Ca²⁺-binding protein of the human placenta // *Biochem. J.* – 1985. – **227**. – P. 317 – 326.

67. *Durkin J. P., Brewer L. M., McManus L. P.* Occurrence of the tumour-specific calcium-binding protein, oncomodulin, in virtually transformed normal rat kidney cells // *Cancer Res.* – 1983. – **43**. – P. 5390 – 5394.

68. *McManus L. P.* Plasma oncomodulin is proportional to tumour burden in rats bearing Morris hepatomas 5123D, 5123 tc, 7288, 7777 // *Tumour Biol.* – 1984. – **5**. – P. 189 – 197.

69. *Pierce J. G., Parsons T. F.* Glycoprotein hormones, structure and function // *Ann. Rev. Biochem.* – 1981. – **50**. – P. 465 – 497.

70. *Garrett P. E. Kurtz S. R.* Clinical utility of oncofetal protein and hormones as tumor markers // *Med. Clin. N. Amer.* – 1986. – **70**, N 6. – P. 1295.

71. *Winikoff J., Braunstein G. D.* In vitro secretory patterns of human chorionic gonadotropin, placental lactogen and pregnancy-specific β -glycoprotein // *Placenta*. – 1985. – **6**. – P. 417 – 422.

72. *Rosen S. W.* Ectopic production of placental proteins and their subunits // *Proteins of the placenta* / Eds. P. Bischof, A. Klopffer. – Basel: Karger, 1985. – P. 84 – 101.

72a. *Human* chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein in the staging of non seminomatous testicular cancer / G. J. Bosl, P. H. Lange, E. E. Fraley et al. // *Cancer*. – 1981. – **47**, N 2. – P. 328 – 332.

73. *Ectopic* production of human chorionic gonadotrophin by neoplasms / G. D. Braunstein, J. L. Vaitukaitis, P. P. Carbone, G.T. Ross / *Ann. Intern. Med.* – 1973. – **78**. – P. 39 – 45.

74. *Griffin G., Vaitukaitis J. L.* Hormone-secreting tumours // *Cancer markers: Diagnostic and developmental significance* / Ed. by S. Sell. – New York: Humana press, 1980. – P. 169 – 190.

75. *Grudzinskas J. G., Westergaard J. G., Teisner B.* Biochemical assessment of placental function early pregnancy // *Clin. Obstet. and Gynaecol.* – 1986. – **13**, N 3. – P. 553 – 569.

76. *Einhorn L. H.* Testicular cancer as a model for a curable neoplasm // *Cancer Res.* – 1981. – **41**, N 4. – P. 3275 – 3280.

77. *Li C. H., Dixon S. S., Chung D.* Amino acid sequence of human chorionic somatomammotropin // *Arch. Biochem. and Biophys.* – 1973. – **155**, N 1. – P. 95 – 110.

78. *Josimovich J. B., McLaren J. A.* Presence in the human placenta and term serum

of a highly lactogenic substance immunochemically related to pituitary growth hormone // *Endocrinology*. – 1962. – **71**. – P. 209 – 220.

79. *Chorionic* growth hormone-prolactin (CGP): secretion, disposition, biological activity in man, and postulated function as the growth hormone of the second half of pregnancy / M. M. Grumbach, S. L. Kaplan, J. J. Sciarra, J. M. Burr. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1968. – **148**. – P. 501 – 531.

80. *Weintraub B. D., Rosen S. W.* Ectopic production of human chorionic somatomammotropin by non trophoblastic cancers // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1971. – **32**. – P. 94 – 101.

81. *Ectopic* production of human placental lactogen by human breast tumours / N. A. Sheth, J. N. Suraya, A. R. Sheth et al. // *Cancer*. – 1977. – **39**, N 4. – P. 1693 – 1699.

82. *Zimmerman E. F., Bowen D., Wilson J. R., Maddappaly M. M.* Development microheterogeneity of mouse α -fetoproteins, purification and characterization // *Biochemistry*. – 1976. – **15**, N 25. – P. 5534 – 5537.

83. *Smith C. J., Kellehef P. C.* α_1 -Fetoprotein separation of two molecular variants by affinity chromatography with concanavalin A – agarose // *Biochim. et biophys. Acta*. – 1973. – **317**, N 2. – P. 231 – 235.

84. *Sell S.* Alpha-fetoprotein // *Cancer markers Diagnostic and developmental significance* / Ed. S. Sell. – New York: Humana press, 1980. – P. 249 – 293.

85. *Foder V., Blank M., Nebel L.* Immunoregulatory mechanisms in pregnancy. 1. Evidence for the α -fetoprotein generation of supressor cells in vitro // *Transplantation*. – 1982. – **33**. – P. 41 – 44.

86. *α -Fetoprotein* induces supressor T-cells in vitro / R. A. Murgita, E. A. Goidi, S. Kontiainen, H. Wigzell // *Nature*. – 1977. – **267**. – P. 257 – 259.

87. *The radioimmunoassay* of circulating carcinoembryonic antigen on the human digestive system / D. M. P. Thomson, J. Krupey, S. O. Freedman, P. Gold. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1969. – **64**. – P. 161 – 167.

88. *Characterization* of human pregnancy zone protein. Comparison with human α_2 -macroglobulin / O. Sand, J. Folkersen J. G. Westergaard, L. Sottrup-Jensen // *J. Biol. Chem.* – 1985. – **260**, N 29. – P. 15723 – 15735.

89. *Schwick H. G., Haupt H.* Human plasma proteins of unknown function // *The plasma proteins*. – New York: Acad. press, 1984. – Vol. 4. – P. 167 – 219.

90. *Partial* primary structure of human pregnancy zone protein extensive sequence homology with human α_2 -macroglobulin / L. Sottrup-Jensen, J. Folkersen, T. Kristensen, B. F. Tack // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1984. – **81**. – P. 7353 – 7357.

91. *Gerrie L. M., Armstrong S. S., Home C. H. W.* Pregnancy-associated alpha₂-glycoprotein (α_2 -PAG): development of a sensitive enzyme-linked immunoassay and comparison of serum concentration in adults and children // *Clin. chim. acta*. – 1986. – **155**. – P. 51 – 60.

92. *Bauer H. W., Kraus H.* Variation in the level of the pregnancy-associated α_2 -glycoprotein in patients with gynecologic cancer // *Eur. J. Cancer*. – 1980. – **16**. – P. 1475 – 1481.

93. *Stimson W. H., Farguharson D. M.* Pregnancy-associated β_1 - and α_2 -

- macroglobulins. two new serum proteins // *Pregnancy proteins* / Eds. J. G. Grudzinskas, B. Teisner, M. Seppälä – Sydney: Acad. press, 1982. – P. 381 – 390.
94. *Cell lines with spontaneous secretion of pregnancy associated α_2 -globulin* / E. Ludgren, M. G. Damber, G. Roos et al. // *Int. J. Cancer.* – 1979. – **24**, N 1. – P. 45 – 48.
95. *Porr P. J., Abudan O., Dejica D.* Demonstration of α_2 -pregnancy associated-glycoprotein (alpha₂-PAG) in serum of men with different localization of cancer // *Neoplasma.* – 1979. – **26**, N 3. – P. 325 – 328.
96. *Stimson W. H.* Quantitation of a new serum α_2 -macroglobulin in pregnant, preeclamptic and contraceptive steroid treated subjects // *JRCS Med. Sci.* – 1973. – **73**, N 3. – P. 17.
97. *Detection of mammary micrometastases by pregnancy-associated α_2 -glycoprotein (PAG, α_2 -PAG or PAM) and carcinoembryonic antigen (CEA)* / J. M. Anderson, G. Gettinby, S. K. Jhunjhunwala, R. W. Burt // *Eur. J. Cancer.* – 1979. – **15**. – P. 709 – 714.
98. *A study of adenosine 3'-5'-cyclic-monophosphate, sodium butyrate and cortisol as inducers of HeLa alkaline phosphatase* / M. J. Griffin, G. H. Price, K. L. Bassell, R. P. Cox, N. K. Ghosh // *Arch. Biochem. and Biophys.* – 1974. – **164**. – P. 619 – 623.
99. *Goldsiein. D. J., Rogers C., Harris H.* A search for trace expression of placental-like alkaline phosphatase in non-malignant human tissues: demonstration of its occurrence in lung, cervix, testis and thymus // *Clin. chim. acta.* – 1982. – **125**. – P. 63 – 71.
100. *Fishman W. H., Singer R. M.* Placental alkaline phosphatase: regulation of expression in cancer cells // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1975. – **259**. – P. 261 – 265.
101. *Phenotypes of the Regan isoenzyme and identity between the placental D-variant and Nagao isoenzymes* / N. R. Inglis, S. Kirby, L. L. Stolbach, W. H. Fishman // *Cancer Res.* – 1973. – **33**, N 7. – P. 1657 – 1661.
102. *McDicken J. W., McLaughlin P. J., Tromans P. M.* Detection of placental type alkaline phosphatase in ovarian cancer // *Brit. J. Cancer.* – 1985. – **52**. – P. 59 – 64.
103. *Demonstration of placental and placental-like alkaline phosphatases in non-malignant human tissue extracts using monoclonal antibodies in an enzyme immunoassay* / P. J. McLaughlin, P. J. Travers, J. W. McDicken, P. M. Johnson // *Clin. chim. acta.* – 1984. – **137**. – P. 341 – 352.
104. *Вилкинсон Д.* Принципы и методы диагностической энзимологии. – М: Медицина, 1981. – С. 186 – 189.
105. *Lalu K., Lampelo S., Vanha-Perttula A.* Purification of three aminopeptidases from human maternal serum // *Int. J. Biochem.* – 1985. – **17**, N 11. – P. 1227 – 1235.
- 105a. *Behal F. J., Asserson B., Dawson F.* A study of human tissue ammineptidase components // *Arch. Biochem. and Biophys.* – 1965. – **111**. – P. 335 – 344.
106. *Goldbarg J. A., Rutenburg A. M.* The colorimetric determination of leucine aminopeptidase in urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other diseases // *Cancer.* – 1958. – **11**. – P. 283 – 291.
107. *Tamura Y., Niinobe M., Arima T.* Aminopeptidases and arylamidases in normal

- and cancer tissues in humans // *Cancer Res.* – 1975. – **35**. – P. 1030 – 1034.
108. *Leucine* aminopeptidase of neutrophils and lymphocytes in patients with cancer / W. Sulowicz, J. Zisiewicz, T. Cichocki, P. Moszyczynski // *Folia haematol.* – 1986. – **112**, N 3. – P. 397 – 403.
109. Горкин В. З. Аминооксидазы и их значение в медицине. – М.: Медицина, 1981. – 336с.
110. *Gagel R. F.* Tumor markers of medullary thyroid carcinoma // *Oncodevelopmental markers, biologic, diagnostic and monitoring aspects* / Ed. W. H. Fishman. – New York: Acad. press, 1983. – P. 222 – 236.
111. *Histaminase* and other tumor markers in malignant effusion fluids / C. W. Lin. N. R. Inglis, A. H. Rule et al. // *Cancer Res.* – 1979. – **39**, N 12. – P. 4894 – 4899.
112. *Jänne J., Pösö H., Raina A.* Polyamines in rapid growth and cancer // *Biochim. et biophys. acta.* – 1978. – **473**, N 1. – P. 241 – 293.
113. *Tabor C. W., Tabor H.* Polyamines // *Ann. Rev. Biochem.* – 1984. – **53**. – P. 749 – 790.
114. *Polyamines* in amniotic fluids, plasma and urine for a normal pregnancy / R. H. Russell, H. R. Giles, C. D. Christian, J. L. Campbell // *Amer. J. Obstet. and Gynecol.* – 1978. – **132**, N 6. – P. 649 – 652.
115. *Scalabrino G., Ferioli M. E.* Degree of enhancement of polyamine biosynthetic decarboxylase activities in human tumors; a useful new index of degree of malignancy // *Tumor markers in cancer control* / Eds. Nieburgs et al. – New York: Alan Liss Inc., 1985. – P. 11 – 16.
116. *Russell D. H., Durlle B. G. M.* Polyamines as tumor markers // *Tumor markers: impact and prospects* / Eds. E. Boelsma et al. – Amsterdam: Elsevier, 1979. – P. 45.
117. *Saeki Y., Uehara N., Shirakawa S.* // *J. Chromatogr. Biomed. Appl.* – 1978. – **145**. – P. 221 – 229.
118. *Kubota S., Yoshimoto M., Yamasaki Z.* Urinary polyamines as a tumor marker // *Tumor markers in cancer control* / Eds. Nieburgs et al. – New York: Alan Liss Inc., 1985. – P. 189 – 192.
119. *Johnson W. J., Pizzo S. V., Imber M. J., Adams D. O.* Receptors for maleylated proteins regulate the secretion of neutral proteases by murine macrophages // *Science.* – 1982. – **218**. – P. 574 – 576.
120. *Pizzo S. V., Gonias S. L.* Receptor mediated protease regulation // *Receptors* / Ed. by P. M. Conn. – New York: Acad. press, 1984. – P. 177 – 223.
121. *Secretion* of elastase and alpha-2-macroglobulin by cultured murine peritoneal macrophages: studies on the interaction / R. White, G. S. Habicht, H. P. Godfrey et al. // *J. Lab. and Clin. Med.* – 1981. – **97**. – P. 718 – 723.
122. *Ganrot P.-O., Schersten B.* Serum α_2 -macroglobulin concentration and its variation with age and sex // *Clin. chim. acta.* – 1967. – **15**. – P. 113 – 120.
123. *The effects* of electrophoretically by "slow" and "fast" α_2 -macroglobulin on mixed lymphocyte cultures / W. J. Hubbard, A. D. Hess, S. Hsia, D. B. Amos // *J. Immunol.* – 1981. – **126**. – P. 292 – 299.
124. *Modulation* of the immune response by plasma protease inhibitors 1. Alpha₂-

macroglobulin and alpha₁-antitrypsin inhibit natural killing and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity / E. W. Ades, A. Hinson, C. Chapuis-Cellier, P. Arnaud // Scand. J. Immunol. – 1982. – **15**. – P. 109 – 113.

125. *Isolation and characterization of a growth factor (embrionin) from bovine fetuin which resembles α₂-macroglobulin* / D. S. Saloman, M. Bano, K. B. Smith, W. L. Kidwell // J. Biol. Chem. – 1982. – **257**. – P. 14093 – 14101.

126. *Human tumor cells synthesize and secrete alpha-2-macroglobulin in vitro* / J. Bizik, A. Vaheiri, O. Saksela et al. // Int. J. Cancer. – 1986. – **37**. – P. 81 – 88.

127. *Becker C. G., Harpel P. C. α₂-Macroglobulin on human vascular endothelium* // J. Exp. Med. – 1976. – **144**. – P. 1 – 9.

128. *Presence of alpha-2-macroglobulin in normal but not in malignant human syncytiotrophoblast* / O. Saksela, T. Wahlström, P. Lehtovirta et al. // Cancer Res. – 1981. – **41**. – P. 2507 – 2513.

129. *Native α₂-macroglobulin binds to a surface component of human placenta trophoblast* / P. M. Johnson, P. Arnaud, P. Werner, R. M. Galbraith // Placenta. – 1985. – **6**. – P. 323 – 328.

130. *Plasminogen activators, activation inhibitors and α₂-macroglobulin produced by cultured normal and malignant human cell* / O. Saksela, A. Vaheiri, W. D. Schleuning et al. // Int. J. Cancer. – 1984. – **33**. – P. 609 – 619.

131. *Presence of alpha-2-macroglobulin in normal but not in malignant ectocervical epithelium* / O. Saksela, T. Wahlstrom, B. Meyer, A. Vaheiri // Cancer Res – 1984. – **44**. – P. 2942 – 2946.

132. *Thrombin potentiates the mitogenic response of cultured fibroblasts to serum and other growth promoting agents* / B. R. Zetter, T.-T. Sun, L. B. Chen, J. M. Buchanan // J. Cell. Physiol. – 1977. – **92**. – P. 233 – 240.

133. *Hamilton M. N., Hamilton R. T. Secreted proteins, intercellular communication and the mitogenic response* // Cell. Biol. Int. Rep. – 1982. – **6**. – P. 815 – 836.

134. *Differences in secretion of the proteinase cathepsin B at the edges of human breast carcinomas and fibroadenomas* / A. R. Poole, K. J. Tiltman, A. D. Recklies, T. A. M. Stroker // Nature. – 1978. – **273**. – P. 545 – 547.

135. *Liotta L. A., Lee C. W., Morakis D. J. New method for preparing large surfaces of intact human basement membrane for tumor Invasion studies* // Cancer Lett. – 1980. – **11**. – P. 141 – 152.

136. *Liotta L. A., Rao D. N., Wewer U. M. Biochemical interactions of tumor cells with the basement membrane* // Ann. Rev. Biochem. – 1986. – **55**. – P. 1037 – 1057.

137. *Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen* / L. A. Liotta, K. Tryggvason, S. Qarbisa et al. // Nature. – 1980. – **284**. – P. 67 – 68.

138. *Inhibition of tumor cell-mediated extracellular matrix destruction by a fibroblast proteinase inhibitor, protease nexin I.* / B. L. Bergman, R. W. Scott, A. Bajpai et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1986. – **83**. – P. 996 – 1000.

139. *Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеолиз в норме и при патологии.* – Киев: Здоров'я, 1988. – 199 с.

140. Moscher D. F., Saksela O., Vaheri A. Synthesis and secretion of α_2 -macroglobulin by adherent lung cells // J. Clin. Invest. – 1977. –**60**. – P. 1036 – 1045, 1045.

141. *Localization* of serum-derived α_2 -macroglobulin in cultured cells and decrease after Molony sarcoma virus transformation / I. Pastan, M. Willingham, W. Anderson, M. Gallo // Cell. – 1977. – **12**. – P. 609 – 617.

Глава 3

ЯДЕРНЫЕ И МЕМБРАННО-СВЯЗАННЫЕ ОНКОБЕЛКИ – РЕЦЕПТОРЫ ГОРМОНОВ И ФАКТОРОВ РОСТА

3.1. Общие принципы участия протоонкогенов в процессах нормальной клеточной жизнедеятельности

Изучение генетических механизмов злокачественной трансформации привело к обнаружению группы генов, получивших название протоонкогенов (*c-onc*) Первоначально к их числу были отнесены гены, гомологичные известным трансформирующим генам ряда ретровирусов – *v-onc* [1]. Примером таких генов могут служить *c-Ha-ras*, *c-myc*, *c-fos*, *c-sis* и другие клеточные гены, захват которых ретровирусами сопровождался их онкогенной активацией [1]. Помимо *v-onc*-гомологичных генов, в геноме человека и грызунов обнаружены *v-onc*-негомологичные гены, способные в определенных условиях трансформировать культивируемые клетки различных линий [1].

Представители обеих групп генов характеризуются высокой эволюционной консервативностью и выявляются в геноме животных, находящихся на различных ступенях эволюционной лестницы [1]. Так, гены семейства *ras* обнаружены даже в дрожжах, где они входят в состав группы генов, контролирующей клеточное деление [2]. Другой пример высокой эволюционной консервативности гены – *int-1* и *int-2*. Белки, кодируемые этими генами гомологичны фактору роста фибробластов, регулирующему пролиферацию клеток соединительной ткани и других гистологических типов [3]. Установлено, что экспрессия генов *int-1* и *int-2* в эмбриональных клетках дрозофил обеспечивает их адекватный морфогенез [3]. Эти факты свидетельствуют, что протоонкогены кодируют белки, необходимые для нормальной пролиферации и дифференцировки.

Веским аргументом в пользу этого предположения явились данные об изменении экспрессии ряда протоонкогенов в ходе эмбрионального развития. Было установлено, что экспрессия протоонкогенов *c-myc*, *c-sis*, *c-Ha-ras*, *c-sis* варьирует в зависимости от стадии эмбрионального развития мышей [4, 5]. Так, уровень экспрессии *c-myc* на 17-е сутки развития эмбриона был в 2–5 раз выше аналогичных показателей, определяемых в другие сроки развития эмбриона. Экспрессия *c-src* характерна для более поздних сроков эмбрионального развития. Анализ экспрессии протоонкогена *c-fos* показал, что максимальный

уровень его экспрессии регистрируется на 6–9-е сутки развития эмбриона. Оказалось, что высокий уровень экспрессии *c-fos* обусловлен не клетками эмбриона, а экстраэмбриональными тканями, и в частности плацентой. Сравнительный анализ показал, что экспрессия *c-fos* в плаценте в 10 раз выше, чем в тканях эмбриона. При этом высокий уровень экспрессии *c-fos* не зависит от стадии развития эмбриона. Установлено также, что в ходе эмбрионального развития существенно изменяется экспрессия гена *c-fms* [5]. Как и в случае *c-fos*, экспрессия этого гена максимальна в плаценте. Экспрессия *c-fms* изменяется в ходе развития эмбриона, достигая максимума на 15–18-е сутки развития. Приведенные данные показывают, что «включение» определенного протоонкогена соответствует строго определенному этапу эмбрионального развития, являясь его своеобразным маркером.

Свидетельством существования сложной системы вовлечения протоонкогенов в процессы дифференцировки и деления служат данные о различном характере экспрессии в ходе пре- и постнатального развития генов семейства *тус* [6]. Гены, гомологичные вирусному онкогену *v-тус*, формируют мультигенное семейство, в которое входят гены *c-*, *L-* и *N-тус* [7]. Гены *N-* и *c-тус* имеют 5'-некодирующий экзон, характеризуются высокой гомологией экзонов и проявляют примерно одинаковый трансформирующий потенциал при трансфекции клеток NIH 3T3 [7, 8]. Ген *L-тус* менее охарактеризован, но также высоко гомологичен гену *c-тус*. Установлено, что эти гены по-разному экспрессируются в клетках опухолей человека. *N-тус* экспрессируется исключительно в нейро- и ретинобластомах и клетках мелкоклеточного рака легких [7]. Экспрессия *L-тус* выявляется только в клетках мелкоклеточного рака легких [9]. Ген *c-тус* экспрессируется в клетках самых различных опухолей человека и животных [10]. Сравнительный анализ экспрессии протоонкогенов семейства *тус* в разных тканях мышей в ходе постнатального развития показал, что экспрессия каждого из них характеризуется определенной стадией- и тканеспецифичностью. Например, экспрессия *N-тус* была максимальной в клетках мозга, кишечника и почках новорожденных и более чем в 20 раз снижалась в аналогичных тканях взрослых мышей. Подобным, но не абсолютно аналогичным образом изменялась экспрессия *L-тус*. Общим для всех исследованных генов было резкое снижение экспрессии после рождения. При этом кинетика изменения экспрессии у разных генов семейства *тус* была также различной как в ходе эмбрионального развития, так и на ранних этапах постнатального развития.

Общим недостатком рассматриваемых исследований является анализ экспрессии мРНК на уровне либо целого эмбриона, либо его органов. Вполне вероятно, что более детальное исследование тканеспецифической экспрессии протоонкогенов, например методом гибридизации *in situ*, позволит точнее обозначить их роль в морфо- и гистогенезе.

Исследование экспрессии протоонкогенов в нормальных клетках человека и животных позволило сделать вывод об определенной

тканеспецифичности экспрессии некоторых протоонкогенов. Так, ген *c-src* экспрессируется преимущественно в нейрональных и мышечных клетках [11]; *c-cets* – в лимфоидных клетках [12], *c-abl* и *c-mos* – в клетках герминального эпителия яичек [13], *c-erb B-2* – в клетках эпителия почечных канальцев [14], *c-fos* – в активированных макрофагах и клетках костного мозга [15], *c-sis-2* – в клетках эндотелия сосудов [16]. По-видимому, продукты перечисленных генов выполняют специфическую функцию, характерную для клеток определенного типа. Для некоторых из них эти функции достаточно хорошо известны. Например, продукт гена *c-sis-2* гомологичен фактору роста из тромбоцитов – ФРТ [17]. Его экспрессия клетками эндотелия обеспечивает, по-видимому, репарацию интимы сосудов [17]. Белок, кодируемый *c-src-pp^{60c-src}*, является тирозиновой протеинкиназой, играющей существенную роль в контактах клеток между собой и с внеклеточным матриксом [18].

Гибкость регуляции функции клеток с помощью протоонкогенов обеспечивается существованием тканеспецифической системы сплайсинга. В зависимости от гистологического типа клеток первичная структура мРНК, транскрибируемой с одного и того же гена, может существенно различаться в силу существования механизма альтернативного сплайсинга [19]. Примером служат данные об альтернативном сплайсинге *c-sis-1* мРНК, кодирующей белок, гомологичный А-цепи фактора роста из тромбоцитов [20]. Различия в 69 нуклеотидов между мРНК *c-sis-1* в клетках эндотелия аорты и глиальных клетках, обуславливают неодинаковую аффинность синтезируемого фактора роста по отношению к специфическому рецептору. Вполне вероятно, что в результате альтернативного сплайсинга белок, кодируемый протоонкогеном *c-erb B-2* в эпителии канальцев почек, не является рецептором фактора роста, а участвует в реабсорбции ионов

Для понимания роли протоонкогенов в функционировании клетки следует рассматривать не только сам факт экспрессии и даже первичную структуру соответствующей мРНК, но и позицию экспрессирующегося белка в существующей иерархии онкобелков. В данном случае под иерархией онкобелков подразумеваются особенности их локализации в клетке. Известно, что ряд онкобелков, кодируемых, например, онкогенами *c-erb B-1*, *c-erb B-2*, *c-ros*, *c-kit*, *c-fms*, локализованы непосредственно на клеточной мембране и кодируют рецепторы факторов роста и рецепторподобные белки [21]. В свою очередь, факторы роста могут кодироваться проонкогенами *c-sis-1* и 2, *int-1*, 2, а гены других факторов роста а (ЭФР, ФРФ, ФРТ) в определенных условиях ведут себя как активные онкогены [21]. Онкобелки, кодируемые онкогенами *c-src*, *c-Ha-ras*, *c-mos*, *c-fgr*, могут ассоциироваться с мембранными структурами и белками цитоскелета [1, 21]. И, наконец, некоторые онкогены (*c-fos*, *c-myc*, *c-myb*, p53, *c-erb A*, *c-jun*) кодируют белки, локализованные в ядре [1]. Первые три группы генов определяют специфичность действия на клетку факторов дифференцировки и пролиферации. Итог этого – включение определенных генов, характерных для клеток данного гистологического типа.

Несмотря на различную природу факторов, действующих на клетку, общим в ее реакции является изменение экспрессии генов, кодирующих белки-регуляторы транскрипции. Они могут быть разделены на две группы. К первой относятся белки, локализованные в ядре, ассоциированные с ДНК, но не взаимодействующие непосредственно со строго определенными нуклеотидными последовательностями. Примером таких генов могут быть протоонкогены *fos* и *myc*. Вторая группа представлена белками, взаимодействующими с определенными консенсусными последовательностями ДНК. К ним относятся белки, кодируемые протоонкогенами *myb*, *p53*, *c-erb A*, *c-jun*. Последний гомологичен белковым факторам активации транскрипции AP-I, PEA1 и GCN4 [22].

С учетом приведенной иерархической структуры роль протоонкогенов в пролиферации и дифференцировке следует рассматривать исключительно в контексте особенностей клеток, в которых регистрируется экспрессия протоонкогенов. Например, экспрессия генов *c-fos* и *c-myc* существенно возрастает при стимуляции деления фибробластов и лимфоидных клеток [23]. Одновременно подавление деления клеток карциномы A431 при действии больших доз эпидермального фактора роста также сопровождается увеличением экспрессии *c-fos* [24]. Деполяризация клеток с помощью ионофоров приводит к повышению экспрессии *fos* без изменения интенсивности клеточного деления [25]. Дифференцировка клеток моноцитарного лейкоза сопровождается возрастанием экспрессии *c-fos* на фоне снижения пролиферативной активности [23].

В настоящее время стало известно, что белок, кодируемый *c-fos*, ассоциирован с фактором активации транскрипции AP-I, который, в свою очередь, взаимодействует с соответствующими AP-I-связывающими участками ДНК в промоторной зоне генов [26]. Это может означать, что увеличение экспрессии *c-fos* и других генов, кодирующих белки, прямо или косвенно взаимодействующие с ДНК, обеспечивает экспрессию самых различных генов, спектр которых определяется более ранними морфогенетическими событиями, делающими эти гены доступными для факторов транскрипции.

Таким образом, рассмотренные общие принципы вовлечения онкогенов в процессы нормальной клеточной жизнедеятельности, свидетельствуют о близости молекулярных механизмов эмбрио- и канцерогенеза. Один из наиболее важных аспектов функционирования протоонкогенов – их роль в регуляции клеточного деления.

Пролиферация нормальных клеток обеспечивается координированным действием полипептидных факторов роста, гормонов и метаболитов, участвующих в инициации клеточного деления и прохождении цикла. К числу полипептидных факторов роста относятся как сравнительно убиквитарные факторы роста эпидермиса (ЭФР), фибробластов (ФРФ) и фактор роста из тромбоцитов (ФРТ), так и строгоспециализированные факторы пролиферации клеток определенных гистологических типов, например факторы, избирательно

влияющие на деление и дифференцировку кроветворных клеток. Эти факторы действуют на клетки-мишени путем взаимодействия со специфическими рецепторами на клеточной мембране. Возникающие в ходе такого взаимодействия плеiotропные изменения клеточного метаболизма приводят к перепрограммированию транскрипции генома в направлении, характерном для делящихся клеток. При действии факторов роста синтезируемые *de novo* мРНК могут существенно отличаться от мРНК покоящихся клеток и в зависимости от природы фактора могут быть объединены в семейства ЭФР-индуцибельных генов, ФРТ-индуцибельных генов и т. п. Как правило, часть этих генов кодирует белки, непосредственно взаимодействующие с ДНК и влияющие на транскрипцию генов. Таким образом, функционирование всех указанных звеньев передачи митогенного сигнала обязательно для адекватной пролиферации клеток.

Регуляция пролиферации с помощью факторов роста, по-видимому, филогенетически более поздняя форма, так как требует обеспеченности клеток разнообразными энзиматическими системами передачи митогенного сигнала от мембраны к ядру. В отличие от факторов роста стероидные гормоны характеризуются более прямым действием на работу генома. Эти гормоны взаимодействуют с рецепторами непосредственно внутри клетки, и образующийся комплекс оккупирует определенные участки ДНК, контролирующие экспрессию соответствующих генов.

Независимо от природы фактора, действующего на клетку, для осуществления транскрипции генов необходимо функционирование специфических регуляторов. Наряду с гистонами к их числу относятся белковые регуляторы транскрипции, взаимодействующие с промоторами генов, белки, участвующие в декомпактизации ДНК, катализаторы сплайсинга пре-мРНК, а также ферменты, участвующие в посттранскрипционной внутриядерной модификации мРНК [19].

Приведенную схему регуляции деления условно можно назвать нормальной, т. е. характерной для нетрансформированных клеток. Исследование механизмов неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток показало, что в основе этого феномена могут лежать диспропорции отдельных звеньев системы передачи митогенного сигнала [1, 21]. В свою очередь, причиной этого могут быть структурно-функциональные изменения генов, кодирующих факторы роста, их рецепторы, другие регуляторные белки, а также факторы-регуляторы транскрипции генов.

К числу таких генов можно отнести онкогены клеточного и вирусного происхождения. При определении первичной структуры белков-регуляторов пролиферации, с одной стороны, и белков-продуктов онкогенов – с другой, в ряде случаев выявлена либо их полная идентичность, либо высокая степень гомологии между функционально значимыми доменами этих белков.

В последние годы особенно тщательно изучались гены, кодирующие рецепторы стероидных гормонов и факторов роста. Это обусловлено

существованием значительной информации, свидетельствующей о роли стероидных гормонов и факторов роста в процессах канцерогенеза у животных и человека.

3.2. Ядерные белки – рецепторы стероидных гормонов

В течение последних лет были проклонированы и секвенированы гены, кодирующие рецепторы эстрогенов, прогестерона, глюкокортикоидов и минералокортикоидов, андрогенов и витамина D₃. В результате сопоставления первичной структуры и мутационного анализа установлен ряд принципиальных свойств генов (рис. 9). Во-первых, белки рецепторов содержат два высококонсервативных района, соответствующих функционально значимым доменам: ядерному, или ДНК-связывающему, и гормонсвязывающему [27]. Во-вторых, выявлена существенная гомология между белками рецепторов и белком, кодируемым онкогеном *v-erb A*, входящим в состав вируса эритробластоэмии птиц [28]. Последний факт лег в основу гипотезы о существовании *erb A*-подобного семейства клеточных генов, кодирующих рецепторы стероидных гормонов. Дальнейшие исследования показали, что клеточный гомолог *v-erb A* – протоонкоген *c-erb A* – кодирует рецептор тиреоидных гормонов, который совместно с рецепторами стероидов образует семейство ДНК-связывающих белков – модуляторов транскрипции [27].

3.2.1. Первичная структура рецепторов стероидных гормонов

Рецептор эстрогенов. Для более детального изучения механизма функционирования рецептора эстрогенов две группы исследователей в 1986 г. осуществили клонирование и определение нуклеотидной последовательности кДНК рецептора эстрогенов (РЭ) человека и курицы [29]. Несколько позже были проклонированы аналогичные кДНК крысы и лягушки [27]. Анализ нуклеотидных последовательностей показал, что эти гены кодируют белок с молекулярной массой около 66 кД – 595, 589, 600 и 586 аминокислотных остатков (ак) соответственно у человека, курицы, крысы и лягушки. При сопоставлении аминокислотной последовательности белков наряду с высокой консервативностью рецептора (69–89%) выявлено существование районов максимальной гомологии, обозначаемых как области *A*, *C* и *E* (см. рис. 9). Наиболее идентичными, как и следовало ожидать, оказались рецепторы эстрогенов лягушки и курицы. В области *A* степень гомологии сравниваемых белков колебалась в пределах от 70 до 100 %, в гидрофильной области *C* (предполагаемый ДНК-связывающий домен) выявлена практически полная (99–

100 %) гомология, и в гормонсвязывающей области E гомология составляла 82–90 %.

Рецептор прогестерона. Установление нуклеотидной последовательности мРНК рецепторов прогестерона цыплят, кроликов и человека [27] позволило провести сопоставление их первичной структуры с рецепторами других стероидных гормонов. Отличительной особенностью этого класса рецепторов является их крайне высокая консервативность, выражающаяся, например, в полной идентичности областей C и E (см. рис 9). Именно в этих областях выявляется также максимальная схожесть рецептора прогестерона с рецепторами других гормонов.

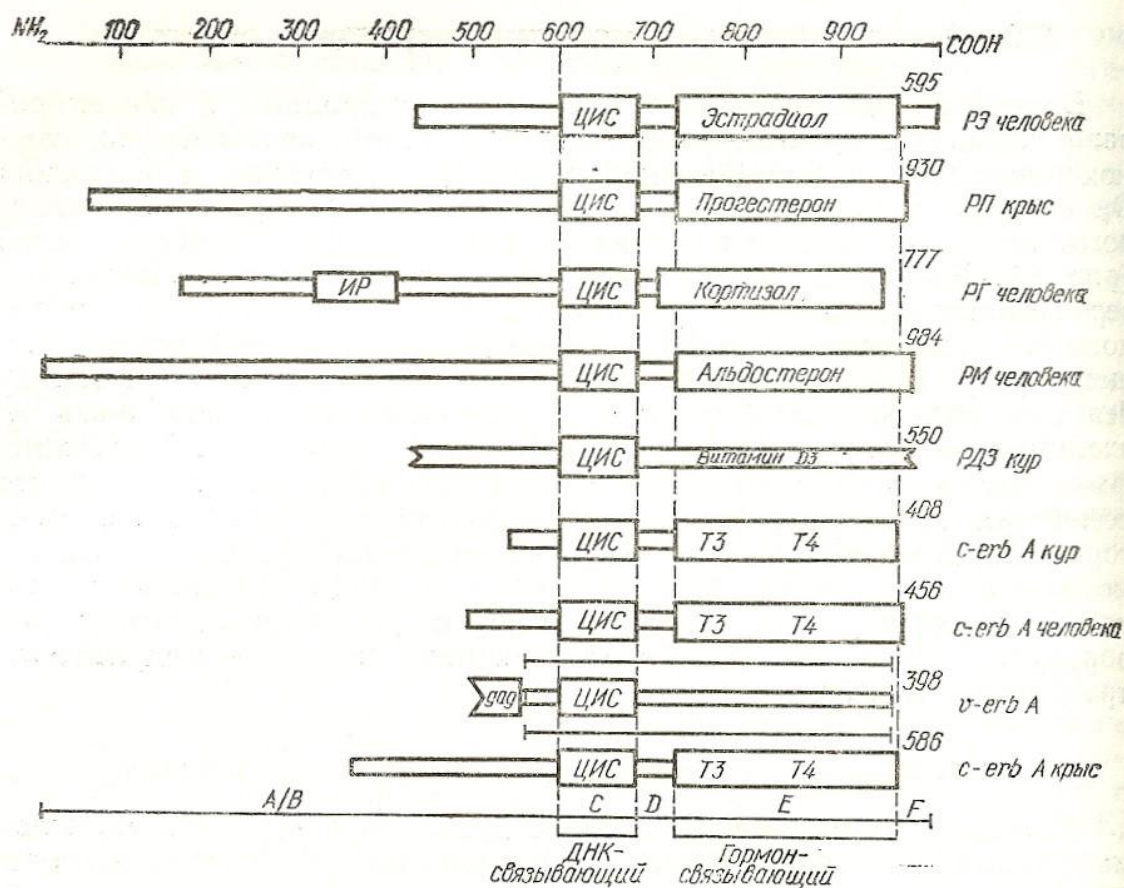


Рис. 9. Сравнительная характеристика первичной, структуры рецепторов стероидных и тиреоидных гормонов:

Вверху – размеры белков (число аминокислот); число, указанное на СООН-конце каждого белка, соответствует его размерам; внизу – подразделение на функционально значимые домены (А–Г); ИР – иммуногенный район; РГ – рецептор глюкокортикоидов; РДЗ – рецептор витамина Д₃; РМ – рецептор минералокортикоидов; РП – рецептор прогестерона; РЭ – рецептор эстрогенов.

В целом, рецептор прогестерона максимально гомологичен рецепторам глюкокортикоидов и минералокортикоидов и далее, в порядке убывания гомологии, рецепторам эстрогенов, витамина D и тиреоидных гормонов. Проклонированная кДНК рецептора прогестерона цыплят кодирует полипептид, состоящий из 787 аа, тогда как аналогичные рецепторы крыс и человека содержат 140 дополнительных аминокислотных остатков на NH₂-конце белка. Помимо этого, клетки, чувствительные к прогестерону, содержат две изоформы рецепторов, обозначаемые как *A* и *B*. Вероятно, оба эти белка кодируются одной мРНК, но имеют различные точки инициации трансляции.

Рецептор глюкокортикоидов. В 1985–1986 гг. была установлена первичная последовательность белков-рецепторов глюкокортикоидов человека, крысы и мыши [30]. Согласно полученным данным, белок рецептора глюкокортикоидов существует в двух формах – α и β , отличающихся COOH-концом. Оба этих белка гомологичны другим рецепторам стероидных и тиреоидных гормонов в районе *C* (см. рис. 9). Межвидовые различия первичной структуры рецепторов глюкокортикоидов выражены крайне незначительно. Обращает на себя внимание гомология короткого участка на NH₂-конце рецептора глюкокортикоидов и белков, кодируемых генами *A ntp* и *ftz* дрозофилы. Эти гены относятся к семейству так называемых гомейозисных генов и управляют процессом развития у дрозофилы [31].

Рецептор минералокортикоидов. В 1987 г. Arrisa, и соавт. [32] проклонировали и определили нуклеотидную последовательность кДНК, рецептора минералокортикоидов. Было установлено, что рецептор минералокортикоидов состоит из 984 аа, что значительно превышает размеры других рецепторов стероидных гормонов. Указанная особенность обусловлена уникально протяженной последовательностью на NH₂-конце рецептора, функция которой не установлена. Степень гомологии рецепторов минерало- и глюкокортикоидов максимальна (94%) в ДНК-связывающей и минимальна (57%) в гормонсвязывающей области. В свою очередь, гомология рассматриваемого рецептора и рецептора прогестерона в данной области составляет соответственно 90 и 56%. У рецептора эстрогенов степень гомологии с рецептором минералокортикоидов существенно ниже, чем у указанных белков, – всего 56% в ДНК-связывающей и 21% в гормонсвязывающей областях. Еще более низкая степень гомологии характерна для рецептора минералокортикоидов и белка, кодируемого онкогеном *v-erb A* – соответственно 40 и 17% в областях *C* и *E*. Перечисленные различия в степени гомологии сравниваемых белков позволяют разделить их на два основных субкласса, один из которых включает рецепторы минерало- и глюкокортикоидов, прогестерона, а второй – рецепторы эстрогенов, витамина D и белки, кодируемые генами *v*- и *c-erb A*.

Рецептор витамина D. Эффекты гормона 1,25-дигидроксивитамина D₃

(витамин D) опосредуются путем его взаимодействия со специфическим клеточным рецептором, присутствующим в клетках-мишенях в крайне незначительном количестве (~0,001 % общего цитоплазматического белка). Размеры белка-рецептора витамина D (PD) колеблются от 52–54 кД у человека, мыши и свиньи до 58–60 кД у цыплят. Ген PD был проклонирован и на основании его нуклеотидной последовательности определена первичная структура белка в области C [27]. Установлено наличие выраженной гомологии в этой области между PD и другими рассмотренными выше рецепторами. Полная нуклеотидная последовательность кДНК PD еще не определена. Однако по данным De Luca [33], этот белок кодируется мРНК размером 4,6 т. о. и состоит из 427 аминокислот. По предварительным данным, PD гомологичен рецепторам стероидных гормонов в районах C и E (см. рис. 9).

3.3. Онкогены семейства *erb A* и рецепторы тиреоидных гормонов

В результате сопоставления аминокислотной последовательности рецептора глюкокортикоидов с другими белками выявлена существенная гомология между СООН-концевой частью рецептора и белком, кодируемым геном *v-erb A*. Этот ген, как и ген *v-erb B*, входит в состав вируса эритробластоэза птиц АЕV [34]. В отличие от *v-erb B* *v-erb A* не способен самостоятельно вызывать трансформацию клеток, но в кооперации с *v-erb B* и другими генами семейства *src* способен блокировать дифференцировку клеток эри-роидного ряда

В трансформированных клетках *v-erb A* мРНК транслируется в виде слитного белка *gag-erb A* с молекулярной массой приблизительно 75 кД ($p75^{gag-erb A}$), который может расщепляться ретровирусной протеазой p15 соответственно на $p30^{gag}$ и $p45^{erb A}$ [34].

Сопоставление 387 С-концевых аминокислот рецептора глюкокортикоидов с 395 аминокислотами $p75^{gag-erb A}$ выявило 22%-ю гомологию между этими белками. Особо существенное сходство наблюдалось в цистеин-(лизин) аргининбогатом районе рецептора (421–481 аминокислоты), в котором 9 из 10 остатков цистеина рецептора коллинеарны цистеинам в молекуле $p75^{gag-erb A}$. Этот участок составляет сердцевину ДНК-связывающего домена, определяющего специфичность ДНК-рецепторного взаимодействия [29]. Исходя из указанной гомологии, белку $p75^{gag-erb A}$ должна быть присуща способность к взаимодействию с ДНК, что, в свою очередь, позволяет предположить несколько вариантов вовлечения этого белка в регуляцию клеточной дифференцировки.

Первый вариант предполагает существование «бессмысленной» связи $p75^{gag-erb A}$ с ДНК, основываясь на механизме действия на транскрипцию генов мутантных форм рецептора глюкокортикоидов. Один из описанных типов мутантных рецепторов способен к связыванию как с лигандом, так и с ДНК, но

не вызывает соответствующего физиологического эффекта [35]. Подобная аномалия обусловлена отсутствием в мутантной форме рецептора домена, непосредственно взаимодействующего с ферментативным аппаратом транскрипции. Тем самым этот тип рецептора напоминает $p75^{gag-erb A}$, также лишенный этого участка [29]. Таким образом, $p75^{gag-erb A}$ может блокировать взаимодействие нормальных регуляторных белков с экранированными им участками ДНК.

Второй вариант функционирования $p75^{gag-erb A}$ базируется на существовании другого типа мутантных рецепторов глюкокортикоидов, способных к связыванию с лигандом, но не с ДНК [35]. Белки этого типа – потенциальные конкуренты нормальных рецепторов за связь с гормоном. Возможно, $p75^{gag-erb A}$ функционирует именно по этому механизму. Damm и соавт. [36] сообщили о существовании мутантной формы белка гена *v-erb A*, не способной к кооперативному взаимодействию с белком гена *v-erb B* и потому не влияющей на дифференцировку клеток. Установлено, что причиной утраты *v-erb A*-специфической активности является точечная мутация, вследствие которой в $p75^{gag-erb A}$ аргинин в положении 144 замещен пролином. Мутация локализуется в зоне между ДНК- и лигандсвязывающими доменами, что, вероятно, может сказываться на ДНК-связывающей активности белка $p75^{gag-erb A}$. Характерно, что мутация в аналогичном положении в рецепторе глюкокортикоидов снижала его способность к регуляции транскрипции генов, не влияя на связывание с лигандом и ДНК [29]. Можно также предположить, что поскольку гормон-рецепторный комплекс взаимодействует с различными участками ДНК, указанная мутация может селективно повлиять на связывание комплекса с каким-либо определенным геном или регуляторной последовательностью. Тогда в отличие от нормального рецептора, характеризующегося определенным уровнем специфичности (аффинности) по отношению к различным последовательностям ДНК, у $p75^{gag-erb A}$ этот уровень может быть изменен. Из данного предположения, в свою очередь, следует, что в условиях сохранения у этого белка ДНК-связывающей активности может происходить перепрограммирование транскрипции.

Первоначально предполагалось, что гомология $p75^{gag-erb A}$ с рецептором глюкокортикоидов исчерпывает возможную физиологическую роль этого белка и, следовательно, его лигандом является один из стероидных гормонов. Соответственно белок клеточного гомолога гена *v-erb A* – *c-erb A* также может принимать участие в рецепции стероидных гормонов. С целью поиска лиганда белка, кодируемого *c-erb A*, кДНК этого гена была клонирована в векторе, содержащем промотор Т7 РНК-полимеразы, что позволило получить достаточное количество мРНК гена *c-erb A*, использованной затем в качестве матрицы в системе бесклеточного синтеза белка [37]. Трансляция мРНК гена *c-erb A* сопровождалась появлением в среде инкубации двух белков с молекулярной массой приблизительно 46 и 40 кД, преципитировавшихся специфической анти- $p75^{gag-erb A}$ -антисывороткой. Аналогичные белки выявлены

в лизатах различных клеток птиц, что указывает на идентичность белков, полученных в бесклеточной системе, и белков, кодируемых геном *c-erb A*.

Близость молекулярной массы белка, кодируемого геном *c-erb A*, и белка-рецептора тиреоидных гормонов (~47 кД) позволила авторам предположить идентичность данных белков. Экспериментальная проверка этой гипотезы показала, что белок, транслируемый *in vitro* с мРНК гена *c-erb A*, обладает способностью специфически связывать трийодтиронин (Т₃) и не связывает дексаметазон, эстрадиол, альдостерон, тестостерон и 7-дегидрохолестерол [37]. Аналогичные данные получены *in vitro* при оценке связывания Т₃ и других лигандов ядрами клеток, инфицированных рекомбинантным ретровирусом, несущим кДНК гена *c-erb A* [37]. По всем параметрам связывание Т₃ с ядрами этих клеток не отличалось от связывания трийодтиронина с контрольными клетками гипофиза крыс СН₁, экспрессирующими $1-2 \times 10^4$ рецепторов Т₃ на клетку. В связи с этим представляется очень вероятным, что продукт трансляции гена *c-erb A* и рецептор тиреоидных гормонов – это один и тот же белок.

В отличие от клеточного белка, кодируемого геном *c-erb A*, р75^{*gag-erb A*} не связывается ни с Т₃, ни с другими лигандами. Этот факт позволяет предположить третий вариант функционирования вирусного белка, подразумевающий сохранение у него ДНК-связывающей активности с параллельной утратой способности к взаимодействию с лигандом. Причиной этого являются структурные различия между генами *v-* и *c-erb A* [38].

При сравнении нуклеотидной последовательности генов *c-erb A* и *v-erb A* в последнем выявлено 17 точечных мутаций, 2 из которых приводят к аминокислотным заменам в ДНК-связывающем участке и 11 – в других районах белка. Помимо этого, в р75^{*gag-erb A*} отсутствует 9 из 12 аминокислот, замыкающих С-концевую часть белка, кодируемого геном *c-erb A*, концевая часть клеточного белка также на 12 аминокислот длиннее *v-erb A*-специфической части р75^{*gag-erb A*} [38].

Таким образом, структурно детерминированное нарушение способности белка р75^{*gag-erb A*} связывать Т₃ на фоне сохранения ДНК-связывающей способности определяет, по-видимому, основной механизм действия гена *v-erb A* на клетку. Тот факт, что естественным лигандом для белка, кодируемого *c-erb A*, является Т₃, не исключает, а, по нашему мнению, дополняет изложенные выше варианты действия р75^{*gag-erb A*} на клетку. Как тиреоидные, так и стероидные рецепторы имеют ядерную локализацию. Их действие на клетку определяется связью гормон-рецепторного комплекса с ДНК и реализуется через N-концевой домен, взаимодействующий с транскрипционным аппаратом ядра. Несомненно, что Т₃ и стероиды регулируют транскрипции различных генов. Однако именно в молекуле р75^{*gag-erb A*} эти различия нивелируются в силу отсутствия у данного белка способности к связыванию с лигандом.

Неспособность к акцепции регуляторных воздействий может привести к неконтролируемому стабильному изменению транскрипции кластера генов,

контролируемой в норме гормонами. Белок p75^{gag-erb A} или продукт структурно измененного гена *c-erb A* может вмешиваться в естественный нормальный путь T₃-зависимой регуляции клеточного метаболизма. В случае эритробластов, трансформированных *v-erb A*, это может приводить к нарушению синтеза гемина и белков анионных каналов, играющих существенную роль в дифференцировке этих клеток [39]. В клетках другого гистогенеза последствия экспрессии гена *v-erb A* или структурно измененного *c-erb A* могут имитировать ситуацию, напоминающую синдром аномального тиреоидного статуса. Например, введение тиреоидных гормонов тиреоидэктомированным животным способствовало развитию у них гепатом под влиянием различных канцерогенов [40]. Установлено, что тиреоидные гормоны способны стимулировать рост и метастазирование опухолевых клеток, усиливать трансформирующее действие радиации и аденовирусной инфекции на культивируемые клетки, потенцировать трансформирующее действие других онкогенов по отношению как к эритро-, так и к фибробластам [41].

В клетке существует, по-видимому, семейство *v-erb A*-подобных генов, по-разному экспрессирующихся в клетках различного гистогенеза [42]. Об этом свидетельствуют данные о локализации *c-erb A* на хромосоме как 3, так и 17 (*q11-q722*). Этот район хромосомы 17 вовлечен в транслокацию (Мз), характеризующую острый промиелоцитарный лейкоз человека [43]. Однако гибридизация ДНК из опухолевых и нормальных клеток не выявила существенных различий в структуре гена *c-erb A* нормальных и опухолевых клеток.

О вовлечении *c-erb A* в канцерогенез у человека свидетельствуют данные Dejean и соавт. [44], показавших интеграцию ДНК вируса гепатита В в участок генома клеток гепатомы человека, гомологичный *c-erb A*. Интеграция вируса выявлялась в нескольких нуклеотидах выше начала последовательности, кодирующей ДНК-связывающий домен, и весь этот геномный локус, по-видимому, транскрибировался с вирусного промотора. К сожалению, в силу ограниченного количества клинического материала авторы не смогли продемонстрировать экспрессию гена в клетках гепатомы.

3.4. Стероидные гормоны в экспрессия протоонкогенов

Один из подходов к изучению взаимосвязи экспрессии протоонкогенов и действия стероидных гормонов в различных клетках-мишенях заключается в исследовании экспрессии наиболее хорошо охарактеризованных протоонкогенов в опухолях гормончувствительных органов. Классической моделью в этих исследованиях стали первичные опухоли молочной железы человека и животных, а также стабильные линии клеток этих опухолей. В частности, установлено увеличение экспрессии мРНК и усиление синтеза белка

гена *c-Ha-ras* в опухолях молочной железы по сравнению с нормальной тканью [45]. Обнаружено также [45] повышение экспрессии протоонкогена *c-myc* в 70 % первичных опухолей молочной железы, обусловленное как его усиленной транскрипцией, так и амплификацией соответствующего геномного локуса. В опухолях молочной железы увеличение экспрессии большинства известных онкогенов обнаружено различными исследователями. Это свидетельствует о полиморфизме изучаемого заболевания и не позволяет использовать экспрессию какого-либо протоонкогена в качестве прогностического признака. Исключение составляет протоонкоген *c-erb B-2* (см. раздел «Онкогены – рецепторы факторов роста»).

Ряд исследований посвящен изучению влияния стероидных гормонов на экспрессию протоонкогенов. Travers, Knowler [46] и Murphy и соавт. [47] показали, что введение крысам в препубертатный период 17β -эстрадиола (E_2) вызывает существенное возрастание экспрессии *c-myc* мРНК уже через 3–4 ч после инъекции. При этом экспрессия протоонкогена *N-myc* увеличивается более чем в 6 раз через 15 мин после введения E_2 , тогда как повышение экспрессии протоонкогена *c-Ha-ras* происходит медленнее, достигая всего 1,5-кратного увеличения через 8 ч после введения гормона. Скорее всего именно повышение экспрессии *N-myc* является прямой реакцией клеток-мишеней на действие E_2 , тогда как изменение экспрессии *c-Ha-ras* и, возможно, других генов – следствие действия на клетки факторов роста, синтезируемых в ответ на эстрогены

Наиболее ярким примером возможного вовлечения стероидных гормонов в процесс канцерогенеза является система *MMTV*. Под этой системой понимают способность глюкокортикоидов регулировать транскрипцию генов, входящих в состав вируса *MMTV* – *mammary murine tumour virus* [48]. В отличие от известных остротрансформирующих ретровирусов *MMTV* не имеет собственного онкогена. Аденокарциномы, индуцированные этим вирусом, возникают через значительный промежуток времени после его введения и являются прямым следствием клонального роста клеток, содержащих одну или несколько копий вируса, интегрированного в геном [38].

Длинный концевой повтор (ДКП) вируса *MMTV* содержит энхансер, усиливающий экспрессию находящихся рядом с ним генов. В опухолях молочной железы вирус интегрируется в локус, соответствующий протоонкогенам *int-1* и *int-2* [3, 49]. В присутствии глюкокортикоидов интегрированный *MMTV* стимулирует транскрипцию *int-1* и *int-2* благодаря связи гормон-рецепторного комплекса с указанным энхансером. В последнее время благодаря расшифровке первичной структуры генов *int-1* и *int-2* стал вырисовываться возможный механизм *MMTV*-канцерогенеза молочной железы. Установлено, что белок, кодируемый *int-2*, гомологичен фактору роста фибробластов [3]. В свою очередь, гиперэкспрессия этого фактора роста может приводить к усилению пролиферации соответствующих клеток-мишеней, возможно, клеток полигонального эпителия, подвергающихся затем

злокачественной трансформации. Вероятно, *int-2*, как и другие протоонкогены, не может быть единственной причиной развития опухоли, а является одним из обязательных участников ансамбля генов, ответственных за процесс многоступенчатой трансформации.

MMTV – характерная, но не единственная система, чувствительная к действию глюкокортикоидов. Известно, что регуляция экспрессии генов металлотнионина человека и мыши, α_{24} -глобулина крыс, гормона роста человека и крысы, лизоцима цыплят и утероглобулина кролика также осуществляется с участием этих гормонов [50]. Это, по-видимому, обусловлено наличием в ДНК определенной консенсусной последовательности, связывающей гормон рецепторный комплекс [35, 40]. В то же время аффинность этого комплекса по отношению к ОНК и выраженность его действия на транскрипцию генов могут существенно различаться у разных генов.

Ряд экспериментальных данных свидетельствует о прямом влиянии глюкокортикоидов на экспрессию протоонкогенов в опухолевых клетках, не несущих *MMTV*. Обработка глюкокортикоидами клеток мышинной лимфомы S49 приводила к резкому снижению экспрессии протоонкогенов *c-myc*, *c-mus*, *c-Ki-ras* [51]. Изменение экспрессии этих генов может быть либо причиной, либо следствием ростигибирующего действия глюкокортикоидов на клетки этой опухоли. В ряде случаев указанный эффект глюкокортикоидов связан с их способностью подавлять экспрессию генов, кодирующих факторы роста, например *c-sis-2* [52]. Вероятно, в каждом отдельном случае наборы генов, изменяющих свою транскрипцию под влиянием глюкокортикоидов, совершенно различны.

К числу сфероидных гормонов, существенно влияющих на экспрессию протоонкогенов в клетках-мишенях, относится витамин D. Как известно, витамин D контролирует кальциевый гомеостаз в организме. Рецепторы витамина D (PD) обнаружены как в нормальных клетках кишечника, костей и почек, так и в клетках различных опухолей человека и животных. Исследование действия витамина D на опухолевые клетки, несущие PD, показало его способность влиять на рост этих клеток и экспрессию в них различных протоонкогенов. В частности, было установлено, что индуцированная экзогенным ЭФР пролиферация фибробластов NIH 3T3 может быть подавлена внесением в среду витамина D [53]. Способность витамина D подавлять рост опухолевых клеток продемонстрирована также Dosquet-Verneг и соавт. [54], показавшими ингибирующее действие витамина D на рост клеток линии MCF-7 и BT-20 [54].

Одной из наиболее интересных систем, используемых для изучения влияния витамина D на пролиферацию, являются клетки промиелоцитарного лейкоза HL-60. Под влиянием витамина D эти клетки могут дифференцироваться в моноциты. Обработка клеток индуктором дифференцировки приводит к блоку их пролиферации в G₀-фазе митотического

цикла. В клетках HL-60 экспрессируются несколько протоонкогенов, однако один из них – *c-myc* – характеризуется более чем 20-кратным увеличением экспрессии по сравнению с соответствующими нормальными клетками [55]. Добавление витамина D сопровождается снижением уровня экспрессии *c-myc* мРНК на 50 % уже через 4 ч и достигает максимума (20—0 % исходного уровня) через 24 ч после начала обработки [55]. Если витамин D присутствует в среде культивирования клеток менее 24 ч и затем удаляется из нее, то уровень *c-myc* мРНК восстанавливается через 48 ч, однако обработка клеток HL-60 в течение 72–96 ч приводит к уже необратимому изменению снижения экспрессии *c-myc* [55]. Эти данные хорошо согласуются с двухэтапной моделью дифференцировки [1], предусматривающей существование ранней фазы изменения генной экспрессии, предшествующей торможению деления, и поздней, соответствующей необратимой дифференцировке. Возможно, продукт гена *c-myc* является одним из регуляторов перехода от одного этапа дифференцировки к другому.

Одна из особенностей системы регуляции деления и дифференцировки с участием витамина D – способность регуляции числа рецепторов этого гормона путем изменения экспрессии гена *c-myc*. Установлено, что активация деления лимфоцитов с помощью митогенов сопровождается повышением экспрессии ряда протоонкогенов (*s-myc*, *c-mib*, *c-fos*), а также мРНК гена рецептора витамина D. Более того, выявляется определенный параллелизм в кинетике изменения экспрессии гена *c-myc* и рецептора витамина D. В клетках остеогенной саркомы крыс обнаружено существование прямой корреляции между экспрессией *c-myc* и рецептора витамина D [56]. Эти данные были подкреплены исследованиями, показавшими резкое увеличение числа рецепторов витамина D в клетках NIH 3T3, трансфицированных экзогенными *c-myc* [57]. Характерно, что число рецепторов других стероидных гормонов при изменении экспрессии эндо- или экзогенного *c-myc* не изменялось. Кроме того, направленное возрастание экспрессии других протоонкогенов не сопровождалось изменением числа рецепторов витамина D.

Таким образом, витамин D и ген *c-myc* участвуют в формировании системы с положительной обратной связью, которая может служить основой как классического влияния витамина D на кальциевый гомеостаз, так и витамин D-зависимой дифференцировки и пролиферации клеток различных гистологических типов.

Подытоживая изложенные сведения о структуре рецепторов стероидных гормонов и действии этих гормонов на экспрессию протоонкогенов, можно вывести ряд закономерностей, объединяющих рассмотренные гормоны. Во-первых, все, без исключения, рецепторы стероидных гормонов имеют ядерную локализацию. Это утверждение, несомненно, справедливо по отношению к гормон-рецепторному комплексу, но, вероятно, может быть распространено и на свободные рецепторы. Во-вторых, рассмотренные рецепторы характеризуются высокой гомологией, максимально выраженной в ДНК-

связывающем домене. Ряд коротких участков в других доменах также идентичен у различных рецепторов, что, по-видимому, отражает их функциональную значимость. Одной из предполагаемых функций таких участков может быть комплексообразование свободного рецептора с некоторыми цитолазматическими белками, в том числе белками теплового шока [58]. Наконец, взаимодействие гормонов с рецепторами приводит к изменению экспрессии ряда протоонкогенов. При этом наиболее чувствительные к действию гормонов гены, кодирующие ядерные белки. Вероятно, полная характеристика генов, изменяющих свою транскрипцию при действии стероидных гормонов, позволит расшифровать механизмы нормального деления, дифференцировки клеток и характерных изменений при злокачественной трансформации.

3.5. Онкогены и рецепторы факторов роста

Определение нуклеотидной последовательности мРНК, кодирующих рецепторы различных полипептидных факторов роста, позволило установить существование выраженной гомологии между ними и белками, кодируемыми некоторыми вирусными онкогенами. Начало этому направлению положили работы Waterfield и соавт. [59], установивших гомологию между белком, кодируемым онкогеном *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. Эти исследования показали, что клеточные аналоги вирусных онкогенов являются генами, кодирующими рецепторы факторов роста, а их структурно-функциональные изменения могут приводить к неконтролируемому делению и появлению преходящего или стабильного трансформированного фенотипа. Были проклонированы также гены *trk*, *ros*, *met* и *neu*, которые на основании их первичной структуры можно отнести к рецепторам еще не идентифицированных факторов роста.

К числу наиболее хорошо исследованных относится вопрос о механизмах рецепции эпидермального фактора роста. Данные о структуре и функции рецептора ЭФР, генов, кодирующих его и родственные ему белки, особенности экспрессии указанных белков в нормальных и опухолевых клетках позволяют детально проанализировать возможное участие этого белка в развитии опухолевого процесса.

3.5.1. Рецептор эпидермального фактора роста

Действие ЭФР и ЭФР-подобных факторов роста на клетку опосредуется путем их взаимодействия со специфическим рецептором на клеточной

мембране. Рецептор ЭФР (РЭФР) – гликопротеин с молекулярной массой 170 кД, из которых 37 кД составляет олигосахаридная часть, присоединившаяся к этому белку в процессе посттрансляционной модификации [60]. РЭФР – типичный трансмембранный белок, синтезирующийся первоначально в виде предшественника, состоящего из 1126 аминокислот, к NH₂-концу которого присоединена лидерная последовательность из 24 аминокислот [59]. 621 аминокислота составляет внеклеточный лигандсвязывающий домен рецептора, содержащий 12 потенциальных сайтов гликозилирования (Асп–Х–Тре(Сер)), из которых по меньшей мере 11 гликозилированы в исследованных препаратах РЭФР. Отличительной особенностью лигандсвязывающего домена является высокий уровень содержания цистеина (51 остаток). Остатки цистеина локализуются в основном в двух зонах этого домена, участвуя в образовании специфической пространственной структуры, обеспечивающей адекватную рецепцию ЭФР.

Цитоплазматический домен РЭФР состоит из 542 аминокислот и отделен от лигандсвязывающего домена трансмембранным участком, формирующим α -спираль. Единственной известной на сегодняшний день функцией цитоплазматического домена является способность к катализу протеинкиназной реакции, сопровождающейся фосфорилированием остатков тирозина как самой молекулы РЭФР (аутофосфорилирование), так и других белковых субстратов (фосфотрансферазная реакция).

Схематично наиболее распространенная модель функционирования РЭФР включает следующие этапы:

- 1) взаимодействие ЭФР со специфическим лигандсвязывающим доменом РЭФР;
- 2) кластеризацию рецепторов с образованием олигомерных форм РЭФР;
- 3) обусловленную олигомеризацией активацию тирозиновой протеинкиназы, входящей в состав цитоплазматического домена РЭФР;
- 4) эндоцитоз лиганд-рецепторного комплекса через систему «окаймленных» везикул и его деградацию в лизосомах.

Таким образом, структура ОЭФР придает ему свойства своеобразной «молекулярной машины», интегрирующей в пределах одной молекулы систему «входа» информации, постелем которой является ЭФР, и систему «выхода» в виде возникающего в самом рецепторе или под его влиянием митогенного сигнала. Множество метаболических реакций, происходящих практически одновременно в клетке при действии ЭФР, не позволяет ранжировать их по принципу значимости в инициации синтеза ДНК. Однако несомненно, что в ходе какой-то из реакций может образовываться или модифицироваться метаболит (белок), непосредственно взаимодействующий с транскрипционным аппаратом ядра.

В результате сравнения аминокислотной последовательности РЭФР, детализированной после установления нуклеотидной последовательности соответствующей мРНК, с первичной структурой других известных белков

выявлена гомология между РЭФР и белком, кодируемым онкогеном, входящим в состав вируса эритробластога птиц АЕВ [59]. Сопоставление 604 аминокислот, дедуцированных на основании структуры ДНК *v-erb B*, с 631 аминокислотой (от СООН-конца) РЭФР показало, что основной участок гомологии между этими белками состоит из 376 аминокислот, соответствующих большей части цитоплазматического домена и трансмембранному участку. В сравниваемых белках 95 % аминокислот в этом районе были идентичны. Внутри указанного участка можно выделить район, состоящий из 244 аминокислот, 60 из которых (24,6 %) гомологичны протеинкиназным доменам белков – продуктов онкогенов семейства *src* [59]. Гомология с РЭФР становится менее выраженной ближе к СООН-концу белка *v-erb B*, особенно в районе, соответствующем 3'-концу *v-erb B*, где он непосредственно примыкает к гену *env* [59]. Начиная с этого сайта, завершающего собственно белок, кодируемый *v-erb B*, РЭФР продолжается еще на 32 аминокислоты, включая основной сайт аутофосфорилирования (Тир¹¹⁷³).

Таким образом, продукт *v-erb B* представляет собой «усеченный» вариант РЭФР, лишенный практически всего лигандсвязывающего домена и участка цитоплазматического домена, включающего основной сайт для аутофосфорилирования. Сходство между «усеченным» РЭФР и белком, кодируемым *v-erb B*, позволило высказать предположение о роли этой гомологии в реализации трансформирующей активности самого *v-erb B* и, напротив, проанализировав онкогенный потенциал гена РЭФР.

Ген *verb B* – основной трансформирующий ген, входящий наряду с онкогеном *v-erb A* в состав вируса эритробластога птиц АЕВ линии ESA (ALV ESA), и единственный онкоген вируса АЕВ Н [39]. Оба эти вируса способны трансформировать фибро- и эритробласты *in vitro* и *in vivo* [39], не влияя, однако, на способность эритробластов к терминальной дифференцировке.

Продукт гена *v-erb B* транслируется с субгеномной РНК в виде предшественника с молекулярной 62,5 кД, который затем гликолизуется и фосфорилируется с образованием промежуточных продуктов с молекулярной массой 66 кД (gr^{66erb B}) и 68 кД (gr^{68erb B}) [61]. Эти белки локализованы на внутриклеточных мембранах эндоплазматического ретикулаума и (или) аппарата Гольджи, тогда как на клеточной мембране выявляется уже конечный продукт процессинга этого белка – gr^{74erb B} [61].

Опыты с использованием термочувствительных мутантов АЕВ (ts АЕVES4) показали, что присутствие gr^{74erb B} на клеточной мембране – обязательное условие для трансформации эритробластов [61]. Повышение температуры среды культивирования до 42 °С приводило к исчезновению до gr^{74erb B} с мембраны и восстановлению дифференцированного фенотипа. При этом синтез и процессинг промежуточных форм gr^{66erb B} и gr^{68erb B}, а также белка, кодируемого *v-erb A* (р 75^{gag-erb A}), практически не изменялись.

Таким образом, перенос клеток в непермиссивные условия блокировал последний этап процессинга продукта *v-erb B*. Причиной этого, как показали

исследования фибро- и эритробластов, трансформированных различными ts AЕV, является нарушение структуры гена *v-erb B*, приводящее к повышению термостабильности его продукта. Исходя из этих опытов, для объяснения механизма функционирования *v-erb B* авторы предложили две гипотезы – рецепторную и киназную. Следуя первой $gp\ 74^{erb\ B}$ является рецептором и какого-то фактора роста и потому его присутствие на мембране необходимо для трансформации. Однако с позиции известной гомологии эта гипотеза несостоятельна, так как $gp\ 74^{erb\ B}$ не имеет лигандсвязывающего домена. Вторая, киназная, теория выглядит предпочтительней. В самом деле, несмотря на отсутствие основного сайта для аутофосфорилирования, $gp\ 74^{erb\ B}$ обладает меньшей по сравнению с РЭФР, но выраженной способностью к аутофосфорилированию. Помимо этого, протеинкиназа $gp\ 74^{erb\ B}$ может фосфорилировать по тирозину другие внутриклеточные белки. В клетках, трансформированных AЕVES4, обнаружено присутствие ряда белков, фосфорилированных по тирозину, в том числе белков с молекулярной массой 36 и 42 кД, фосфорилированных также в клетках, содержащих протеинкиназу pp^{60scr} [62]. При этом фосфорилирование белка 36 кД в фибробластах стимулировалось сильнее после их трансформации AЕVES4, чем под влиянием ЭФР. Более того, некоторые белки, выявленные методом двухмерного электрофореза, практически нефосфорилировались при действии ЭФР и сильно фосфорилировались после трансформации AЕVES4.

Из этих фактов следует, что протеинкиназа, кодируемая *v-erb B*, достаточно активна в отсутствие лиганда и поэтому может постоянно фосфорилировать физиологически значимые белки. Однако непонятно, почему для катализа киназной реакции белок $gp\ 74^{erb\ B}$ должен быть обязательно локализован на клеточной мембране. Промежуточные формы процессинга продукта *v-erb B* содержат протеинкиназу и связаны с мембранами эндоплазматического ретикулума или аппарата Гольджи. Следовательно, они также могут фосфорилировать различные белки, включая описанные, и вызывать трансформацию. Возможно, однако, что мутантные термолабильные белки, кодируемые *v-erb B*, под влиянием высокой температуры могут утрачивать не только способность к гликолизированию и, следовательно, транспорту на клеточную мембрану, но и к катализу протеинкиназной реакции. В этом случае для корректного доказательства обязательности связи $gp\ 74^{erb\ B}$ с мембраной для индукции трансформации необходимо исследовать действие на клетки *v-erb B*, в котором мутации будут подавлять способность к транспорту, но не к фосфорилированию. Вполне вероятно, что такая форма *v-erb B* по трансформирующей активности не будет отличаться от *v-erb B*, входящего в состав вируса дикого типа.

Независимо от механизма сам факт способности $gp\ 74^{erb\ B}$ вызывать трансформацию позволяет предположить, что структурные изменения клеточного гена *c-erb B-1*, являющегося геном рецептора ЭФР [63], могут приводить к злокачественной трансформации. Это предположение получило

подтверждение в исследованиях механизма злокачественной трансформации эритробластов под влиянием вируса лейкоза птиц. (ALV). Было установлено, что ALV, не имеющий собственного онкогена, вызывает эритробластоз у цыплят в результате интеграции интактного провируса в структурную часть протоонкогена *c-erb B* [64]. Зона интеграции провируса составляла несколько сотен оснований, локализовалась со стороны 5'-конца первого экзона, гомологичного *v-erb B*, и отделяла район, кодирующий лигандсвязывающий домен от остальной части гена. Вследствие интеграции провируса возрастала экспрессия *c-erb B-1* мРНК размером 7,0 и 3,6 т о

Одна из причин появления в трансформированных клетках двух классов мРНК – особенность их полиаденилирования, обусловленная структурными различиями 3'-концевых нетранслируемых последовательностей. Установлено также, что структурно измененный *c-erb B-1* в силу атипичного сплайсинга транскрибируется с образованием мРНК, содержащих, помимо *c-erb B-1*, последовательности, соответствующие генам *gag* или *env* [64]. Трансляция мРНК, содержащей только *gag*, приводит к появлению белка, гомологичного в его аминокислотной части гр 74^{erb B}. В белках другого типа, кодируемых мРНК, содержащей часть гена *env*, есть последовательность, соответствующая сигнальному пептиду и потому обеспечивающая транспорт этого белка на клеточную мембрану. Оба типа белков обнаруживаются в опухолевых клетках и поэтому их индивидуальный вклад в трансформацию неясен. Помимо этого, независимо от типа белков, кодируемых *v-erb B*, в них присутствует дополнительная по сравнению с гр 74^{erb B} последовательность (34 аминокислоты), включающая основной сайт аутофосфорилирования. Таким образом, экспериментально была доказана принципиальная возможность участия перестроенного, лишённого лигандсвязывающего домена белка РЭФР в инициации трансформации клеток эритроидного ряда.

Описанная ситуация была искусственно воссоздана с использованием кДНК рецептора ЭФР, лишённой 5'- и 3'-концевых последовательностей [65]. Будучи включенным в состав экспрессирующегося вектора, этот «дважды усеченный» ген вызывал трансформацию клеток Rat-1 [65]. Существен и тот факт, что клетки СНО, трансформированные делецированной с 3'-конца кДНК РЭФР, кодирующей только дополнительные сайты аутофосфорилирования, сохраняли способность реагировать на ЭФР, усиливая синтез ДНК [66]. По-видимому, именно этот тип перестройки гена РЭФР наиболее существен для трансформации, в то время как присутствие или отсутствие основного сайта аутофосфорилирования может играть роль исключительно в регуляции аффинности РЭФР по отношению к лиганду, как было показано Sehlessinger и соавт. [66].

Не исключено, что изменение экспрессии неизмененного гена РЭФР также может играть роль в канцерогенезе. Roedel и соавт [65] показали, что экспрессия экзогенной кДНК РЭФР в клетках NIH 3T3 приводит к появлению у этих клеток признаков трансформации в присутствии соответствующего

лиганда. Было установлено, что клетки, несущие примерно в 10 раз больше функционально полноценного РЭФР, чем контрольные NIH3T3, могут формировать колонии в полужидкой среде в присутствии эпидермального фактора роста либо трансформирующего фактора роста типа альфа. Появления трансформированного фенотипа были транзиторными и не регистрировались в отсутствие лиганда. Представляется, однако, вполне вероятным, что длительное поддержание трансформированного фенотипа может приводить к более стабильным изменениям клеточного генома. Это, в свою очередь, может способствовать переходу клеток в состояние истинной злокачественной трансформации.

Структура и экспрессия гена РЭФР были исследованы также в клетках опухолей человека. Ранее в мембранах клеток чешуйчатоклеточных опухолей человека было обнаружено увеличение по сравнению с нормальными клетками числа РЭФР, достигавшее максимума ($3 \cdot 10^6$ РЭФР на клетку) в клетках эпидермоидной карциномы вульвы человека А431 [63]. Исследование структуры гена РЭФР методом блот-гибридизации с использованием в качестве зонда кДНК рецептора ЭФР показало, что причиной аномально высокого содержания РЭФР в клетках данной опухоли является выраженная (5–25 кратная) амплификация гена РЭФР, сопровождающаяся суперэкспрессией соответствующих мРНК. МРНК РЭФР представлена в А431 транскриптами трех классов размером 10,5, 5,8 и 2,8 т. о. Первые два транскрипта выявляются во всех нормальных и опухолевых клетках, имеющих РЭФР, последний – только в А431 и соответствует 5'-концевому участку гена. Различия в размере транскриптов могут быть обусловлены, например, использованием множественных сайтов полиаденилирования, в результате чего с одного гена транскрибируются РНК различной длины (подобная ситуация описана для генов α -амилазы и дегидрофолатредуктазы). Молекулярный механизм образования 2,8 т. о. мРНК неясен. А431 – единственная на сегодняшний день опухоль, в которой выявлена экспрессия этой мРНК, что может быть сугубо частным, функционально незначимым явлением.

Одной из причин амплификации (суперэкспрессии) гена РЭФР в А431 может быть наличие в клетках этой опухоли специфической хромосомной аномалии хромосомы 7 (M4), на которой ди-тальный фрагмент плеча ($p22-q^{ter}$) замещен хромосомным фрагментом неизвестного происхождения. Сам ген ЭФР локализован в районе p13–22 хромосомы 7. Из-за достаточной отдаленности участка транслокации от места локализации гена РЭФР вряд ли возможно ее прямое действие на репликацию (экспрессию) гена. В то же время, по мнению Hunts и соавт. [67], транслокация может приводить к неопределяемым кариологически изменениям в районах регуляции репликации и транскрипции гена РЭФР.

До настоящего времени не удалось обнаружить достоверных структурных изменений гена РЭФР в клетках опухолей. Следует отметить, что ограниченный спектр ферментов рестрикции, используемых для анализа, а

также отсутствие зондов, позволяющих селективно определить структуру нетранскрибируемой части гена РЭФР, не позволяют сделать однозначный вывод о полной идентичности данного гена в нормальных и трансформированных клетках.

Анализ структуры и экспрессии гена РЭФР в клетках других опухолей человека показал существование двух основных вариантов сочетания признаков амплификации: экспрессия – число РЭФР.

1. Амплификация, сопровождающаяся суперэкспрессией мРНК и увеличением числа РЭФР – опухоли молочной железы МДА468, BT20, глиобластома человека, чешуйчатоклеточные карциномы.

2. Отсутствие амплификации, увеличение экспрессии и значительное увеличение (до 50% числа РЭФР в А431) РЭФР – чешуйчатоклеточные карциномы, глиобластома, карцинома желчного пузыря.

Подобный полиморфизм закономерен и отражает особенности возникновения и эволюции конкретной опухоли. Помимо этого, число РЭФР может существенно изменяться в процессе адаптации опухолевых клеток *in vitro* и зависеть от присутствия других факторов роста и гормонов [41, 68].

Существует мнение, что амплификация гена РЭФР и обусловленное ею увеличение числа РЭФР на мембране опухолевых клеток является фактором оптимизации их роста как *in vitro* так и *in vivo*. Filmus и соавт. [68] показали, что клетки рака молочной железы человека МДА468 содержат амплифицированный ген РЭФР и соответственно значительное число РЭФР. В то же время из исходной популяции этих клеток ими были выделены клоны клеток, содержащих приблизительно в 100 раз меньшее количество РЭФР, чем клетки исходной опухоли [68]. В отличие от клеток, содержащих много рецепторов, эти клетки хуже росли после перевивки бестимусным животным, а клетки одного клона вообще не вызывали развития опухоли. Вполне возможно, что неспособность вызывать опухоль связана не с отсутствием в указанных клетках РЭФР, а с присутствием в них определенных антигенов, вызывающих соответствующие иммунологические реакции. Таким образом, экспериментальные данные не позволяют отнести высокое число РЭФР на мембране опухолевых клеток к безусловному фактору их селективного отбора.

3.6. Протоонкоген *c-erb B-2/neu*

В 1984–1985 гг. четырьмя независимыми группами исследователей было установлено присутствие в геноме млекопитающих нового *v-erb* 5-подобного гена *c-erb B-2*. Первоначально Schrechter и соавт. [69] обнаружили, что в геноме клеток глиобластомы крыс, индуцированной этилнитрозомочевинной, присутствует *v-erb B*-подобный ген, обуславливающий трансформирующую активность ДНК этих клеток по отношению к клеткам NIH3T3. С помощью метода блот-гибридизации было установлено, что трансформирующая

активность этой ДНК локализовалась в пределах EcoRI-фрагмента размером 33 т. п. о., гомологичного *v-erb B* [69]. Экспрессия этого геномного локуса в клетках глиом, а также в NIH3T3, трансформированных ДНК данных опухолей, сопровождалась появлением на клеточной мембране белка с молекулярной массой примерно 185 кД (p185), не обнаруживавшегося как в нормальных клетках мышей, так и в клетках, трансформированных другими онкогенами.

Гомология между новым онкогеном, названным *neu* (от *neuroblastoma*), и *v-erb B*, а также обнаруженная фосфопротеидная природа p185 позволили предположить существование гомологии между этим белком и РЭФР. Сходство между этими белками было доказано с помощью моно- и поликлональных антител к p185 и РЭФР [69]. Анти-p 185-антитела выявляют этот белок на мембранах различных нормальных и трансформированных клеток крыс, а также в NIH3T3, трансформированных ДНК, содержащей *neu*. В то же время p185 не обнаруживался на мембранах нормальных NIH3T3 и клеток A431. В отличие от указанных антител с помощью анти-РЭФР-антител p185 выявлялись как в клетках, трансформированных *neu*, так и в нормальных клетках крыс линии Rat-1. Опыты по иммунному истощению лизатов клеток, трансформированных *neu* поочередно антителами к p185 и РЭФР, окончательно подтвердили специфичность взаимодействия анти-РЭФР-антител с p185, что, в свою очередь, указывает на существенную степень гомологии между этими белками. Тот факт, что, применив антитела к p185, не выявили соответствующие белки в клетках мышей и человека, по мнению Schrechter и соавт. [64], свидетельствуют об их строгой видовой специфичности. Помимо этого, идентичная молекулярная масса белков, выявляемых анти-p185 как в нормальных, так и в опухолевых клетках, свидетельствует, что данный белок не является продуктом структурно измененного гена РЭФР, а экспрессируется с другого *v-erb B* подобного гена.

Существование такого гена, получившего название *c-erb B-2*, в геноме человека было доказано тремя группами исследователей в 1986 г. Первоначально King и соавт [70] обнаружили амплификацию нового *v-erb B*-гомологичного гена в клетках опухоли молочной железы человека линии MCF117. Методом блот-гибридизации ими был выявлен EcoRI-фрагмент размером 6,6 т. п. о., гибридизовавшийся с *v-erb B*, амплифицированным в клетках MCF117 по сравнению с нормальными клетками и, что особенно существенно, с клетками A431. Определение нуклеотидной последовательности этого фрагмента продемонстрировало высокую степень его гомологии с *v-erb B*-гомологичным районом гена РЭФР. О том, что данный ген не является *c-erb B-1* (РЭФР-1), свидетельствует тот факт, что в клетках A431, содержащих три класса мРНК гена *c-erb B-1* (10,0, 5,6 и 2,8 т. о.), гибридизационный зонд, соответствующий новому гену, выявляет транскрипт размером 5,0 т. о. и не выявляет ни одной из перечисленных выше мРНК.

Независимо от King и соавт., данные о структуре *c-erb B-2* были получены Semba и соавт. [71]. Наряду с EcoRI-фрагментом размером 6 т. п. о.

они обнаружили также EcoRI-фрагмент размером 13 т. п. о., гомологичный *c-erb B-1*, но не являющийся им. Размер транскрипта, выявляемого с помощью гибридизационного зонда, соответствующего этому фрагменту, составлял 4,8 т. о. и совпадал с размером *c-erb B-2* мРНК, обнаруженной King и соавт. [70].

Окончательно структура транскрибируемой части гена *c-erb B-2* была установлена Coussens и соавт [72], проклонировавшими полноразмерную кДНК этого гена. Анализ первичной структуры белка, дедуцированного на основании нуклеотидной последовательности этой кДНК, показал существующую гомологию p185 и РЭФР. Особенности локализации гидрофобных аминокислот в белке, кодируемом (РЭФР-2), приводят к формированию специфической доменной суперструктуры, аналогичной РЭФР-1. Как и в случае РЭФР-1, на N-конце синтезируемого белка находится лидерная последовательность, предваряющая предположительный лигандсвязывающий домен (632 аминокислоты). Трансмембранный участок (22 аминокислоты) отделяет внеклеточный домен от цитоплазматического (580 аминокислот), который, в свою очередь, имеет выраженное структурное сходство с белками, кодируемыми *v-erb B* и другими *src*-родственными генами. Внеклеточный домен РЭФР-2 примерно на 40 % гомологичен лигандсвязывающему домену РЭФР-1. В отличие от РЭФР-1, РЭФР-2 содержит только 8 (12 у РЭФР-1) потенциальных сайтов N-связанного гликолизирования, 5 из которых колинеарны сайтам гликозилирования РЭФР-1. Район наиболее выраженной (78,4 %) гомологии между РЭФР-2 и РЭФР-1 локализован в пределах цитоплазматических доменов этих белков и состоит из 343 аминокислот, включая участок связывания АТФ и протеинкиназный субдомен. Гомология между рассматриваемыми белками резко прерывается ближе к СООН-концу РЭФР-2, начиная от 1032-й аминокислоты (всего в РЭФР-2 1255 аминокислот). Короткие гомологичные последовательности локализованы в этой области исключительно вокруг пяти остатков тирозина, включая основные и дополнительные сайты аутофосфорилирования.

Таким образом, в геноме млекопитающих присутствуют ген *c-erb B-2*, гомологичный гену *c-erb B-1*, и кодирующий белок, родственный РЭФР. Этот ген аналогичен гену *neu* крысы и локализован на хромосоме 17 (p11–22).

Исходя из идентичности *neu* и *c-erb B-2*, последний является протоонкогеном, структурные изменения или повышение экспрессии которого могут обуславливать злокачественную трансформацию клеток. Методом блот-гибридизации установлено, что в клетках ряда опухолей человека, включая опухоли молочной железы [73], карциному желудка MKN7 [74], аденокарциному слюнных желез [71], наблюдалась выраженная амплификация гена *c-erb B-2*. При этом в карциноме MKN7 *c-erb B-2* перестроен, о чем свидетельствует появление дополнительного EcoRI-фрагмента размером 23 т. п. о. [74]. Как правило, амплификация *c-erb B-2* сопровождается повышенной экспрессией соответствующей мРНК, число копий которой в отдельных случаях было примерно в 100 раз больше числа копий *c-erb B-2* мРНК в

нормальных клетках. В то же время, несмотря на выраженную амплификацию и суперэкспрессию *c-erb B-2* в клетках исследованных опухолей, роль этих изменений в злокачественной трансформации остается неясной.

Ранее Hung и соавт [76], используя клонированный в космиде нормальный ген *neu*, показали, что его 50–100-кратная амплификация и соответственно 10-кратное увеличение экспрессии в клетках NIH3T3 не сопровождалось их трансформацией. Возможно, существует некая критическая точка, после которой повышение экспрессии *c-erb B-2* может приводить к злокачественной трансформации, как, например, в клетках опухоли молочной железы, в которой экспрессия этой мРНК была увеличена в 128 раз по сравнению с нормальными клетками [75].

Для подтверждения предположения о возможной онкогенной активности неизмененного *c-erb B-2* Hudziak и соавт. [77] трансфицировали клетки NIH3T3 кДНК *c-erb B-2* человека, клонированной в векторе, содержащем ген дигидрофолатредуктазы. Присутствие этого гена в экспрессирующемся векторе обеспечивает его многократную амплификацию при культивировании клеток в среде с метотрексатом. Было установлено, что амплификация и сопровождающая ее суперэкспрессия гена *c-erb B-2* в реципиентных клетках вызывали их злокачественную трансформацию. Клетки приобретали способность к росту в полужидком агаре, вызывали опухоли у бестимусных мышей. Аналогичные данные получены Difiore и соавт. [78], показавшими способность *c-erb B-2*, находящегося под контролем ретровирусного промотора, трансформировать клетки NIH3T3.

Представленные данные существенно отличаются от результатов экспериментов Bargmann и Weinberg [74] по трансформирующему действию нормальной и структурно измененной формы гена *neu* крыс по отношению к клеткам NIH3T3.

Сопоставление первичной структуры кДНК *neu* из нормальных NIH3T3 и клеток глиобластом показало, что причиной появления онкогенности у гена *neu* является точечная мутация, приводящая к замещению тимина в 1012-м положении аденином. Вследствие этого в р185 валин (Val⁶⁶⁴) замещается глутаминовой кислотой. Указанная аминокислотная замена происходит в трансмембранном домене р185 [80]. Используя различные мутантные формы гена *neu*, авторы показали, что только замена Val⁶⁶⁴ глутамином или глутаминовой кислотой приводит к появлению у *neu* крыс трансформирующей активности. В то же время трансформирующая способность нормального гена *neu* и других мутантов, в том числе с заменой аминокислот в 663-м положении, была крайне низкой.

Причина подобных расхождений в результатах различных исследователей неясна. Представляется вполне справедливым предположение Weinberg о различной трансформирующей активности генов *c-erb B-2* человека и крыс по отношению к клеткам NIH3T3. Возможно, белок, кодируемый *c-erb B-2*, характеризуется определенной видоспецифичностью. По нашему мнению,

в пользу этого предположения свидетельствует низкая гомология *c-erb B-2/neu* крыс и человека именно в значимом для трансформации трансмембранном домене. Если в среднем число различающихся аминокислот составляет примерно 10–12 на 100, то в трансмембранном домене этот показатель составляет 8 на 22 аминокислоты. Существенность указанных различий определяется также важной ролью трансмембранного домена в межрецепторном взаимодействии, впервые продемонстрированном Stein, Kamps [81].

Ранее на основании практически полной синхронности связывания ЭФР с рецептором и транспортом ионов в клетку было высказано предположение о каналобразующих свойствах рецепторного белка [59]. Однако малый размер трансмембранного домена, в особенности его аминокислот этого состава, практически исключает эту возможность даже с учетом образования полирецепторных комплексов при кластеризации. Очевидно, в нативных условиях РЭФР-1 и РЭФР-2 связаны с другими белками клеточной мембраны, в том числе и регуляторными. Замена нейтральной аминокислоты заряженной (валина глутамином) может приводить в случае p185 к стабильному изменению характера взаимодействия этого белка с гипотетическим белком регулятором, по отношению к которому p185 может играть роль ингибитора (активатора). В норме характер такого гипотетического взаимодействия зависит исключительно от присутствия соответствующего лиганда, связь с которым может обратимо изменять структуру комплекса. В пределах клеточной мембраны взаимодействие будет изменяться по горизонтали, а не за счет миграции p185 от внешней поверхности мембраны к внутренней. Основанием для этого служит факт одинаковой доступности p185, кодируемого нормальным и мутантным *neu*, для антител к этому белку. Можно предположить, что способность к взаимодействию с другими белками может играть в функционировании p185 столь же критическую роль, как и в комплексообразовании онкобелка p53 и белка, кодируемого *c-fos*, с различными клеточными белками [26].

Амплификация и повышение экспрессии *c-erb B-2* в опухолевых клетках могут обуславливать их более высокую пролиферативную активность и (или) злокачественность по сравнению с нормальными клетками. Известно, что прогрессия ряда опухолей прямо коррелирует с амплификацией некоторых онкогенов [1].

Исследование структуры *c-erb B-2* в опухолях молочной железы человека с последующим ретроспективным анализом клинических данных показали, что амплификация этого гена прямо коррелирует с наличием отдаленных от первичного очага лимфоузлов и возникновением рецидива заболевания [73]. Амплификация *c-erb B-2* не коррелировала с эстрогенным статусом, возрастом больных и размером опухоли в момент операции. Обширный клинический материал (203 случая), с привлечением которого были получены эти данные, свидетельствует о существенной роли p185 в создании условий, оптимальных

для злокачественного роста клеток опухолей молочной железы человека. Это позволяет использовать *c-erb B-2* в качестве молекулярного зонда для предоперационного прогноза течения заболевания и определения стратегии его лечения.

Абсолютно открытым остается вопрос о природе лиганда, взаимодействующего с p185. Несмотря на гомологию этого белка с РЭФР, ни ЭФР, ни ТФР α , а также ФРТ и фактор роста фибробластов не связываются с p185 [80]. В то же время практически убиквитарная экспрессия p185 в нормальных клетках свидетельствует о физиологической значимости этого белка. Если для его функционирования необходим секретируемый лиганд, то либо все клетки, экспрессирующие p185, должны продуцировать соответствующий фактор, либо в организме должны существовать специализированные клетки-продуценты (накопители), напоминающие тромбоциты для ФРТ у человека или слюнные железы для ЭФР у мышей. Учитывая возможную роль *c-erb B-2* в развитии злокачественного процесса у человека, идентификация p185-специфического лиганда позволила бы разработать новые методы терапии и диагностики опухолей.

Рассмотренный вопрос о гомологии структуры и функции рецептора ЭФР и продукта *c-erb B-2* – p185 отражает лишь часть проблемы гомологии рецепторов факторов роста и продуктов онкогенов. К настоящему времени также точно установлена идентичность продукта гена *c-fms* и белка-рецептора макрофагального колониестимулирующего фактора [82]. Этот фактор участвует в формировании колоний макрофагов из полипотентных клеток-предшественников и играет важную роль в гемопоэзе [82]. Равно как и рецептор ЭФР и p185, продукт *c-fms* представляет собой трансмембранный гликопротеин, содержащий внутриклеточный протеинкиназный домен. Именно протеинкиназная активность является основной метаболической активностью, присущей рецептору, и определяет действие фактора роста на клетки-мишени. По-видимому, эта активность определяет трансформирующий потенциал *c-fms* по отношению к клеткам NIH3T3. Как и в случае рецептора ЭФР, добавление к клеткам NIH3T3, экспрессирующим экзогенный *c-fms*, макрофагального колониестимулирующего фактора приводит к трансформации этих клеток [83].

Представленные данные позволяют сделать следующие обобщения:

1) ряд протоонкогенов кодирует рецепторы факторов роста, взаимодействующие с идентифицированными (РЭФР, *c-fms*, *c-kit*) или неидентифицированными лигандами (*ros*, *neu*, *trk*);

2) одновременная гиперэкспрессия протоонкогенов, кодирующих рецепторы факторов роста в присутствии соответствующих факторов, может обуславливать стабильное или преходящее изменение клеточного фенотипа;

3) структурные изменения белков-рецепторов, выражающиеся либо в утрате лигандсвязывающего домена в случае вирусных онкобелков, либо в перестройке, амплификации и мутации клеточных генов, могут приводить к злокачественной трансформации.

3.7. Заключение

Многоступенчатость процесса невирусного канцерогенеза у человека и животных свидетельствует об участии в нем различных генов, структурно-функциональное изменение которых создает в совокупности необходимые условия для злокачественной трансформации. Представленные данные указывают на участие в процессах трансформации генов, кодирующих рецепторы стероидных гормонов и факторы роста. Именно продукты этих генов определяют способность клеток к делению в процессе эмбриогенеза и нормального онтогенеза. В свою очередь, извращение системы регуляции деления, выражающееся в приобретении клетками способности к аутокринной регуляции пролиферации, – одно из характерных свойств опухолевой клетки. Возможно, именно утрата клетками способности к старению (иммортализация) является обязательным этапом, предшествующим трансформации. В ряде случаев иммортализация как бы постоянна и достигается экспрессией в клетках таких генов, как *myc*, *E1A*, а также неидентифицированных генов в случае стабильных клеточных линий NIH3T3 и Rat-1. В других случаях изменение пролиферации клеток может быть вызвано формированием так называемой аутокринной петли регуляции деления, обеспечивающей автономизацию этих клеток. Возможно, в этих условиях в клетке могут активироваться механизмы, приводящие в итоге к полной трансформации. Помимо этого, структурные изменения белков-рецепторов делают их нечувствительными к внешним воздействиям, что в условиях сохранения других функционально значимых доменов также может способствовать быстрому формированию стабильного злокачественного фенотипа.

Рассмотренные механизмы функционирования рецепторов стероидных гормонов и факторов роста позволяют лучше понять опухолевый процесс как болезнь пролиферации, но не дают ответа на вопрос о механизмах возникновения других свойств опухолевых клеток. Представляется, однако, вероятным, что разработка методов направленного действия на рецепторы факторов роста может дать терапевтический эффект. Об этом свидетельствуют результаты работ по подавлению опухолевого роста у животных с помощью моноклональных антител к некоторым рецепторным белкам, в том числе и p185. Кроме того, структурно измененные формы генов рецепторов, выявляемые с помощью молекулярно-биологических методов, могут служить маркерами опухолевого процесса и использоваться для прогноза заболевания и определения тактики лечения.

3.8. Список литературы

1. *Bishop J. M.* The molecular genetics of cancer. – 1987. – **236**. – P. 305 – 311.
2. *Ras-related genes sequences identified and isolated from Saechromyces cere visae / D. Feo-Jones de, E. M. Scolnik, K. Koller, R. D'har // Nature.* – 1983. – **306**. – P. 707 – 712.
3. *Guerrero I.* Proto-oncogenes in pattern formation // *Trend Genet.* – 1987. – 3, N 10. – P. 269-271.
4. *Slamon D. J., Cline M. J.* Expression of cellular oncogenes duringe embryonic and fetal development of the mouse.
5. *Differential expression of cellular oncogenes during pre-and postnatal, development of the mouse / K. Miiller, D. J. Slamon, J. M. Tremblay et al.* – *Nature.* – 1982. – 299, N 5012. – P. 640 – 644.
6. *Differential expression of myc family genes during murine development / K. A. Zimmerman, C. D. Yancopoulos, R. Collum, R. K. Smith N. Kohl // Ibid.* – 1986. – **319**, N 6056. – P. 780 – 783.
7. *Structure and expression of murine N-myc gene / R. A. Di Pinho; E. Legouy, L. B. Feldman et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1986. – **83**, N 12. – P. 1827 – 1831.
8. *Neoplastic transformation by the human gene N-myc / M. B. Small, N. Hay, M. Schwab, J. M. Bishop // Mol. and Cell. Biol.* – 1987. – **7**, N 5. – P. 1638 – 1645.
9. *L-myc, a new myc-related gene amplified and expressed in human small cell lung cancer / M. M. Nau, B. J. Brooks, J. Battey et al. // Nature.* – 1985. – **318**, N 6041. – P. 69 – 73.
10. *Oncogene expression in Human tumors /A. G. Tatosyan, S. A. Galetzki. N. P. Kisseljova et al. // Int. J. Cancer.* – 1985. – **35**, N 5. – P. 731 – 736.
11. *Cotton P. C., Brugge J. S.* Neural tissues express high levels of the cellular src gene product pp^{60c-src} // *Mol. and Cell. Biol.* – 1983. – 3, N 66. – P. 1157 – 1162.
12. *Chen J. H.* The protooncogene c-ets in preferentially expressed in lymphid cell // *Ibid.* – 1985/ – N 11. – P. 2993-3000.
13. *Expression of c-mos RNA in germ cells of male and female mice / D. S. Goldman, A. A. Kiessling, C. F. Millette, G. M. Cooper // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1987. – **84**, N 7. – P. 4509–4513.
14. *Stage and tissue specific expression if the neu oncogenc in rat development / Y. Kokai, V. A. Coheh, V. A. Drebin, M. I. Greene // Ibid.* – N 11. – P. 8498 – 8601.
15. *Induction of c-fos during myelomonocytic differentiation and macrophage proliferation / R. Miiller, T. Curran, D. Miiller, L. Guilbert // Natur.* – 1985. – **314**, N 6011. – P.646 – 548.
16. *Expression of the sis gene by endothelial cells in culture and in vivo / T. B. Barrett, C. M. Gajdusek, S. M. Schwartz et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1984. – **81**. – P 6772 – 6774
17. *Ross R., Kaines E. W., Bowen-Pope D. F.* The biology of platelet-derived growth factor // *Cell.* – 1986. – **46**, N 4. – P. 155 – 16.
18. *The cellular src gene product regulates junctional cell-to-cell communication / A.*

- Azarnia, S. Reddy, T. E. Kmiecik et al. // *Science*. – 1988. – **239**, N 5964. – P. 398–401.
19. *Льюин Б. Гены*. – М.: Мир, 1987. – С. 317 – 331.
 20. *Bonton D. T.* Platelet-derived growth factor A chain: Gene structure, chromosomal localization and basis for alternative mRNA splicing // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 188 – 85, N 5 – P. 1492 – 1497.
 21. *Burges A* Growth factors and oncogenes // *Immunol. Today*. – 1985. – 6, N 3. – P. 107 – 112.
 22. *Struhl K.* The JUN oncoprotein: a vertebrate transcription factor activates transcription in yeast / *Nature*. – 1988. – **332**, N 6165. – P. 649 – 651.
 23. *Proto-oncogene fos: Induction and regulation during growth and differentiation* / I. Verma, R. L. Mitchell, W. Kruijer et al. // *Cancer Cells*. – **3**. – P. 275 – 278.
 24. *Stimulation and inhibition of growth by EGF in different A431 cell clones is accompanied by the rapid induction of c-fos and c-myc protooncogenes* / R. Bravo, J. Burckhardt, T. Curran, R. Müller // *EMBO J*. – 1985. – **4**, N 5. – P. 1193 – 1197.
 25. *Morgan J. I., Curran T.* Role of ion flux in the control of c-fos expression // *Nature*. – 1986. – **322**, N 6079. – P. 552 – 555.
 26. *The Fos-complex and Fos-related antigens recognize sequence elements that contain AP-1 Binding Sites* / B. R. Franza, F. J. Rausher, S. F. Josephs, T. Curran // *Science*. – 1988. – **239**, N 4844. – P. 1150 – 1154.
 27. *Gehring U.* Steroid hormone receptors biochemistry, genetics and molecular biology // *Trends in Biol. Sci*. – 1987. – **12**. – P. 399 – 402.
 28. *Venström B., Bishop J. M.* Isolation and characterization of chicken DNA homologous to the two putative oncogenes of avian erythroblastosis virus // *Cell*. – 1982. – **28**, N 1. – P. 135 – 143.
 29. *Krust A, Green S, Argos P.* The chicken oestrogen receptor sequence: homology with v-erb A and the human oestrogen and glucocorticoid receptors // *EMBO J*. – 1986. – **5**, N 5. – P. 841 – 847.
 30. *Structure of human glucocorticoid receptor and its relationship to the v-erb A oncogene product* / C. Weinberger, S. M. Hollenberg, M. C. Rosenfeld, R. M. Evans // *Nature*. – 1985. – **318**, N 6047. – P. 670 – 672.
 31. *Shepel L. A., Gorski J.* Steroid hormone receptor and oncogenes. – // *Bio Factor*. – 1988. – **1**, N 1. – P. 71 – 83.
 32. *Arriza P., Santi G.* Nucleotide sequence and chromosomal localization of mineralocorticoid receptor gene // *Gene and Disease*. – 1987. – **4**. – P. 415 – 421.
 33. *Luca R. de.* Vitamin D – pleiotropic regulator of cell function. // *Vitamins, growth factors and trace elements*. – New York: Acad press. – 1986. – P 210.
 34. *Hayman M. L., Royer-Pokora B., Graf T.* Defectiveness of avian erythroblastosis virus synthesis of a 75 K gag-related protein // *Virology*. – 1979. – **92**, N 5. – P. 31–45.
 35. *Glucocorticoid receptor mutants that define a small region sufficient for enhancer activation* / R. Miesfeld, P. J. Godowski, B. A. Maler, K. R. Yamamoto // *Science*. – 1987. – **236**, N 6064. – P. 423 – 427.

36. A single point mutation in erb A restores the erythroid transforming potential of a mutant avian erythroblastosis virus (AEV) defective in both erb A and B oncogenes / K. Damm, H. Beug, T. Graf, B. Venstrom // EMBO J. – 1987. – **6**, N 2. – P. 375 – 382.
37. The c-erb A protein is a high-affinity receptor for thyroid hormone / J. Sap, A. Munoz, K. Damm et al. // Nature. – 1986. – **324**, N 6098. – P. 635 – 640.
38. The c-erb A gene encodes a thyroid hormone receptor / C. Weinberg C. C. Thompson, E. S. Ong et al. // Nature. – 1986. – **324**, N 6098. – P. 641–646.
39. Graf T., Beug H. Role of the v-erb A and v-erb B oncogene of avian erythroblastosis virus on erythroid cell transformation. – / Cell. – 1983. – **34**, N 2. P. 7–19.
40. Bishop J. M. Oncogenes as hormone receptors // Nature. – 1986. – **321**. – P. 112 – 113.
41. Тараховский А. М. Онкогены и факторы роста // Итоги науки и техники. Сер. Вирусология / ВИНТИ. – 1988. – **15**. – С. 157 – 195.
42. Mathie-Mahul D., Xu D., Saule S. An Eco RI restriction fragment length polymorphism (RFLP) in the human c-erb A locus // Hum. Genet. – 1985. – **71**, N 6. – P. 41 – 44.
43. Daytin A J., Selden J. R., Lows G. A human c-erb A oncogene homologue is closely proximal to the chromosome 17 breakpoint in acute promyelocytic leukemia // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1984. – **81**, N 11. – P. 4495–4499.
44. Hepatitis B virus DNA integration in a sequence homologous to v-erb A steroid receptor genes in a hepatocellular carcinoma / A. Dejean, L. Bougueleret, K. Grzeschik, P. Tiollais // Nature. – 1986. – **322**, N 6092. – P. 70 – 72.
45. Oncogenes in solid human tumours / S. Pulciani, E. Santos, A. V. Lauve et al. // Ibid. – 1982. – **300**, N 604. – P. 539 – 642.
46. Travers J., Khowler E. c-myc Expression regulation by 17 β -estradiol // Gene and Disease. – 1987. – **4**. – P. 415.
47. Murphy R., Klintock J. Differential expression of nuclear protooncogenes in Respose to growth factors and hormones // Gene and Disease. – 1987. – **4**. – P. 445 – 462.
48. Хесин Р. Б. Непостоянство генома. – М.: Наука, 1984. – 472 с.
49. Two proto-oncogenes implicated in mammary carcinogenesis, int-1 and int-2 are independently regulated during mouse development / A. Jakobovts, G. M. Shackelford, H. E. Varmus, G. R. Martin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1986. – **83**, N 8. – P. 7806 – 7810.
50. Murphy R. Estrogen-dependent gene transcription: A review. // Topics of metabolism regulation. – New York; London: Raven press, 1987. – P. 212 – 218.
51. Pokovova A., Stelman D., Bravers M. Inhibition of tumor growth is accompanied with depression of oncogene transcription // Biometrica. – 1988. – **1/2**, N 3. – P. 78–91.
52. Deuel J. F. PDGF/sis in normal and neoplastic cell growth // Cell Phys. – 1987. – **5**, N 1. – P. 95 – 100.

53. *Dosquet-Bernard C.* Inhibition of NIH3B proliferation by D3 // *Int. J. Metab. Nutr.* – 1987. – **5**. – P. 18 – 24.
54. *Vitamin D3* as modulator of tumor growth / *C. Dosquet-Bernafid, F. Wilhelme, N. Lomri et al.* // *Cell Biol. Int. Rep.* – 1986. – **10**, N 4. – P. 931–938.
55. *Regulation* of myc gene expression in HL-60 leukemia cells by a vitamin D metabolite / *P. H. Reitzma, P. C. Rothberg, S. M. Astrin et al.* // *Nature.* – 1983. – **306**, N 5942. – P. 492 – 494
56. *Chouvet C., Meiz K.* Correlation between c-myc expression and existence of vitamin D₃ receptors // *Advantages in hormone administration.* – West Berlin, 1987. – P. 171 – 174.
- 57 *Kaioti C., Axel P., Strom U.* Transfection of c-myc lead to changes in vitamin D3 c-myc response // *From membrane to nuclei.* – Tokyo, 1987. – P. 145 – 147.
58. *Burdon R. H.* Heat-shock and heat-shock response // *Biochem. J.* – 1987. – **5**, N 3 – P. 313 – 324.
59. *Close* similarity of epidermal growth factor and v-erb B oncogene protein sequence / *J. Dowaward, Y. Yarden, E. Mayes et al.* // *Nature.* – 1984. – **307**, N 5951. – P. 521–527.
60. *Carlin C R., Knowles B. B.* Biosynthesis and glycosylation of the epidermal growth factor receptor in human tumour-derived cell lines A431 and Hep 3B // *Mol. and Cell. Biol.* – 1986. – **6**, N 1. – P. 257 – 264.
61. *Beug H., Hayman M. J.* Temperature-sensitive mutants of avian erythroblastosis virus: surface expression of the erb B product correlates with transformation. // *Cell.* – 1984. – **39**, N 4. – P. 963 – 972.
62. *Gilmore T., Clue J. E. de Martin G. S.* Tyrosine kinase activiti associated with the v-erb B gene product // *Cancer Cells.* – 1985. – **3**. – P. 25 – 32.
63. *Ulrich A., Coussens L., Haytlick J. S.* Human epidermal growth factor receptor c DNA sequence and abberant expression of the amplified gene in A431 epidermoid carcinoma cells // *Nature.* – 1984. – **309**, N 6054. – P. 418 – 425.
64. *Goodwin R. G. Rottman F. M., Callaghan T.* c-erb B Activation in avian leukosis virus-induced erythroblastosis: multiple epidermal growth factor receptor mRNAs are benenerated by alternative RNA processing // *Mol. and Cell. Biol.* – 1986. – **6**, – N 9. – P. 3128 – 3133.
65. *Ligand* activation of overexpressed epidermal growth factor receptors transforms NIH 3 mouse fibroblasts / *H. Riedel, S. Mssoglia, J. Sohlessinger, A. Ulrich* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1988. – **85**, N 8. – P. 1477 – 1481.
66. *Reconstitution* of human EGF receptors and its deletion mutation in cultured hamster cells / *E. Livnech, R. Prywes, O. Kashles et al.* // *J. Biol. Chem.* – 1986. – **261**, N 5. – P. 12490 – 12497.
67. *Translocation* chromosome 7 of A431 cells contains amplification and rearrangement of EGF receptor gene responsible for production of variant mRNA / *J. H. Hunts, N. Shimizu, T. Yamamoto et al.* // *Somat. Cell. Mol. Genetics.* – 1985. – **11**, N 5. – P. 477 – 484.
68. *Epidermal* growth factor receptor gene-amplified MDA 468 breast cancer cell

- line and its nonamplified variants / J. Filmus, J. M. Trent, M. N. Pollak, R. Buick // *Mol. and Cell. Biol.* – 1987. – **7**, N 1 – P. 251 – 257.
69. *The neu oncogene and erb B-related gene encoding a 185 000-M_r tumor antigen* / A. L. Schechter, D. F. Stern, L. Vaidyanathan et al. // *Nature*, – 1984. – **312**, N 6054. – P. 513 – 516.
70. *King G. R., M. H. Kraus, Aaronson S. A.* Amplification of a novel v-erb B-related gene in a human mammary carcinoma // *Science*. – 1985. – **229**, N 5941. – P 974 – 976.
71. *A v-erb B related protooncogene c-erb B-2 is distinct from the c-erb B-1 / epidermal growth factor receptor gene and is amplified in a human salivary gland adenocarcinoma* / K. Semba, N. Kamata, K. Toyoshima, T. Yamamoto // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1985. – **82**, N 8. – P. 6497 – 6501.
72. *Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene* / L. Coussens, T. Yang-Feug, Y. Liao, E. Chen // *Science*. – 1985. – **230**, N 5992. – P. 1132 – 1139.
73. *Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplication of the HER-2/neu oncogene* / D. J. Slamon, G. M. Clark, S. G. Wong et al. // *Ibid.* – 1987. – **235**, N 6120. – P. 177 – 181.
74. *Localization of a novel v-erb B related gene c-erb B-2, on human chromosome I / and its amplification in a gastric cancer cell line* / S. I. Fukushige, K. I. Matsubara, M Yoshida et al. // *Mol. and Cell. Biol.* – 1986. – **6**, N 3. – P. 955 – 958.
75. *Overexpression of the EGF receptor-related proto-oncogene c-erb B-2 in human mammary tumor cell lines by different molecular mechanisms* // M. Kraus, N. Popescu, S Amsbaugh, C. R. King // *EMBO J.* – 1987. – **6**, N 3. – P. 605 – 610.
76. *Stern M. C., Weinberg R. A.* Molecular cloning of the neu gene Absence of gross structural alteration in oncogenic alleles // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – **83**, N 7. – P. 261 – 264.
77. *Hudziak R., Schlessinger J., Ullrich A.* Increased expression of the putative growth factor receptor p185^{HER2} causes transformation and tumori-genesis of NIH 3B cells // *Ibid.* – 1987. – **84**, N 6. – P. 7159 – 7163.
78. *erb-B-2 is a Potent oncogene when overexpressed in NIH 3B cells* / P. P. Di Fiore, J. Pierce, M. H. Kraus et al. // *Science*. – 1987. – **237**, N 6123. – P. 178 – 182.
79. *Bargmann C. I., Weinberg R. A.* Oncogenic activation of the neu-encoded receptor protein by point mutation and deletion // *EMBO J.* – 1988. – **7**, N 7. – P. 2043 – 2052.
80. *Bargmann C. I., Hung M. C., Weinberg R. A.* Multiple independent activation of the neu oncogene by a point mutation: Altering the transmembrane domain of p185 // *Cell*. – 1986. – **45**, N 5. – P. 649 – 657.
81. *Stern D. F., Kamps M.* EGF-stimulated tyrosine phosphorylation of p^{185neu}: a potential model for receptor interaction // *EMBO J.* – 1988. – **7**, N 4. – P. 995 – 1001.
82. *The c-fms proto-oncogene product is related to the receptor for the mononuclear phagocyte growth factor, CSF-1* / C. J. Sherr, C. W. Rettenmeier, R. Sacca et al. // *Cell*. – 1985. – **41**, N 4. – P. 665 – 676.

83. *Transforminy* potential of the c-fms proto-oncogene (CSF-1 receptor) / M. F. Roussel, T. J. Dull, C. W. Rettenmeier et al. // Nature. – 1987. – **325**, N 6104. – P. 549 – 552.

Глава 4

СЕКРЕЦИЯ ГОРМОНОВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ И КЛЕТКАМИ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ СИСТЕМЫ

4.1. Секреция гормонов опухолями

Секрецию гормонов злокачественными опухолями, возникшими из тканей, не продуцирующих гормоны, принято называть эктопической. Несмотря на широкое распространение этого термина, предложенного более 20 лет назад [1], в строго научном смысле он становится все более условным в связи с появлением новых данных, уточняющих представления о структурно-функциональной организации нейроэндокринной системы.

Наряду с эндокринными железами гормоны продуцируют клетки диффузной эндокринной системы [2]. Начало систематического изучения этой системы связано с обнаружением общих цитохимических характеристик пептидсекретирующих нейроэндокринных клеток различных тканей, что позволило Pearse [3] объединить их в единую АПУД-систему (Amino Precursor Uptake and Decarboxylation) и высказать гипотезу об их нейроэктодермальном происхождении.

Многими авторами обсуждается возможность развития АПУД-клеток из эндодермы [4], разных эмбриональных зачатков [5], «нейроэндокринно-программированных» эктобластов [6]; некоторые апудоциты могут иметь единый гистогенетический зачаток с паренхиматозными эпителиальными клетками [7]. Таким образом. АПУД-система, или диффузная нейроэндокринная система (ДНЭС), представляет собой комплекс гормонпродуцирующих клеток, специализированных на секреции более 35 различных гормонов и аминов. К ДНЭС относятся нейросекреторные клетки эндокринного мозга, передней доли гипофиза, эпифиза, мозгового вещества надпочечников, С-клетки щитовидной железы, D-клетки поджелудочной железы, эндокринные клетки легких, органов желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы. Продукцию пептидных гормонов и медиаторов в этих органах вряд ли можно назвать эктопической, так как их синтез происходит в специализированных эндокринных клетках АПУД-системы.

В большей степени определение «эктопическая» справедливо для обозначения секреции гормонов клетками, которые не являются эндокринными или нейроэндокринными и для которых синтез гормонов не свойствен. Так, гормон беременности хорионический гонадотропин продуцируется нормальными нетрофобластическими клетками: сперматозоидами, клетками

яичников, печени, толстой кишки и др. [8 9]. Лимфоциты человека, стимулированные фитогемагглютинином, синтезируют и секретируют инсулин, пролактин, тиреотропин, соматотропин, адренокортикотропный гормон – АКТГ [10]. Приведенные факты подтверждают существование эволюционно древней аутокринной системы, т. е. гормональной системы каждой отдельной клетки [11].

Исходя из существования развившихся в процессе биологической эволюции интегральной нейроэндокринной системы, ДНЭС (АПУД-системы), тканевой и аутокринной гормональных систем, каждый новый факт продукции гормонов в «нетипичном» месте, воспринимаемый как проявление эктопической продукции, по существу, является тем или иным вариантом отмеченных видов секреции гормонов.

4.1.1. Классификация гормонсекретирующих опухолей

Все гормонсекретирующие опухоли целесообразно разделить по системному принципу на три группы. В первую могут быть включены гормонсекретирующие опухоли эндокринных желез (табл. 5). Общим свойством этих опухолей является то, что они секретируют те же гормоны, что и клетки эндокринных желез, из которых они развились. К ним относятся аденомы гипофиза, которые по типу гормональной секреции принято подразделять на пять видов [9]: эозинофильные, продуцирующие гормон роста; базофильные, секретирующие АКТГ; пролактиномы; тиреотропинсекретирующие; хромофобные, которые в основном не являются гормонпродуцирующими. Наиболее редки аденомы гипофиза, секретирующие гонадотропные гормоны [12]. Вторую группу составляют опухоли, развившиеся из клеток АПУД-системы (табл. 6). К этой группе относятся АПУДомы неэндокринных органов, а также АПУДомы эндокринных желез, которые секретируют гормоны, не выделяемые в норме соответствующими эндокринными железами. К третьей группе относятся гормонсекретирующие опухоли неэндокринных и эндокринных органов, предшественниками которых являются клетки, не входящие в состав эндокринных желез или АПУД-системы (табл. 7).

Впервые опухоли поджелудочной железы человека, содержащие малигнизированные глюкагонсекретирующие клетки, описаны в 1956 г. В. С. Ждановым [13]. Значительно чаще глюкагоном встречаются панкреатические инсуломы, возникающие из клеток островков Лангерганса, а также гормонсекретирующие новообразования других эндокринных органов – щитовидной железы и коры надпочечников [14, 15]. К редким относятся опухоли поджелудочной железы, продуцирующие соматостатин, ВИП, панкреатический полипептид [16, 17]. Описаны опухоли, секретирующие

одновременно несколько гормонов [18], а также множественные опухоли эндокринных органов – МЭН-I и МЭН-II. Множественные опухоли гипофиза, паращитовидной и поджелудочной желез относятся к МЭН-I и характеризуются развитием синдрома Вермера; множественные опухоли щитовидной и паращитовидной желез и феохромоцитомы относятся к МЭН-II, развитие которых сопровождается синдромом Сиппла [19].

Таблица 5. Гормоны, секретируемые опухолями эндокринных желез и вызываемые ими синдромы

Секретируемый гормон	Клинический синдром	Локализация, вид опухоли
Опухоли эндокринных желез, происходящие из клеток АПУД-системы		
Кортикотропин	Синдром Иценко-Кушинга	Аденомы гипофиза, опухоли надпочечников
β-Эндорфин	Не наблюдали	Аденомы гипофиза, феохромоцитомы надпочечников
Энкефалины	» »	То же
Катехоламины	» »	Феохромоцитомы надпочечников
Инсулин	Гипогликемия	Инсулиномы поджелудочной железы
Глюкагон	Гипергликемия	Глюкагономы поджелудочной железы
Панкреатический полипептид	Не наблюдали	Опухоли поджелудочной железы
Вазоактивный интестинальный полипептид (ВИП)	Синдром «водной диареи»	ВИПомы поджелудочной железы
Соматостатин	Не наблюдали	Соматостатиномы поджелудочной железы
Кальцитонин	» »	Медуллярные карциномы щитовидной железы
Комплекс гормонов: кальцитонин, гастрин, ВИП, инсулин, кальцитонин, панкреатический полипептид	Синдром Вермера	Множественные эндокринные неоплазии типа I (МЭН-I): опухоли гипофиза, поджелудочной железы, паращитовидных желез
Комплекс гормонов: кальцитонин, катехоламины, паратиреоидный гормон	Синдром Сиппла	Множественные эндокринные неоплазии типа II (МЭН-II): медуллярный рак щитовидной и паращитовидной желез, феохромоцитомы надпочечников
Опухоли эндокринных желез неАПУДомного происхождения		
Гормон роста	Гигантизм-акромегалия	Аденомы гипофиза

Пролактин	Аменорея-галакторея	Пролактиномы гипофиза
Тиреотропин	Гипертиреозидизм	Аденомы гипофиза
Лютеинизирующий гормон	Не наблюдали	» »
Фолликулостимулирующий гормон	» »	» »
Паратиреоидный гормон	» »	Аденомы или карциномы парашитовидных желез
Хорионический гонадотропин	» »	Трофобластические опухоли

Таблица 6. Гормоны, секретируемые опухолями периферической ДНЭС и вызываемые ими синдромы

Секретаруемый гормон	Клинический синдром	Локализация, вид опухоли
Кортикотропин и связанные с ним гормоны (β-эндорфин, β-ЛПТ, α-МСГ, энкефалины)	Гигантизм – акромегалия	Опухоли легкого, яичника, молочной, щитовидной и парашитовидной желез, желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, пищевода параганглиомы надпочечников, тимомы
Кортикотропин-рилизинг-фактор	Не наблюдали	Опухоли легкого, яичника
Кальцитонин	» »	Опухоли легкого, молочной железы, почек, поджелудочной железы, желудочно-кишечного тракта
Инсулин	Гипогликемия	Опухоли легкого, почек, молочной железы, шейки матки
Вазопрессин	Не наблюдали	Опухоли легкого, вилочковой железы яичка, желчного пузыря
Глюкагон	Гипергликемия	Опухоли почек, яичника, легкого
ВИП	Синдром «водной диареи»	ВИПомы желудочно-кишечного тракта, эпидермиса, феохромоцитомы надпочечников
Гастрин	Синдром Цоллингера – Эллипсона	Опухоли легкого, гастрномы поджелудочной железы в желудочно-кишечного тракта, яичника
Гастрин-рилизинг-фактор	Не наблюдали	Опухоли легкого, медуллярные карциномы щитовидной железы
Соматостатин	» »	Опухоли легкого, бронхов, почек, тимуса, соматостатиномы желудочно-кишечного тракта

Множественность эндокринных опухолей объясняется генетическими нарушениями нейроэктодермы, из которой развиваются эндокринные и нервные клетки. Наиболее полная характеристика эндокринных синдромов, сопровождающих развитие гормонпродуцирующих опухолей, представлена в обзорных статьях [9, 20].

Исследованы опухоли, развившиеся из клеток ДНЭС, так называемые АПУДомы, характерная особенность которых заключается в продукции гормонов, секретируемых в норме нейроэндокринными клетками этой системы (см. табл. 5). Продукция одного или одновременно нескольких гормонов является общей характеристикой АПУДом, что, однако, редко проявляется развитием эндокринного синдрома. АПУДомы чаще секретируют фрагменты гормонов с различной молекулярной массой, которые биологически неактивны.

Таблица 7. Гормоны, эктопически секретируемые опухолями неэндокринных и эндокринных органов

Секретируемый гормон	Локализация, вид опухоли
Пролактин	Опухоли легкого, почек
Гормон роста	Опухоли легкого, желудка
Соматолиберин	Опухоли легкого, поджелудочной железы
Паратиреоидный гормон	Опухоли легкого, рак молочной железы, почек
Тиреотропин	Опухоли легкого, рак молочной железы, хориоэпителиома
Фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны	Опухоли легкого, почек
Соматомаммотропин	Опухоли легкого, двенадцатиперстной кишки, молочной железы, щитовидной железы, тела матки
Хорионический гонадотропин	Опухоли легкого, яичника, яичка, рак молочной железы, почек, печени, желудочно-кишечного тракта, надпочечников, поджелудочной железы

Данные Meador и соавт. [21] о высоком уровне АКТГ в негипофизарных опухолях были первым сообщением о синтезе опухолью неэндокринной природы (как считалось в то время) соединений, обладающих гормональной активностью. В ранних исследованиях [22] обнаружено присутствие этого гормона только в 7 % опухолей различного гистогенеза. Исключение составляла карцинома легкого, в 93 % которой обнаруживали так называемый большой АКТГ [23]. В настоящее время комплексное применение радиоиммунологических и цитологических методов исследования позволило показать наличие АКТГ в опухолях различных органов [24]. По данным Odell и

соавт. [25, 26], экстракты опухолей легкого, пищевода, молочной железы содержат значительно большее количество «большого» АКТГ и β -липотропина (β -ЛПТ), чем нормальные ткани. Наличие АКТГ и связанных с ним пептидов (β -ЛПТ, β -эндорфина, энкефалинов и *L*-меланостимулирующего гормона – α -МСГ) отмечено во всех случаях овсяноклеточного рака легкого, относящегося к АПУДомам. По мнению некоторых авторов [24–26], синтез АКТГ наряду с продукцией хорионического гонадотропина является универсальным свойством злокачественных опухолей. Вместе с тем значительное количество АКТГ обнаружено в нормальных тканях легких, окружающих опухоль [27], получены данные о появлении этого гормона в легких при длительном курении и неопухолевых хронических заболеваниях, сопровождающихся деструктивными изменениями [23, 28]. Эти данные несколько снижают ценность использования АКТГ в качестве маркера злокачественных опухолей легкого, однако проведенное в последнее время изучение продуцируемых опухолями гормонов (β -ЛПТ, АКТГ, гастрин, кальцитонин, β -эндорфина и др.) показало, что хроматографические параметры последних, как правило, отличаются от хроматографических профилей аналогичных гормонов, выделенных из нормальных тканей.

Orth и соавт. [29] в опытах, проведенных с использованием хроматографической техники и радиоиммунологического анализа, установили, что опухоли могут продуцировать не только АКТГ¹⁻³⁹, аутентичный гипофизарному, но также N⁻ и C⁻терминальные фрагменты этого гормона, представляющие собой, по-видимому, α -МСГ (АКТГ¹⁻¹³ и CL 1P (АКТГ¹⁸⁻³⁹)). Анализ этих данных позволяет сделать вывод, что секреция β -ЛПТ, АКТГ и связанных с ними пептидов (α -МСГ, β -эндорфина) – более частое явление, чем продукция опухолями только АКТГ, что, вероятно, является следствием выработки опухолевыми клетками предшественника этих гормонов, – проопиомеланокортин, из которого в результате процессинга образуется весь спектр гормональных соединений [30, 31].

Повышенный уровень кальцитонина обнаружен в крови 80 % больных мелкоклеточным раком легкого [32]. Отмечена корреляция между повышением содержания кальцитонина в крови у больных с опухолями различных локализаций и при наличии метастазов в костях [33]. В злокачественных опухолях поджелудочной железы (АПУДомах), исследованных с помощью иммуноцитохимических методов, обнаруживается, как правило, комплекс гормонов, в том числе кальцитонин, АКТГ, β -эндорфин, соматостатин, гастрин [34]. В сыворотке крови 50 % больных злокачественными опухолями поджелудочной железы отмечена повышенная концентрация кальцитонина, установлена положительная корреляция между уровнем кальцитонина в крови и стадией опухолевого процесса [35, 36]. Значение кальцитонина как опухолевого маркера несколько снижается тем, что повышенное содержание гормона обнаружено и у 20 % больных с хроническими воспалительными заболеваниями [37], а также у пациентов с хронической почечной

недостаточностью [38], острым панкреатитом [39]. С помощью методов жидкостной хроматографии высокого давления выделены кальцитонин человека и его сульфоксидные формы, различные для экстракта нормальной щитовидной железы, плазмы крови доноров и плазмы крови пациентов с медуллярной карциномой щитовидной железы [40]. Обнаружены различные формы кальцитонина в гомогенатах доброкачественных и злокачественных опухолей поджелудочной и опухолях щитовидной желез человека [41]. Способность секретировать различные молекулярные фрагменты пептидных гормонов является, по-видимому, общим свойством злокачественных клеток, что может быть следствием разной активности ферментов процессинга в нормальных и опухолевых клетках.

Нейроэндокринные пептидсекретирующие клетки определяются, как правило, в опухолях верхнего отдела желудочно-кишечного тракта. Чаще всего такие клетки секретируют гастрин, соматостатин, гастринингибирующий полипептид, панкреатический полипептид, серотонин, глюкагон [42], а в 5–10 % – α -МСГ, β -ЛПТ β -эндорфин и АКТГ [43]. Большинство карциноидов желудка выделяет несколько гормонов, однако иммуноцитохимическими методами установлено, что разные пептидные гормоны продуцируются разными типами клеток опухоли [42]. В опухолях толстого кишечника спектр эндокринных клеток, вырабатывающих пептидные гормоны, значительно уже. Доминируют серотонин-, энтероглюкагон- и соматостатинпродуцирующие клетки, в некоторых случаях выявлен панкреатический полипептид и инсулиноподобная иммунореактивность [43, 44].

Некоторые опухоли эндокринных желез (яичника, яичка, поджелудочной железы) и неэндокринных органов (легкого, почек, печени, желудочно-кишечного тракта) секретируют пролактин, гормон роста, соматолиберин, паратиреоидный гормон, тиреотропин, фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны, эстрогены, синтез которых не свойствен гормональным тканям-предшественникам опухолей. Отсутствуют также доказательства того, что синтез гормонов опухолями обусловлен наличием в них клеток АПУД-системы (см. табл. 7). Секрецию гормонов такими опухолями можно охарактеризовать как эктопическую. К этой же группе отнесены новообразования, вырабатывающие хорионический гонадотропин и хорионический соматомаммотропин, которые являются трофобластическими гормонами и в норме присутствуют в крови беременных женщин. Иммунореактивный соматомаммотропин определяется в сыворотке крови 7–10 % больных с нетрофобластическими опухолями [45, 46]. Большое количество наблюдений свидетельствует о высокой частоте обнаружения в сыворотке крови онкологических больных хорионического гонадотропина. Повышенная концентрация этого гормона в крови определяется у 60–70 % больных несеминомными опухолями яичка [47], у 41–60% – раком яичника [48], у 44% – раком тела матки [48] и у 50 % больных раком молочной железы при развитии метастазов [49]. Хорионический гонадотропин обнаружен с помощью

иммуноцитохимических методов в злокачественных опухолях легкого у 84–100 % больных [50].

β -Субъединица хорионического гонадотропина, выявляемая в норме на поверхности синцитиотрофобластных клеток, обнаружена также на поверхности злокачественных клеток более двадцати опухолей различного гистогенеза [51]. Такое поверхностное расположение β -субъединицы хорионического гонадотропина является, по-видимому, отличительным свойством трофобластических и злокачественных клеток, так как другие гликопротеидные гормоны (лютеинизирующий, фолликулостимулирующий, соматотропный), имеющие общую с хорионическим гонадотропином α -субъединицу, в мембранах этих клеток не обнаружены.

Диагностическая и прогностическая ценность определения секретируемых опухолью гормонов значительно возрастает при одновременном определении их с другими маркерами злокачественных новообразований, в частности с эмбриональными антигенами и белками беременности. Так, определение только хорионического гонадотропина в сыворотке крови позволило получить положительный результат у 70 % больных раком яичка несеминомного генеза. При комплексном исследовании содержания в крови больных раком этой локализации хорионического гонадотропина, специфического белка беременности α -гликопротеина (P-1) и фетопропротеина у 90 % больных выявлено наличие этих маркеров или части из них [52, 53]. Комплексное определение хорионического гонадотропина и раково-эмбрионального антигена в плевральных и асцитических экссудатах позволило правильно поставить диагноз у 70 % пациентов с опухолями яичника, легкого, молочной железы, в то время как применение цитологических методов – только у 44 %. Сочетание этих методов исследования дало возможность установить правильный диагноз у 80% больных [54]. Комбинированное определение гормональных и антигенных маркеров оказалось полезным для контроля за эффективностью хирургического, лучевого и лекарственного лечения больных метростромами и для раннего (доклинического) выявления наличия метастазов [52, 55].

4.1.2. Клинические и экспериментальные критерии секреции гормонов опухолями

Используется несколько критериев для доказательства продукции гормонов опухолями [56]: повышение уровня гормона в биологических жидкостях или эндокринные нарушения, ассоциированные с наличием опухоли; снижение уровня гормона после удаления опухоли; сохранение высокой концентрации гормона в крови после удаления эндокринной железы – источника секреции гормона; наличие артериовенозного градиента гормона в

зоне опухоли; обнаружение гормона в опухолевых тканях; экстракция гормона из опухолевой ткани в концентрации более высокой, чем та, которая наблюдается в окружающих нормальных тканях. Приведенные доказательства, однако, относительны, так как могут быть объяснены изменениями гормонального статуса организма под влиянием развивающейся опухоли, а также способностью злокачественных новообразований к накоплению гормонов и последующему их освобождению в биологические жидкости организма [57].

Наиболее надежные доказательства способности опухолей к секреции гормонов – обнаружение синтеза гормонов опухолевыми клетками и их секреции во внеклеточную среду *in vitro*; экспрессия в злокачественно трансформированных клетках структурных генов, кодирующих синтез соответствующих гормонов. Так, мРНК, кодируемая геном проопиомеланокортина, выявлена в метастазах медуллярной карциномы, секретирующей АКТГ и связанные с ним пептиды [58], а также в карциноидных опухолях тимуса и поджелудочной железы [59]. Обнаружена экспрессия генов, кодирующих синтез α - и β -субъединиц хорионического гонадотропина в нормальных и опухолевых тканях [60], и гена кальцитонина человека в карциномах легкого и щитовидной железы [61]. В экспериментах *in vivo* получены доказательства синтеза и секреции гормона опухолевыми клетками, пересаженными бестимусным мышам. При инокуляции бестимусным мышам клеток мелкоклеточной карциномы легкого человека (линия ДМ 53), секретирующих в культуре кальцитонин, концентрация иммунореактивного кальцитонина человека в сыворотке крови животных возрастала соответственно размеру опухоли и снижалась пропорционально эффекту лучевого и химиотерапевтического воздействия [62].

4.2. Секреция ростовых факторов опухолями и плацентой

Ростовые факторы относятся к группе пептидных или гликопептидных гормонов, индуцирующих клеточную пролиферацию. Исследования последних лет свидетельствуют о важной роли факторов роста в дифференцировке и опухолевой трансформации клеток, а также программированном росте и развитии плаценты и плода.

Первым из семейства ростовых факторов был открыт эпидермальный фактор роста (ЭФР), описанный в 1962 г. Cohen [63] как митогенный компонент, содержащийся в подчелюстных слюнных железах мышей. Название этот фактор получил за способность оказывать стимулирующий эффект на прорезывание зубов и открытие глаз у новорожденных мышей. Однако ЭФР оказался активным не только в отношении эпидермальных клеток, он способен взаимодействовать с клетками других типов, включая соединительнотканые. ЭФР состоит из 53 аминокислот, его молекулярная масса 6 кД. Установлено,

что ЭФР синтезируется в подчелюстных слюнных железах и почках и идентичен «урогастрону», выделенному из человеческой мочи.

Рецепторы к человеческому ЭФР идентифицированы во многих тканях, включая плаценту, их уровень в ней по сравнению с другими тканями-мишенями относительно высок [64]. Предполагается, что ЭФР играет важную роль в развитии фетоплацентарного комплекса благодаря митогенным свойствам и способности изменять секрецию некоторых гормонов плаценты [65, 66]. Ростовые факторы, имеющие структурное сходство с ЭФР и подобно ЭФР увеличивающие тирозинспецифическое фосфорилирование рецепторов ЭФР, секретируются опухолевыми клетками различного гистогенеза [67]. Повышенный уровень экскреции ЭФР с мочой часто наблюдается у онкологических больных и животных с экспериментальными опухолями [68].

Фактор роста нервов впервые выделен из тканей мышинных сарком 180 и 37. Основным источником ФРН в организме млекопитающих являются слюнные железы. Этот протеин, стимулирующий рост и дифференцировку сенсорных и симпатических ганглиев, продуцируется в небольших количествах – нанограмм на миллиграмм общего белка. Уровень ФРН в клетках плаценты человека сравнительно высок [69]. Специфические рецепторы к этому ростовому фактору обнаружены на клетках человеческой меланомы и феохромоцитомы [70].

Семейство ростовых факторов с молекулярной массой 14–18 кД, которые активируют преимущественно пролиферацию фибробластов, эндотелиальных клеток и хондроцитов, обнаружено в экстрактах гипофиза и головного мозга позвоночных [71], а также в тканях человеческой плаценты [72]. К ним относится фактор роста фибробластов и ростовые факторы, обладающие выраженной способностью стимулировать рост кровеносных сосудов (ангиогенез), вероятно, путем стимулирующего воздействия на пролиферацию эндотелиальных клеток. Другие ангиогенетические факторы – ангиогенин, опухолевый ангиогенетический фактор [73] – выявлены в опухолевых тканях. Ангиогенин из опухолевых тканей, по-видимому, является ростовым фактором, играющим важную роль в обеспечении кровью растущей опухоли.

Митогенный эффект сыворотки на клеточные культуры, особенно мезенхимальные, опосредуется главным образом фактором роста, который освобождается из тромбоцитов во время их контакта с агентами, стимулирующими свертывание крови. Он назван фактором роста из тромбоцитов (ФРТ). По структуре это гетеродимерный полипептид, состоящий из А- и В-цепей с молекулярной массой соответственно 14–18 и 16 кД, соединенных между собой дисульфидными мостиками. ФРТ взаимодействует со специфическими рецепторами на клетках-мишенях. Количество этих рецепторов на клетках ограничено (10^4 – 10^5 на клетку), однако они высокоаффинны по отношению к фактору роста из тромбоцитов ФРТ стимулирует пролиферацию и миграцию культивируемых фибробластов [74], нейтрофилов и моноцитов [75], в то время как другие ростовые факторы (ЭФР,

инсулин, фактор роста фибробластов, ФРН) не обладают выраженным модулирующим действием на хемотаксис фибробластов [74]. ФРТ продуцируется не только тромбоцитами, он обнаружен в эндотелиальной ткани гладких мышцах аорты, плаценте [76]. ФРТ-подобная активность выявлена в гомогенатах человеческой остеосаркомы и глиобластомы [77].

К другой группе ростовых факторов относятся колониестимулирующие факторы роста (КФР). Их клетками-мишенями являются стволовые кроветворные клетки, а название связано с их способностью индуцировать рост колоний и созревание этих клеток в культуре полужидкого агара. Были охарактеризованы КФР специфичные для определенных клеточных линий (КФР-1, специфичный для моноцитов, и КФР – для гранулоцитов), менее специфичные (КФР-2 для моноцитов и гранулоцитов), а также мультиспецифичные КФР (к ним относится интерлейкин-3). КФР – высокомолекулярные гликопротеиды с молекулярной массой 18 кД. Черты несомненного сходства с этими факторами имеет интерлейкин-4, выбывающий пролиферацию Т- и В-лимфоцитов и тучных клеток. Другой пример относительно специфичного ростового фактора – Т-клеточный ростовой фактор (ТКРФ), или интерлейкин-2. Этот гликопротеид синтезируется активированными Т-лимфоцитами (клетками-хелперами) и индуцирует пролиферацию Т-лимфоцитов – киллеров. Дефекты продукции функционирования ТКРФ приводят к таким патологическим состояниям, как первичные и вторичные иммунодефициты [78], аутоиммунные и опухолевые заболевания [79]. Рецепторы этих ростовых факторов экспрессируются на клетках неоплазий различного типа, в частности на лейкоэмических клетках человека [79], однако вопрос, имеет ли этот феномен функциональное значение, остается не решенным.

Инсулин долгое время был известен как ростовой фактор. Однако митогенный потенциал этого гормона связан со структурным подобием семейства инсулиноподобных ростовых факторов (ИФР-1 и ИФР-2), которые идентичны соматомединам С и А – эндогенным медиаторам действия гормона роста. Человеческий ИФР-1 эквивалентен соматомедину С (состоит из 70 аминокислот), а ИФР-2 – соматомедину А (67 аминокислот). ИФР-подобная активность определяется в различных нормальных и неопластических тканях [80–82]. По данным De Larco и Todaro [81], клеточная линия 8387 из человеческой фибросаркомы продуцирует ИФР в среду культивирования. Рак молочной железы Т47Д человека, растущий в бессывороточной среде, секретирует высокомолекулярные вещества, дающие перекрестную реакцию с моно- и поликлональными антителами к соматомединам [82]. На клетках этой опухоли выявлены специфические рецепторы к ИФР [83]. ИФР-1 и 2 мРНК, обнаружена в различных эмбриональных тканях человека [84], крыс [85], мышью плаценте [86]. Человеческая плацента является источником этих ростовых факторов [87] и содержит большое количество специфических рецепторов к ним [88]. Ростовые факторы с инсулиноподобной активностью

играют, по-видимому, существенную роль в эмбриональном периоде, осуществляя регуляторную роль в процессах роста и развития плаценты и плода.

Многие линии опухолевых клеток и солидные карциномы способны продуцировать факторы, индуцирующие обратимую трансформацию нормальных клеток, оцениваемую по критериям субстратнезависимого роста в полужидком агаре, снижению зависимости от сыворотки и уменьшению контактного ингибирования роста. Эти факторы, впервые выделенные из среды культивирования 3Т3 клеток мышинной саркомы Молони De Larco и Todaro [89], были названы трансформирующими факторами роста (ТФР). Среди них различают ТФР- α и ТФР- β [90]. Индукция трансформированного фенотипа в клетках соединительной ткани требует кооперативного участия обоих гормонов [91].

ТФР- α – пептид с молекулярной массой 5,4 кД – подобен ЭФР: оба фактора имеют структурную гомологию и взаимодействуют с одними и теми же рецепторами на клеточной поверхности. Вследствие этого клетки, не содержащие рецепторы к ЭФР или имеющие лишь небольшое количество их, не способны отвечать на трансформирующее действие ТФР- α . Данный белок обнаружен во всех исследованных опухолевых клетках, а также в эмбриональных тканях и плаценте человека, мышей, крыс [67, 92, 93], но не во взрослых нормальных клетках, что послужило основанием для предположения, что ТФР- α представляет собой эмбриональную форму ЭФР [93].

ЭФР-подобный белок, выделенный из плаценты и эмбрионов мышей и крыс, обладал способностью индуцировать фенотипическую трансформацию и субстратнезависимый рост нетрансформированных клеток в полужидком агаре, связываясь со специфическими рецепторами к ЭФР. Как полагают некоторые авторы, во время эмбрионального развития может экспрессироваться секреция ростовых факторов, не функционирующих в постнатальном периоде [93]. У взрослых животных введение ТФР- α или ЭФР вызывает стимуляцию реэпителизации и ангиогенез в большей степени в поврежденной, чем в неповрежденной эпителиальной ткани.

Другие ростстимулирующие факторы, обнаруженные в опухолевых клетках, в том числе в биопсийных тканях опухолей человека, представляют собой пептиды, подобные бомбесину. Они митогенны для многих линий опухолевых клеток. Рост эксплантатов мелкоклеточного рака легкого человека у мышей nude может быть ингибирован, а трансформированный фенотип этих клеток – подвергаться реверсии под влиянием антител к бомбесину, который продуцируется данными клетками [94]. Во многих других случаях обработка раковых клеток антителами против ростовых факторов, таких, как фактор роста макрофагов или инсулиноподобный фактор роста 1, приводит скорее к ингибированию роста клеточной популяции, чем к реверсии трансформированного фенотипа [95, 96].

ТФР- β – гомодимер с молекулярной массой 25 кД – представляет собой

уникальный тип ростового фактора, так как не имеет структурной гомологии не только с ТФР- α , но и с другими ростовыми факторами. В отличие от ТФР- α и бомбесина ТФР- β и высокоспецифичные рецепторы к этому фактору присутствуют не только в неопластических, но и многих нормальных тканях [97]. Следует подчеркнуть, что ТФР- β может как стимулировать, так и ингибировать клеточную пролиферацию и дифференцировку, а также осуществлять контроль активности других ростовых факторов. Способность ТФР- β стимулировать или ингибировать клеточную пролиферацию зависит как от типа клеточных линий, так и от соотношения его с другими ростовыми факторами в условиях культивирования клеток *in vitro*. Большинство клеточных линий отвечает на действие ТФР- β ослаблением, а не усилением своего роста. В то же время способность трансформированных клеток к ингибированию их роста в культуре под влиянием ТФР- β снижена. Существует предположение, что данный фактор – общий медиатор негативного контроля роста [97].

Более 30 лет назад [98] была предложена концепция эндогенных ауторегуляторных механизмов, основанная на выработке стимулирующих и ингибирующих факторов, совместное действие которых играет определенную роль в контроле размножения нормальных и опухолевых клеток. Эти взгляды были развиты в концепции шалонов [99], в соответствии с которой поддержание тканевой регенерации (тканевого гомеостаза) регулируется механизмом негативной обратной связи через ингибиторы (шалоны), образуемые в тканях функционирующими клетками и действующими на пролиферативный клеточный компартмент. Так как продукция шалонов связана с клеточной дифференцировкой в тканях, концепция шалонов представляет собой существенное объяснение связи между характеристиками роста и дифференцировки нормальных тканей. Шалоноподобные активности, выявленные в широком спектре тканевых экстрактов, были связаны с пептидными факторами. Антипролиферативный эффект шалонов тканеспецифичен, что отличает их от других негативных ростовых факторов. Однако вопрос, ответственны ли эндогенные ингибиторы роста за феномен опухолевой супрессии, остается нерешенным.

Обнаружение шалонов, трансформирующих факторов роста и секреции опухолевыми клетками ростовых факторов составляет основу концепции аутокринной регуляции роста тканей, в соответствии с которой ткани могут регулировать пролиферацию своих клеток независимо от системных сигналов путем образования собственных регуляторных факторов. В целом концепция шалонов предложена для объяснения гомеостаза нормальных тканей, а теория аутокринных ростовых факторов дает возможность объяснить специфические особенности роста и развития неопластических клеток. Одной из основных характеристик злокачественных клеток является их способность секретировать трансформирующие факторы роста, колониестимулирующие факторы, интерлейкины, а также ряд других гормонов (в частности, бомбесин и гастрин),

стимулирующих клеточную пролиферацию. Предполагается, что аутокринная стимуляция клеточной пролиферации делает опухолевые клетки автономными. Безусловно, аутокринные рострегулирующие механизмы играют существенную роль в некоторых нормальных физиологических ситуациях, таких, как развитие эмбриональных тканей, и в процессах тканевой регенерации. Об этом свидетельствуют, в частности, результаты исследований, продемонстрировавших стадио- и тканеспецифическое экспрессирование некоторых ростовых факторов во время эмбриогенеза [100].

4.3. Заключение

Осмыслить патофизиологическое значение и механизмы секреции гормонов опухолями, по нашему мнению, возможно, применив эволюционный подход к оценке этого явления. Вероятно, способность клетки к секреции факторов, обеспечивающих ей возможность автономного существования, возникла на весьма ранних стадиях биологической эволюции. К секретлируемым факторам принадлежали метаболиты некоторых аминокислот (биогенные амины), полипептиды, белки, производные холестерина и жирных кислот, а также другие соединения, которые на гораздо более поздних этапах эволюции стали выполнять функции биорегуляторов – медиаторов, гормонов, индукторов морфогенеза, ростовых факторов. Например, гормоны широко представлены у простейших – АКТГ, β -эндорфин, соматостатин, холецистокинин, кальцитонин, вазоцин. АКТГ и β -эндорфин, выделенные из клеток *E. coli*, по молекулярной массе, иммунореактивности, биологической активности по отношению к специфическим рецепторам аналогичны гормонам высших животных и человека. «Большой» АКТГ, выявленный у одноклеточных, реагировал с антителами к АКТГ и β -эндорфину человека, являясь, по-видимому, предшественником этих гормонов [101]. Инсулиноподобная активность обнаружена у микробов, грибов, червей [101, 102]; из дрожжевых грибов выделены факторы, обладающие эстрогенной активностью [103], показано наличие некоторых онкогенов, кодирующих регуляторные белки, в частности оккогена *ras*, в дрожжах [104].

Способность опухолевых клеток к ауто- и паракринной регуляции пролиферативной активности связана с продукцией ими ростовых факторов и гормонов, а приобретение комплекса свойств, характерных для трансформированных клеток (способности к инвазии, метастазированию, имплантации), – по-видимому, с изменением экспрессии некоторых клеточных генов, в том числе онкогенов [105–107]

Установлено [108, 109], что злокачественные опухоли представляют собой популяцию морфологически и функционально гетерогенных клеток. При клонировании злокачественных клеток обнаружено, что после определенного количества удвоений происходит фенотипическая диверсифицированность клеток. Этот

процесс периодически повторяется и завершается формированием клеточной популяции по степени гетерогенности клеточного состава подобной исходной. Благодаря гетерогенному составу опухоли обеспечивается внутриопухолевая специализация ее клеток, обладающих разными биологическими свойствами. Показательны в этом отношении данные Luster и соавт. [110], которые провели одновременное исследование продукции АКТГ, кальцитонина, бомбезина, паратиреоидного гормона, гастрин, ингибирующего пептида, субстанции Р различными клеточными линиями, полученными из опухоли легкого человека, и установили, что большинство (19 из 20) клеточных линий секретируют один или несколько пептидных гормонов. Имеются данные о наличии в злокачественных опухолях клонов, обладающих селективной способностью метастазировать [111], а также клонов, продуцирующих различные пептидные гормоны [112].

По-видимому, опухоль является ассоциацией не случайного набора гетерогенных клеток, а состоит из трансформированных клеток, совокупность свойств которых (способность к секреции ростовых факторов, пептидов, гормонов, факторов морфогенеза – антигенетического фактора, фактора роста нервов, а также способность к фенотипической диверсивности) обеспечивает выживание и прогрессивный рост новообразований в самых разнообразных условиях микроокружения нормальных тканей, а также способность опухоли противостоять действию лекарственных препаратов [109].

Можно предположить, что выяснение биологической роли и механизмов секреции гормонов опухолями, изучение возможности влияния на этот процесс обусловит прогресс в разработке биологически обоснованных способов противоопухолевых воздействий.

4.4. Список литературы

1. *The ectopic ACTH syndrome* /G. W. Liddle, J. R. Givens, W. E. Nicholson et al. // *Cancer Res.* – 1965. – **25**. – P. 1057 – 1061.
2. *Feyrter F. Ueber Diffuse endocrine Epitheliate Organa* // *Zbl. Inn. Med.* – 1938. – **545**. – S. 31 – 41.
3. *Pearse A. G. E. Common cytochemical and ultrastructural characteristics of cells producing polypeptide hormones (the APUD) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells anol calcitonin* // *Proc. Roy. Soc. B.* – 1968. – **170**. – P. 71 – 80.
4. *Яглов В. В., Ломоносова Г. А. Диффузная эндокринная система: Итоги и перспективы исследования* // *Успехи соврем. биологии.* – 1985. – **99**. – С. 264 – 276.
5. *Douarin M. M. de Teiller M. A. The migration of neural crest cells to the wall of the digestive tract in avian embryo* // *J. Embryol. and Exp. Morphol.* – 1973. – **30**. – P. 31 – 48.
6. *Pearse A. G. E. The diffuse endocrine system and the implication of the APUD concept* // *Int. Surg.* – 1979. – **64**. – P. 5 – 7.
7. *Райхлин Н. Т., Кветной И. М., Дейнеко Г. М. АПУД-система и эктопическая продукция гормонов опухолями* // *Эксперим. онкология.* – 1983. – **5**, № 4 – С. 10–16.
8. *Asch R. H., Fernandez E. O., Sile-Khodt T. M. Presence of a human chorionic gonadotropin-like substance in human sperm* // *Amer. J. Obstet. and Gynecol.* – 1979. – **135**. – P. 1041 – 1047.
9. *Дильман В. М. Эндокринологическая онкология.* – Л.: Медицина, 1983. – 408 с.
10. *Эктопическая продукция гормонов и эмбриональных белков стимулированными лимфоцитами человека* / С. Ю. Ревской, Ю. Ф. Бобров, В. М. Дильман, В. Б. Гамаюнова // *Докл. АН СССР.* – 1985 – **281**. – С. 1503 – 1505.
11. *Sporn M. B., Todaro G. J. Autocrine secretion and malignant transformation of cells* // *New Engl. J. Med.* – 1980. – **303**. – P. 878 – 880.
12. *Reduction of Follice-stimulating hormone (FSH) secretion in FSH-producing pituitary adenoma by bromocriptine* / М. Berezin, D. Olchovsky, I. Pines et al. // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1984. – **59**, N 6 – P. 1220 – 1223.
13. *Жданов В. С. Диабет и опухоли, возникающие из клеток островков поджелудочной железы* // *Арх. патологии.* – 1956. – **92**. – С. 306 – 308.
14. *Kruseman A. C. N., Khijnenburg G., Bosman F. T. Morphology and immunohistochemically-defined endocrine function of pancreatic islet cell tumours* // *Histopathology.* – 1978. – **2**. – P. 389 – 399.
15. *Milhaud G., Tubiana M., Parmentier G. Epithelioma de la thyroide secretime de la thyrocalcitonina* // *Cancer Res.* – 1968. – **266**. – P. 608 – 610.
16. *Clinicopathologic study of pancreatic and neural VIPomas* / R. G. Long, S. J.

- Mitchell, M. C. Bryant et al. // *Gut*. – 1979. – **20**. – P. 934.
17. *Hormonal studies in a patient with PP-producing tumors* / C. Bordi, R. Sivelli. R. Lampugnet et al. // *Hormone and Metabol. Res.* – 1985. – **17**, N 9. – P. 467 – 471.
18. *Multiplehormone secretion by a human pancreatic glucagonoma in culture* / A. White, K. Tan, C. Grey et al. // *Regul. Peptides.* – 1985. – **11**, N 4. – P. 335 – 347.
19. *Willemer S., Heitz U., Klöppel G.* The hormonal profile of pancreatic endocrine tumours in MEN1: an immunocytochemical study of 7 cases // *Acta. endocrinol.* – 1985. – **108**, N 267. – P. 156 – 157.
20. *Ratcliffe J. G.* Ectopic hormones // *Stab. and switch cell differ proc. int. workshol.* – New York, 1982. – P. 155 – 164.
21. *Cause of Cushing's syndrome in patients with tumors arising from "non-endocrine" tissue* / C. K. Meador, C. W. Liddle, D. P. Island et al. // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1962. – **22**. – P. 693 – 703.
22. *Clinical and laboratory studies of ectopic hormonal syndromes* / G. W. Liddle, W. E. Nicholson, D. P. Island et al. // *Recent Progr. Hormone. Res.* – 1969. – **25**. – P. 283 – 314.
23. *Gewirtz G., Yalow R. S.* Ectopic ACTH production in carcinoma of the lung // *J. Clin. Invest.* – 1974. – **53**. – P. 1022 – 1032.
24. *Hirata Y., Matsukura J., Fujita T.* ACTH and related peptides in normal and abnormal human tissues // *Hormones in normal and abnormal human tissues* – Berlin; New York, 1983. – Vol. **8** – P. 164 – 193.
25. *Ectopic peptide synthesis: a universal concomitant of neoplasms* / W. Odell, A. Wolfsen, Y. Yoshimoto et al. // *Amer. Physic. Trans. Assoc.* – 1977. – **90**. – P. 204 – 227.
26. *Wolfsen A. R., Odell W. D.* ProACTH: use for early detection of lung cancer // *Amer. J. Med.* – 1979. – **66**. – P. 765 – 772.
27. *Adrenocorticotrophin levels in normal and neoplastic lung tissue* / J. Holdaway, G. Bloomfield, J. G. Ratcliffe et al. // *Endocrinology.* – London, 1973. – P. 309.
28. *Lung tumours and ACTH production* / G. A. Bloomfield, I. M. Holdaway, B. Corrin et al. // *Clin. Endocrinol.* – 1977. – N 6. – P. 95 – 104.
29. *Biologic and immunologic characterization and physical separation of ACTH and ACTH fragments in the ectopic ACTH syndrome* / D. N. Orth, W. E. Nicholson, W. A. Mitchell et al. // *J. Clin. Invest.* – 1973. – **52**. – P. 1756 – 1759.
30. *Evidence for γ -MSH-like immunoreactivity in actopic ACTH-producing tumors* / Y. Nakai, I. Tanaka, J. Fukata et al. // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1980. – **50**. – P. 1147 – 1148.
31. *Roberts J. L., Herbert E.* Characterization of a common precursor to corticotropin and β -lipotropin: cell-free synthesis of the precursor and identification of corticotropin peptide in the molecule // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1977. – **74**. – P. 4826 – 4830.
32. *Calcitonin as an indicator of the response of human small cell carcinoma of the lung cells to drugs and radiation* / V. C. Cate, E. B. Duple, K. M. Andrews et al. // *Cancer Res.* – 1984. – **44**, N 3. – P. 949 – 954.

33. *Plasma immunoreactive calcitonin in patients with nonthyroid tumors* / R. C. Coombes, G. B. Greenberg, L. Y. Hillayard et al. // *Lancet*. – 1974. – N 2. – P. 1080 – 1083.
34. *Deftos L. J., Barton D. W.* Immunohistological studies of nonthyroidal calcitonin – producing tumors // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1980. – 50. – P. 1042 – 1045.
35. *Mulder H.* Ectopic secretion of calcitonin as a tumor marker // *Anticancer Res.* – 1983. – 3, N 4 – P. 247 – 250.
36. *Krauss S., Macy S., Ichih A. T.* A study of immunoreactive calcitonin (CT), adreno-corticothyroid hormone (ACTH) and carcinoembrionic antigen (CEA) in lung cancer and other malignancies // *Cancer*. – 1981. – 47. – P. 2485 – 2492.
37. *Hypercalcitoninemia in patients with chronic inflammatory disease* / H. Mulder, S. Silberbusch, W. H. L. Hackeng et al. // *Nath. J. Med.* – 1980. – 23. – P. 129 – 131.
38. *Calcitonin and its responsiveness in chronic renal failure* / H. Mulder, W. H. L. Haskeng, C. J. H. Ottolander et al. // *Nephron*. – 1982. – 23. – P. 244 – 256.
39. *Boer A. C., Milder H.* Characteristic changer in the concentration of some polypeptide hormone in myocardial infarction // *Acta. med. scand.* – 1981. – 209. – P. 193 – 198.
40. *Identification and characterization of calcitonin forms in plasma and urine of normal subjects and medullary carcinoma patients* / P. H. Tobler, F. A. Tshopp, M. A. Dombacher et al. // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1983. – 57. – P. 256 – 261.
41. *A new bioactive from of human calcitonin* / P. H. Tobler, M. A. Dombacher, W. Born et al. // *Cancer Res.* – 1983. – 43, N 8. – P. 3793 – 3799.
42. *Neurohormonal peptides in endocrine tumors of the pancreas, stomach and upper small intestine* / J. Alumels, F. Sundler, S. Falkmer et al. // *Ultra-struct. Pathol.* – 1983. – 5. – P. 55 – 72.
43. *Whats's new in endocrine factors of tumor growth?* / F. T. Bosman, M. Blankenstein, G. Daxenbichler et al. // *Pathol. Res. Pract.* – 1985. – 180. – P. 81 – 92.
44. *Immunohislochemical evidence of peptide hormones in endocrine tumors of the rectum* / J. Alumets, P. Aim, S. Falkmer et al. // *Cancer*. – 1981. – 48. – P. 2409 – 2415.
45. *Das Sukta B K. A.* Comparative study of ectopic of human chorionic gonadotropin and human chorionic somatotropin by carcinoma of the uterine cervix // *Oncology*. – 1984. – 41. – P. 303 – 307.
46. *Weintraub B. D., Rosen S. W.* Ectopic production of human chorionic somatomamotropin by nontrophoblastic cancer // *J. Clin. Endocrinol and Metabol.* – 1971. – 32. – P. 94 – 101.
47. *Mann K., Karl N.-J.* Molecular heterogeneity of human hCG and its subunits in testicular cancer // *Cancer*. – 1983. – 52, N4. – P. 654 – 660.
48. *Ectopic human chorionic gonadotropin gynecological tumors and поп malignant conditions* / L. Carezza, R. Di Gregorio, C. Mocci et al. // *Gynecol. J. Oncol.* – 1980. – 58. – P 179 – 181.
49. *Edgington P., Nacamura R.* Breast cancer markers // *Human cancer markers*. –

New Jersey: Human Press Clifton, 1982. – P. 191 – 233.

50. *Elaboration* of human chorionic gonadotropin by lung tumors An immune cytochemical study / T. S. Wilson, D. G. McDowell, K. R. McIntire et al. // Arch. Pathol and Lab. Med. – 1981. – **105**. – P. 169 – 173.

51. *McManus L. M., Naughton M. A., Martinez-Hermendez A.* Human hCG in human neoplastic cells // Cancer Res. – 1976. – **36**. – P. 3476 – 3481.

52. *Evaluation* of pregnancy-specific β_1 -glycoprotein in patients with non seminomatous testicular germ cell tumors / H. W. A. De Bruijn, J. H. Suurmeijer, D. Th. Sleijfer et al. // Eur. J. Cancer and Clin. Oncol. – 1982. – **18**, N 10. – P. 911 – 915.

53. *Pregnancy β - glycoprotein* and chorionic gonadotropin in the serum of patients with trophoblastic and non trophoblastic tumours / K. D. Bagshawe, R. M. Lequin, P. H. Sizaret et al. // Eur. J. Cancer. – 1978. – **14**. – P. 1331 – 1335.

54. *Couch W. D.* Combined effusion fluid tumor marker assay, CEA and HCG in the detection of malignant tumors // Cancer – 1981. – **48**, N 11. – P. 2475 – 2479.

55. *Ременник Л. В.* Маркеры опухолей молочных желез человека // Эксперим. Онкология. – 1985. – **7**. № 4, – С. 3 – 8.

56. *Rees L. H.* The biosynthesis of hormones by non-endocrine tumors // J. Endocrinol. – 1975. – **67**. – P. 143 – 175.

57. *Верещагина Г. В.* Существует ли эктопическая секреция АКТГ? // Эксперим. Онкология. – 1982. – **4**, № 3 – С. 11 – 19.

58. *Expression* of the proopiomelanocortin gene in human medullary thyroid carcinoma / P. H. Steenbergh, J. W. M. Höppener, J. Landberg et al. // J. Clin. Endocrinol and Metabol. – 1984. – **58**, N 5. – P. 904 – 908.

59. *Identification* of the mRNA coding for the ACTH betalipotropin Precursor in human ectopic ACTH producing tumor / T. Tsukada, Y. Nakai, H. Jingami et al. // Biochem. and Biophys. Res. Communs. – 1981. – **98**. – P. 535 – 539.

60. *Whiifield G. K.* Expression of hCG L and B genes in normal and neoplastic human tissues // Endocrinology. – 1985. – **117**, – N 1. – P. 231 – 236.

61. *Edbrooke M. R., Parker D.* Expression of the human calcitonin / CGPR gene in lung and thyroid carcinoma // Eur. Mol. Biol. Org. J. – 1985. – **4**, N 3. – P. 715–724.

62. *Calcitonin* as an indicator of the response of human diation / C. C. Cate, E. B. Douole, K. M. Andrews et al. // Cancer Res. – 1984. – **44**, N 3. – P. 949 – 955.

63. *Cohen S.* Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in newborn ammal // J. Biol. Chem. – 1962. – **237**. – P. 1555 – 1562.

64. *Ontogenesis* and characteristics of epidermal growth factor receptors in human placenta / S. A. Carson, R. Chase, E. Ulep et al. // Amer. J. Obstet. and Gmecol. – 1983. – **147**. – P. 932 – 939.

65. *Induction* of differentiated trophoblast function by epidermal growth factor relation of immunohistochemically detected cellular epidermal growth factor receptor levels / T. Maruo, H. Matsuo, T. Oishi et al. // J. Clin. Endocrinol. and Metbol. – 1987. – **64**. – P. 744 – 750.

66. *Epidermal* growth factor stimulates production of progesterone in cultured human chonocarcinoma cells / R. S. Bahn, K. V. Jr. Speeg, M. Q. Ascoli et al. // *Endocrinology*. – 1980. – **107**. – P. 2121 – 2123.
67. *Similar* transforming growth factors (TGFs) produced by cells transformed by different isolates of feline sarcoma virus / D. R. Twardzik, G. J. Todaro, F. H. Jr. Reynolds et al. // *Virology*. – 1983. – **124**. – P. 201 – 207.
68. *Comparison* of factors functionally related to epidermal growth factor in the urine of normal and human tumor bearing athimic mice / D. R. Twardzik, S. K. Edward, S. A. Sherwin et al. // *Cancer Res.* – 1977. – **45**. – P. 1934 – 1939.
69. *Golstein L. D., Reynolds C. P., Peres-Polo J. R.* // *Neurochem. Res.* – 1977. – **3**. – P. 185 – 193.
70. *Fabriant R. N., Larco J. E. de, Todaro G. S.* Nerve growth factor receptors on human melanoma cells in culture // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1977. – **74**, N 6. – P. 565 – 569.
71. *Gospodarowicz D.* Biological activity in vivo and in vitro of pituitary and brain fibroblast growth factor // *Mediat. Cell. growth and Differ.* – 1985. – N 4. – P. 109 – 134.
72. *Gospodarowicz D, Cheng J.* Fibroblast growth factor in the human placent // *Biochem. and Biophys. Res. Conununs.* – 1985. – **128**, N 2. – P. 554–563.
73. *Folkman J., Klagsbrunn M.* Angiogenic factors // *Science*. – 1987. – **235**. – P. 442 – 447.
74. *Human* platelet-derived growth factor / H. Seppa, G. Grotendorst, A. Seppa et al. // *J. Cell. Biol.* – 1982. – **92**. – P. 584 – 588.
75. *Williams L. T., Antoniades H. N., Goetzl E. J.* Mechanism of action of platelet-derived growth factor // *J. Clin. Invest.* – 1983. – **72**. – P. 1759 – 1763.
76. *Lipton A* Platelet growth factor present and biological significance // *Control Anim. Cell Prolif.* – 1985. – **1**. – P. 151 – 169.
77. *Beisholtz C., Westermarck B., Heldin C.* Coexpression of PDGF-like growth factors and PDGF receptors in a human osteosarcoma cell line implications for autocrine receptor activation // *Cell*. – 1984. – **39**, N 3. – P. 447 – 457.
78. *T-cell* growth factor / N. Flomenberg, L. Welte, R. Mertelsmann et al. // *J. Immunol.* – 1983. – **130**. – P. 2644 – 2650.
79. *Greene W. C., Robb R. J.* Receptors for T-cell growth factor: structure, function and expression on normal and neoplastic cells // *Gontemp. Top. Mol. Immunol.* – 1985. – **10**. – P. 1 – 34.
80. *Binoux M.* Production of insulin like growth factors and their binding proteins by the pituitary gland and the nervous tissue in culture // *Insulin like growth factors somatomedins: Proc. Symp., Nairobi*. – 1982. – Berlin, New York, 1983. – P. 571 – 576.
81. *Larco J. E. de, Todaro G. J.* Growth factors from murine sarcoma virus transformed cells // *Nature (London)*. – 1978. – **272**. – P. 356 – 358.
82. *Growth* factors / R. C. Baxter, J. E. Maitland, R. L. Raison et al. // *Insulin-like growth factors somatomedins: Proc. symp., Nairobi, 1982*. – Berlin, New York, 1983.

– P. 77.

83. *Myal Y.* Receptor binding and growth-promoting activity of insulin-like growth factors in human breast cancer cells (T 47D) in culture // *Cancer Res.* – 1984. – **44**, N 12. – P. 5486 – 5490.

84. *Han V. K. M., D'Ercole A. J., Lund P. K.* Cellular localization of somatomedin (insulin like growth factor) messenger RNA in the human fetus // *Science.* – 1987. – **236**. – P. 193 – 197.

85. *Somatomedin C* (insulin like growth factor I and insulin like growth factor II) MRNA's in rat fetal and adult tissues / *P. K. Lund, B. M. Moats-Staats, M. A. Hynes et al.* // *J. Biol. Chem.* – 1986. – **261**. – P. 14539 – 14544.

86. *Stempien M. M., Fong N. M., Rail L. B.* Sequence of a placental cDNA encoding the mouse insulin-like growth factor II precursor // *DNA.* – 5 – P. 357 – 361.

87. *Fant M., Moses A. C., Munro H. N.* Production of insulin-like growth factor I by human placental tissue // *Pediatr Res.* – 1984. – **18**. – 167A (Abstr. 428).

88. Characterization of the insulin and somatomedin C receptors in human placental cell membranes // *R. N. Marshall, L. E. Underwood, S. J. Voina et al.* // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1974. – **39**. – P. 283.

89. *Larco J. E. de., Todaro G. J.* Growth factors from murine sarcoma virus-transformed cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1978. – **75**. – P. 4001 – 4005.

90. *Moses H. L., Shipley G. D., Leof E. B.* Transforming growth factors // *Control of animal cell proliferation* / Ed. A. L. Boynton, H. L. Leffert. – New York: Acad press, 1987. – P. 75–92.

91 *Synergistic* interaction of two classes of transforming growth factors from murine sarcoma cells / *M. A. Anzano, A. B. Roberts, C. A. Meyers et al.* // *Cancer Res.* – 1982. – **42**. – P. 4776 – 4778.

92. *Transforming* growth factors from heiplastic and non neoplastic tissues / *A. B. Roberts, C. A. Frolik, M. A. Anzano et al.* // *Fed Proc.* – 1983. – **42**. – P. 2621 – 2626.

93. *Twardzik D. R., Ranchalis J. E., Todaro G. J.* Mouse embrionic transforming growth factors related to those isolated from tumor cells // *Cancer Res.* – 1982. – **42**, N 2. – P. 590 – 593.

94. *Bombesin*-like peptides can function as autocrine growth factors in hi man small cell lung cancer / *F. Cuttita D. N. Carney, J. Mulshine et al.* // *Nature.* – **316**. – P. 823 – 825

95. *Coexpression* of a PDGF like growth factor and PDGF receptors in a human osteosarcoma cell line implication for autocrine receptor activation / *C. Betsholtz, B. Westermark, B. Eck et al.* // *Cell.* – 1984. – **39**. – P. 447 – 457.

96. *Clemmons D. R., Van Wyk J. J.* Evidence for the functional role of endogeneously produced somatomedin-like peptides m the regulation of DNA synthesis in cultured human fibroblasts and porcine smooth muscle cells // *J. Clin. Invest.* – 1985. – **75**. – P. 1914 – 1918.

97. *Massague J.* The TGF P family of growth and differentiation factors // *Cell.* – 1987. – **49**. – P. 437 – 438.

98. *Weiss P., Kavanau J. L.* A model of growth and growth control in mathematical

- terms // J. Gen. Physiol. – 1957. – **41**. – P. 1 – 47.
99. *Iversen O. H.* What is new in endogeneous growth simulators and inhibitors chalone // Pathol. Res. Pract. – 1985. – **180**. – P. 77 – 80.
- 100/ *Jakobovits A.* The expression of growth factors and growth factor receptors during mouse embryogenesis // Oncogenes and growth control / Ed. P. Kahn, T. Graf. – Berlin; Heidelberg Springer. 1986. – P. 9 – 17.
101. *Kolata C.* New theory of hormones proposed // Science. – 1982. – **215**, N 4538. – P. 1383 – 1385.
102. *Insulin-related* material in microbes, similarities and differences from mammalian insulins // Can. J. Biochem. and Cell. Biol. – 1985. – **63**, N 8. – P. 839 – 845.
103. *Saccharomyces cerevisiae* produces a yeast substance that exhibits estrogenic activity in mammalian systems / D. Feldman, R. A. Stathis, M. A. Hirst et al. // Science. – 1984. – **224**. – P. 1109 – 1111.
104. *Nurse P.* Yeast aids cancer research // Nature. – 1985. – **313**. – P. 613 – 632.
105. *Винницкий В. Б.* О природе толерантности организма в опухоли // Эксперим. онкология. – 1981. – **3**, №2. – С. 3 – 12.
106. *Larco J. E., Preston Y., Todaro G. J.* Properties of a sarcoma growth factor like peptide from cell transformed by temperature sensitive sarcoma virus // J. Cell. Physiol. – 1981. – **109**. – P. 143 – 152.
107. *Oncogene* expression in human tumors / A. G. Tatosyan, S. A. Galetsky, N. N. Kisseleva et al. // Int. J. Cancer. – 1985. – **35**, N 6. – P. 731 – 736.
- 108 *Paste G.* Cellular heterogeneity in malignant neoplasms and the therapy of metastases // Ann. New York. Acad. Sci. – 1982. – N 2. – P. 34 – 48.
109. *Nicolson G.* .L Generation of phenotypic diversity and progression i metastatic tumor cells //Cancer Metast. Rev. – 1984. – **3**. – P. 25 – 42.
110. *Luster W., Gropp C. Havemann K.* Peptide hormone synthesizing lung tumor of biosynthetic products // Acta. Endocrinol. – 1983. – **102**, N 253. – P. 24–25.
111. *Heterogeneity* of the growth and metastatic behavior of cloned (cells lines derived from a primary rhabdomyosarcoma / F. L. Sweeney, I. Pot Deprun, M. F. Poupon et al. //Cancer Res. – 1982. – **42**, N 9. – P. 3776 – 3782.
112. *Insulin* glucagon and somatostatin secretion by cultured rat islet cell tumor and its clones / S. J. Bhathena, S. Awoke, N. R. Vogles et al. // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. – 1984. – **175**. – P. 35 – 38.

Глава 6

ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС И ГОРМОНОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТКАНЕЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И ОПУХОЛЕВОМ ПРОЦЕССЕ. СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЯ

Изучение процессов клеточной дифференцировки и регуляции роста – одно из важнейших направлений в онкологии, стремящееся к постижению механизмов выхода клеток из под контроля регулирующих систем и нарушения баланса процессов воспроизводства и отторжения клеток. Появление в раковых клетках некоторых метаболических особенностей эмбриональных тканей позволило высказать предположение о возвращении злокачественных клеток к эмбриональному типу развития и в связи с этим использованию некоторых продуктов раковых клеток, сходных с таковыми у плода, в качестве так называемых опухолевых маркеров (альфафетопротеин, карциноэмбриональный антиген, плацентарные белки, хорионический гонадотропин и др.). Однако в качестве предостережения от чрезмерного увлечения аналогиями между этими типами клеток уместно вспомнить высказывание Foulds: «Между эмбриональными и «анапластическими» неопластическими клетками такое же сходство, как между ребенком и старым маразматиком, впавшим в детство: в одном случае потенции еще не развиты, в другом они уже утрачены навсегда» [1]. Тем не менее некоторая общность существует, а поиски различий и их сущности, возможно, приведут к уяснению механизма регуляции злокачественного роста.

В последнее время в результате изучения опухолевых маркеров среди них выявлено большое количество новых белковых и полипептидных соединений, характерных также и для периода беременности (в крови матери и плода, в околоплодной жидкости, в плаценте, в эндометрии). Эти сведения, подробно изложенные в других главах данной монографии, дают представление о сумме современных знаний по проблеме «беременность и рак» и объясняют перспективность дальнейших исследований в этой области для профилактики, диагностики и лечения больных злокачественными новообразованиями.

Взаимоотношения между беременностью и злокачественным процессом неоднократно обсуждались в литературе, однако большинство вопросов остается неразрешенным и в настоящее время [2, 3]. Все больше опухолей, помимо опухолей органов репродуктивной системы, относят к гормонозависимым новообразованиям – меланомы, опухоли гортани, кишечника, костей и др., т. е. на развитие этих опухолей гормоны оказывают

заметное влияние, в связи с чем в их комплексное лечение включаются и гормональные препараты.

При развитии новообразований гормоны участвуют в регуляции патологической пролиферации клеток, при беременности – в процессах нормальной пролиферации дифференцировки и формообразования. Таким образом анализируя параллели в регуляции развития беременности и новообразований, необходимо рассмотреть гормональную среду, на фоне которой эти процессы развиваются.

В настоящей главе рассматриваются характер изменения гормонального статуса матери при беременности и возможная роль этих изменений в развитии злокачественных опухолей, а также охарактеризованы некоторые гормонозависимые факторы опухолей, относящиеся к опухолевым маркерам либо к маркерам гормоночувствительности и перспективы их использования в качестве диагностически-прогностических критериев.

Гормоны играют важную регуляторную роль на протяжении всей беременности — с момента овуляции и оплодотворения до родов. Очень краткий период времени (6–7 недель) после оплодотворения судьба зародыша зависит от эндокринной системы матери, а затем формируется плацента и новая функциональная система мать – плацента – плод, в которой главная роль в регуляции гестационного процесса принадлежит эндокринной функции плаценты.

Циклические изменения, происходящие в репродуктивной системе, направлены на подготовку организма матери к возможной беременности, к рецепции зародыша. Сразу после поступления в матку, еще до имплантации, зародыш образует посредник с лютеотропной активностью, сигнализирующий о наступлении беременности, и продлевает жизнь желтого тела. Полагают, что этим лютеотропином является хорионический гонадотропин, который у приматов начинает образовываться накануне имплантации. Сохранение активности желтого тела необходимо до 6–7-й недели беременности, а затем трофобласт становится основным источником прогестерона (ПГ), стероидогенез в яичниках снижается. Аборт может быть вызван удалением желтого тела до конца 7-й недели беременности, но не в более поздние сроки. В первые 9–10 недель беременности уровень ПГ в крови незначительно отличается от уровня этого гормона у небеременных женщин в лютеиновую фазу менструального цикла, а затем прогрессивно увеличивается и достигает максимума к 37–38-й неделе/ Прогестерон усиливает децидуальную реакцию эндометрия, способствуя имплантации зародыша, ингибирует сократительную активность миометрия, является предшественником других стероидных гормонов. Прогестерон способствует выведению соли из организма матери, увеличивает объем внутрисосудистой жидкости и тем самым способствует удалению продуктов метаболизма плода, причем в организм матери плацента секретитрует в 3 раза больше ПГ чем в плод [4, 5].

Появление в моче и крови беременных женщин хорионического

гонадотропина (ХГ) свидетельствует о дифференциации трофобласта. По мере развития беременности концентрация ХГ в крови матери изменяется, наиболее высока она в I триместре беременности до 10–12-й недели, затем концентрация гормона резко снижается и повторное, но менее интенсивное повышение, наблюдается к концу беременности, после 30-й недели. Биологическое действие ХГ сходно с таковым лютеинизирующего гормона гипофиза и проявляется в регуляции синтеза половых стероидов желтым телом, а затем плацентой ХГ модифицирует иммунные реакции организма матери, препятствует отторжению плода. В организме плода ХГ регулирует процессы формирования половых желез и синтез дегидроэпиандростерона в зародышевой зоне коры надпочечников [16].

Плацента продуцирует большие количества лактогенного гормона (плацентарного лактогена – ПЛ), сходного по биологическим свойствам с гипофизарным гормоном роста. Концентрация ПЛ в крови беременных возрастает по мере развития беременности и, коррелирует с массой плаценты. Синергично с ХГ действует ПЛ на стероидогенез и сократительную активность миометрия. В организме матери ПЛ оказывает липолитическое действие, повышая уровень свободных жирных кислот и подавляя утилизацию глюкозы, усиленно используемой плодом. Наряду с этим ПЛ по видимому, поддерживает осмоляльность плода и регулирует баланс кальция в организме матери в условиях меняющихся потребностей ПЛ совместно с другими гормонами действует на молочные железы, подготавливая их к лактации.

При беременности значительно повышается уровень эстрогенов и изменяется соотношение между эстроном (Э_1), эстрадиолом (Э_2) и эстриолом (Э_3) в сторону преобладания Э_3 , содержание которого в конце доношенной беременности составляет 75–97 % эстрогенов [9]. В синтезе эстрогенов при беременности принимают участие плод, плацента и надпочечники матери. Основным предшественником эстрогенов и прогестерона при беременности является прегненолон. В зародышевой коре надпочечников плода прегненолон, предварительно превращенный в сульфат, служит источником образования дегидроэпиандростерона сульфата (ДЭАС), который затем поступает в плаценту и может быть превращен в эстрогены. Наряду с этим плацента сама может превращать прегненолон в эстрон, эстрадиол и эстриол, а также продуцировать эстрогены из предшественников материнского происхождения – ДЭАС, синтезированного в надпочечниках матери [10]. Около 50 % эстрадиола материнской крови образуется из предшественников плодового происхождения и 50 % – из андрогенов, образующихся в надпочечниках матери.

Концентрация эстрогенов в крови к концу беременности повышается в 5–10 раз, в моче в 500–1000 раз по сравнению с концентрацией у небеременных женщин, причем основной фракцией эстрогенов является Э_3 , который образуется из Э_1 , Э_2 и ДЭАС. Во второй половине беременности 80 % Э_3 образуется из ДЭАС плодового происхождения. Эстриол способен конкурировать с эстрадиолом за связывание с рецепторным белком в

эндометрии, но эстрогенные рецепторы зоинофилов проявляют большее сродство к Э₃, чем к Э₂. Неоднозначно влияние Э₃ на пролиферативные процессы в различных тканях. Наиболее выраженное стимулирующее влияние Э₃ оказывает на пролиферативную активность эпителия шейки матки, влагалища и вульвы, но не влияет на пролиферацию эндометрия. В экспериментах на крысах Э₃ оказывает антиимплантационное действие, которое может быть ослаблено совместным введением Э₂. Э₃ в отличие от других эстрогенов не изменяет существенно продукцию простагландинов в матке овариэктомированных крыс, а при совместном введении с Э₂ тормозит стимуляцию биосинтеза простагландина ПГF_{2α} [9].

Экскреция Э₃ с мочой матери служит показателем состояния плода, уменьшение его количества может свидетельствовать об угрозе выкидыша. При невынашивании беременности в первой половине уровень Э₃ снижается, тогда как уровень Э₁ и Э₂ повышается по сравнению с этим показателем при нормально протекающей беременности. С приближением срока родов также изменяется соотношение Э₃ и Э₂, экскреция Э₃ уменьшается, а экскреция Э₂ увеличивается или остается неизменной. Концентрация Э₃ в крови плода перед родами тоже снижается [10].

При беременности значительно повышается концентрация андрогенов, которые образуются в надпочечниках плода, половых железах, печени и плаценте. Содержание тестостерона (ТС) в крови матери к 13–16-й неделе беременности в 2 раза выше, а в III триместре в 5 раз выше, чем у небеременных. Образуется тестостерон в основном (60 %) за счет экстрагландулярного превращения андростендиона, остальное количество секретируется яичниками и надпочечниками. Изменяются количественные соотношения фракций андрогенов, соотношение андростерона и тестостерона достигает 5 : 4, что в 2 раза выше, чем у небеременных [8, 11].

Повышенная продукция эстрогенов и андрогенов при беременности не отражается на концентрации в крови несвязанных форм гормонов, так как одновременно усиливается синтез секс-стероидсвязывающего глобулина (тестостерон-эстрадиолсвязывающего глобулина), который является транспортным белком и регулятором уровня в крови активной формы половых стероидов [8].

Уровень кортизола и суммарных кортикостероидов во время беременности непрерывно повышается, достигая максимума к середине беременности и остается высоким во второй половине беременности. Повышение уровня кортикостероидов обусловлено увеличением количества их связанных форм, так как под влиянием высокого уровня эстрогенов и плацентарного лактогена усиливается синтез транскортина в печени, связывающего кортикостероиды. Аналогичные явления характерны и для тиреоидных гормонов, уровень которых повышается за счет связанных с тироксинсвязывающим глобулином гормонов [8, 12].

Таким образом, гормональная регуляция беременности осуществляется

благодаря эндокринной функции системы мать – плацента – плод, в которой ведущая роль принадлежит плаценте. Плацента обладает относительной независимостью от регуляторного влияния гипоталамо-гипофизарной системы матери, а продукция и метаболизм гормонов в ней регулируются собственными тропными гормонами. Секреция гипофизарных гормонов (АКТГ, ТТГ, СТГ) у матери во время беременности либо существенно не изменяется, либо снижается – уровень ФСГ падает до неопределяемых величин [8].

Плод и плацента являются чужеродными для материнского организма тканями, так как содержат антигены отцовского происхождения, отторжение этого аллотрансплантата предотвращается комплексом эндокринообменных перестроек и своеобразной иммунодепрессией в основном за счет подавления клеточного иммунитета. Возможная роль нарушений гомеостаза при беременности в развитии злокачественных опухолей подробно проанализирована В. М. Дильманом [13 14]. Многие из перечисленных выше эндокринно-метаболических изменений, обеспечивающих сохранение и развитие плода, могут быть факторами, способствующими развитию рака. Высокий уровень кортизола, прогестерона, хорионического гонадотропина способствует развитию иммунодепрессии, которая обеспечивает сохранность плода, но должна облегчать развитие рака. Снижение толерантности к глюкозе, повышение уровня холестерина и жирных кислот способствуют обеспечению пластических и энергетических процессов в развивающемся организме и наряду с этим являются факторами, создающими благоприятный метаболический фон для развития рака. Гормонально-метаболические изменения при беременности могут неоднозначно влиять на развитие опухолей из разных тканей.

Вместе с тем имеются сведения и о протекторном действии беременности на развитие опухолей у человека и животных. В результате эпидемиологических исследований обнаружена зависимость между возрастом первой беременности и риском заболеть раком молочной железы (РМЖ) [15]. Коррелятивный анализ, проведенный в этих исследованиях на многочисленном контингенте пациентов, свидетельствует, что риск РМЖ возрастает с увеличением возраста первой полноценной доношенной беременности и родов. У женщин, родивших первого ребенка до 18 лет, риск рака молочной железы в 3 раза ниже, чем у женщин, имевших первые роды к 35 годам и позже. У женщин, у которых первые роды после 30 лет, риск РМЖ выше, чем у нерожавших. Протекторный эффект беременности, по этим данным, проявляется только в короткий период времени после полового созревания, в связи с чем статистическая закономерность влияния беременности на риск РМЖ обнаруживается только в связи с первыми родами. Общее количество последующих беременностей и кормлений имеет меньшее значение для последующего заболеть раком молочной железы. Прерывание беременности скорее ассоциируется с увеличением риска заболеть. Протекторное влияние первой беременности прослеживается во всех

возрастных группах женщин, даже в возрасте 75 лет и старше.

McMahon и соавт. [15] считают, что первая беременность является «триггером» изменений в эпителии молочной железы, ответственных за чувствительность ткани молочной железы к воздействию канцерогенных агентов. По-видимому, протекторное действие беременности может быть связано с функциональной дифференцировкой ткани молочной железы в период беременности и лактации, а также с некоторыми стойкими изменениями в гормональном статусе у рожавших женщин в последующий период жизни. Так, изучение экскреции эстрогенов показало, что в фолликулиновой фазе менструального цикла у молодых (19–23 г) рожавших женщин эстриольный коэффициент (отношение количества эстриола к суммарному количеству эстрона и эстрадиола) на 40 % выше, чем у женщин 25–27 и 29–34 лет. В лютеиновую фазу цикла эстриольный коэффициент у молодых нерожавших женщин ниже, чем у молодых рожавших женщин [16]. Отмечено также, что у рожавших женщин концентрация эстрогенов в межтканевой жидкости молочной железы значительно ниже, чем у нерожавших [17], а концентрация пролактина в крови уменьшается пропорционально числу доношенных полноценных беременностей [18]. Таким образом, предохраняющее действие беременности по отношению к раку молочной железы может быть связано как с функциональной дифференцировкой железы, так и с ослаблением влияния гормонов на пролиферативные процессы в эпителии молочной железы.

Длительный период времени между воздействием протекторных факторов беременности и клиническими проявлениями опухоли свидетельствует, что эти протекторные факторы могут действовать на стадии инициации опухоли, в то время как у нерожавших женщин или у рожавших после 30 лет факторы беременности могут иметь отношение к промоции ранее трансформированных клеток молочной железы. Подтверждают это результаты опытов с индукцией РМЖ химическими канцерогенами [19, 20]. Если канцероген (метилхолантрен, ДМБА) вводили молодым половозрелым животным до спаривания и беременности, то опухоли молочной железы развивались у большинства животных, а последующая беременность укорачивала латентный период появления опухолей и ускоряла рост. Если канцероген вводили уже беременным или лактирующим крысам, то индукция опухолей была заторможена. Лактация мало влияла на индукцию опухолей. Гормональный статус, соответствующий различным стадиям беременности, оказывал различное влияние на канцерогенез. При введении ДМБА в различные сроки беременности (на 5, 10 и 15-е сутки) отмечено снижение частоты развития опухолей параллельно увеличению срока беременности. Введение ДМБА крысам на 15-е сутки беременности было полностью неэффективным. Авторы считают, что рефрактерность эпителия молочной железы к канцерогену во второй половине беременности связана со степенью его дифференцировки. Концевые почки в молочной железе к этому времени превращаются в альвеолярные структуры, которые менее чувствительны к

ДМБА [21]. Начиная с середины беременности клетки молочной железы способны синтезировать казеин, т. е. достигают той степени дифференцировки, после которой они не возвращаются в клеточный цикл. Это клетки, которые прошли так называемый критический митоз и не чувствительны к трансформирующему действию канцерогена [22].

Прерывание беременности у крыс снижало, но не снимало совсем тормозящее влияние на индуцированный канцерогенез. Авторы высказали предположение, что в протекторное действие беременности помимо процессов дифференцировки эпителия молочной железы включены также иммунные механизмы, обусловленные общностью, фетопланцентарных и опухолевых антигенов, способностью антигенов, выработанных в период беременности, распознавать трансформированные клетки молочной железы и способствовать их элиминации [23]. Интересно отметить, что введение животным больших доз гонадотропинов, эстрадиола и прогестерона значительно снижает частоту возникновения индуцированных ДМБА и N-Нитрозо-N-метилмочевинной опухолей молочной железы, а морфологические изменения в молочной железе при этом в некоторой степени сходны с изменениями при беременности [24, 25].

Имеются сведения и о стимуляции канцерогенеза у животных при беременности [26]. У мышей так называемые спонтанные опухоли чаще возникают у рожавших самок, чем у девственных. Ложная беременность и лактация способствуют увеличению частоты появления опухолей молочной железы у мышей линии A/CrgL, а у мышей C₃Hf частота развития опухолей молочной железы возрастает с 2 до 44 % после 7 пометов [27]. Показано [28], что молочные железы мышей становятся более чувствительными к гормональной стимуляции после беременности и лактации по сравнению с молочными железами девственных мышей.

Перевиваемая опухоль молочной железы мышей ТРДМТ-4 прогрессивно растет при беременности и может переживать в дремлющем состоянии у девственных мышей. Реакция этой опухоли на половые гормоны (пролактин, эстрадиол, прогестерон) отличается от таковой нормальной молочной железы мышей. Если в нормальной молочной железе пролактин увеличивает синтез рецепторов эстрадиола (ЭР) и прогестерона (ПР) в 2–3 раза, то в опухоли это не происходит. Комбинированное воздействие тремя гормонами (пролактин, прогестероном и эстрадиолом) в нормальной ткани молочной железы вызывает повышение уровня ПР и снижение уровня ЭР, а в опухоли не влияет на базальный уровень ЭР и ПР, но при этом стимулирует рост опухоли [29, 30]. Из этой перевиваемой опухоли получено несколько опухолевых штаммов с различными проявлениями нарушений гормональной регуляции и гормоночувствительности. Подлинная Т4-0196 характеризуется независимым от беременности ростом, низким уровнем ЭР и способностью продуцировать ПР в ответ на стимуляцию эстрадиолом. Подлинная Т4-01320 содержит рецепторы эстрадиола, но не синтезирует ПР под влиянием эстрадиола. Штамм Т4-0126

реагирует на овариэктомию остановкой роста опухоли, имеет РЭ и синтезирует РР в ответ на воздействие эстрадиолом. Таким образом, в некоторых случаях опухоль может не реагировать на гормональные сигналы, несмотря на наличие гормональных рецепторов. По-видимому, в этих случаях имеется дефект в системе взаимодействия гормона с клеткой не на этапе связывания гормона с рецептором, а на другом этапе.

Действительно, при изучении механизма действия гормонов в опухолевых клетках были выявлены различные варианты нарушений в каскаде внутриклеточных процессов в ответ на гормональный сигнал. Если в физиологических условиях синтез РР зависит от действия эстрогенов, то в опухолях синтез этих рецепторов не всегда зависит от стимуляции эстрадиолом. В одной из культивируемых клеточных линий рака молочной железы человека Т47Д нет цитоплазматических РЭ и содержатся высокие концентрации РР [31]. Если клетки линии МСF-7, растущие на очищенной активированным углем сыворотки, реагируют на добавление в среду 10^{-8} М эстрадиола трехкратным увеличением базального уровня РР, то клетки Т47Д не реагируют на экзогенный Э₂. По-видимому, механизм регуляции биосинтеза РР в клетках Т47Д отличен от такового в клетках МСF-7.

Несколько вариантов гормонорезистентных клеток были получены из эстрогенчувствительной линии клеток МСF-7 [32]. Один из клонов R27 сохранял реактивность к эстрогенам, стимулирующим рост этих клеток, но полностью терял способность к торможению роста антиэстрогенами. В экстрактах из цитоплазмы и ядра R27-клеток обнаружены незанятые рецепторы, константа диссоциации, седиментационные характеристики и молекулярная масса которых идентичны таковым для рецепторов из клеток МСF-7, но при этом у них снижена способность гормон-рецепторного комплекса к связыванию с ДНК-целлюлозой. В этих клетках обнаруживали дефект в процессинге рецепторов. Если в клетках МСF-7 тамоксифен ослаблял процессинг, но осуществлялась транслокация комплекса рецептор – тамоксифен в ядро, то в клетках R27 процессинг при добавлении тамоксифена не регистрировали. Кроме того, в клетках R27 синтез индуцируемых эстрогеном белков Р-52 и РР не ингибировался антиэстрогеном, а стимулировался. Этот парадоксальный факт, по мнению авторов, возможно, аналогичен ситуации у больных РМЖ, у которых наблюдается стимуляция опухолевого роста после применения антиэстрогенов.

Второй эстрогеннезависимый клон R3 из клеток МСF-7 характеризуется наличием цитоплазматических и ядерных рецепторов, молекулярные характеристики, способность к активации и транслокации в ядро и специфичность связывания которых идентичны рецепторам исходного клеточного штамма. При этом отсутствует процессинг рецепторов и индуцируемый эстрадиолом синтез рецепторов прогестерона, изменена способность связывания с ДНК-целлюлозой. Этот вариант нарушения гормон-рецепторного взаимодействия тоже может и быть причиной ареактивности РМЖ

у пациентов с рецепторположительными опухолями.

Среди линий клеток рака молочной железы человека имеются клетки МДА-МВ-134, в которых разобщена регуляция эстрогенами их роста и синтеза рецепторов прогестерона в них. В этих клетках имеются РЭ и РП, по физико-химическим свойствам не отличающиеся от рецепторов в клетках MCF-7, но под влиянием эстрадиола в клетках МДА-МВ-134 не происходит внутриклеточного перераспределения РЭ и не увеличивается уровень РП, хотя эстрадиол стимулирует рост этих клеток [33]. Клетки РМЖ другой линии Evsa-T не имеют рецепторов эстрадиола и прогестерона, рост их не зависит от эстрадиола, но синтез РП в этих клетках и их рост могут быть индуцированы добавлением сыворотки. Таким образом, наличие рецепторов прогестерона не всегда может свидетельствовать о гормоночувствительности клеток, а отсутствие РП не всегда свидетельствует об их гормонорезистентности [34].

Имеются сведения [32], что резистентность к гормонам может быть связана с изменением состояния хроматина, его акцепторных мест. На основании изучения ЭР и негистоновых хромосомальных белков [НГХБ] в карциноме молочной железы у мышей были сделаны выводы о возможности двух разновидностей гормоннезависимости опухолей. В первом варианте опухоли содержат ЭР в цитоплазме, но у клеток снижена способность к ядерному связыванию гормона и определяется низкая концентрация НГХБ с молекулярной массой 31 кД, во втором варианте ЭР отсутствуют в цитозоле, в то время как способность к ядерному связыванию гормон-рецепторного комплекса и НГХБ с молекулярной массой 31 кД сохраняется [35].

О существовании изменений во взаимодействии гормонов с генетическим аппаратом в клетках РМЖ человека свидетельствует обнаружение в клетках MCF-7 экспрессии гена *pS2*, что не наблюдается в ткани нормальной молочной железы или в клеточных линиях, не содержащих РЭ [36]. В клетках MCF-7 обнаружен цитоплазматический белок p24, регулируемый эстрогеном. Этот белок обычно не экспрессируется в нормальной или лактирующей молочной железе в рецепторотрицательных клетках рака молочной железы, в неэндокринных тканях и опухолях [37]. Присутствие белка p24 коррелирует с наличием ЭР и РП в цитозоле опухолей молочной железы (ОМЖ), хотя эта корреляция слабее, чем между обоими рецепторами [38].

Показано наличие корреляции между активностью плазминогенных активаторов и уровнем РП в клетках РМЖ человека. Раковые клетки продуцируют группу протеаз – плазминогенные активаторы, которые превращают плазминоген в активный фибринолитический фермент плазмин. Биосинтез этих белков регулируется эстрогенами, а сами белки являются одним из маркеров злокачественной трансформации и частью механизма, ответственного за способность опухоли к метастазированию [39].

Интересные сведения об изменении соотношения тканевых факторов, активирующих и ингибирующих функцию РЭ и РП в цитозоле злокачественных опухолей молочной железы человека, сообщены J. Chen и С.

Vaughn [40]. При добавлении свежего цитозоля из кроличьей матки к цитозолю ОМЖ связывающая активность РЭ и РП возрастала. Смешивание цитозолов из различных ОМЖ приводило к активизации или ингибированию связывания рецепторов с гормоном в зависимости от преобладания в объединенном цитозоле активирующих или ингибирующих связывание факторов.

Показано, что ингибирующий рост фактор, который секретируют клетки РМЖ, сходен с трансформирующим фактором роста TGF- β , а его регуляция опосредована ЭР. У резистентных к антиэстрогенам клеток РМЖ линии LY-2 способность к индукции TGF- β снижена. Авторы считают, что при росте клеток РМЖ положительным ростовым фактором может быть трансформирующий фактор TGF- α , а отрицательным модулятором – TGF- β [41]. Возможно, в механизм гормональной регуляции опухолевого роста включено взаимодействие гормонов и с другими ростовыми факторами, в частности эпидермальным фактором роста (ЭФР).

Установлено, что в клетках РМЖ человека (Т-47Д, MCF-7, BT20) прогестины повышают связывание ЭФР за счет увеличения экспрессии рецепторов ЭФР на поверхности клеток. Действие прогестинов на рецепторы ЭФР в различных клетках РМЖ зависело от содержания в них РП [42]. Обнаружено большое сходство между ЭР и *erb A* белком онкогенного вируса птичьего эристорблостоа (ВПЭ). Геном ВПЭ содержит два гена – *v erb A* и *v erb B*. Первый из них экспрессируется как растворимый цитоплазматический белок с молекулярной массой 75000 и не является онкогенным. Возможно, его функция заключается в усилении онкогенного потенциала *v erb B*, который гомологичен рецептору эпидермального фактора роста. Высказано предположение, что ЭР могут также потенцировать онкоген в РМЖ человека и с этой точки зрения интересно было бы сравнить последовательности ЭР из клеток РМЖ линии MCF-7 и из незлокачественных тканей [43].

В плане поиска аналогий в поведении имплантирующегося зародыша и инфильтративного роста и метастазирования злокачественных клеток, по-видимому, наиболее интересно изучение механизмов эмбриональной индукции и регуляции эмбриональной дифференцировки, механизмов регуляции формообразования. В тканях взрослого организма происходят непрерывные формообразовательные процессы и имеют место процессы физиологической регенерации, которые могут быть нарушены различными агентами, в том числе канцерогенами различной природы. На примере партеногенеза в опытах с искусственной активацией развития яйца показано, что агенты весьма разной природы могут вызывать одно и то же явление, однако при нормальной реализации программы развития процессы формообразования четко регулируются. Поэтому можно считать, что все, что способствует нормальному формообразованию, должно противодействовать опухолевому росту, а нарушения в регуляции наоборот, благоприятствовать [44]. Данное положение хорошо иллюстрируют опыты с прививкой клеток высокозлокачественной тератокарциномы эмбрионам, в которых опухолевые клетки нормализуются и

участвуют в нормальном эмбриогенезе, нормальном формообразовании [45, 46]. Это значит, что судьба опухолевой клетки в значительной мере зависит от условий ее существования, взаимоотношении с окружающими клетками нормальных тканей, а на уровне целостного организма – от его гомеостаза. Удельный вес разнообразных нарушений гомеостаза на разных иерархических уровнях (от молекулярного до организменного) при развитии опухолей различной тканевой принадлежности, по-видимому, неоднозначен, хотя имеются и общие для многих видов опухолей изменения гомеостаза [14].

Выход опухолевых клеток из под влияния регуляторных воздействий во многом зависит от потери клеткой некоторых компонентов, воспринимающих регуляторные сигналы, либо от нарушения внутриклеточных механизмов взаимодействия между этими компонентами. Гормональная регуляция клеточной пролиферации при беременности и раке осуществляется через систему специфических белковых рецепторов, имеющих для разных типов гормонов на клеточной мембране, в цитоплазме или ядрах клеток. Рецепторы проходят процесс созревания, который обязательно включает взаимодействие с адекватным гормоном на соответствующей стадии развития. Рецепторы гормонов у многоклеточных организмов – генетически детерминированные структуры, экспрессия которых амплифицируется влиянием соответствующего гормонального окружения Csaba и соавт. [47] показали, что в фило- и онтогенезе в образовании рецепторов большое значение имеет первичный контакт клетки с гормоном и механизм импринтинга, который зависит от стадии развития клетки, концентрации гормона и продолжительности его взаимодействия с клеткой. Нарушение условий взаимодействия в эмбриональном периоде, например несоответствие времени появления гормона и стадии развития или взаимодействие с видоизмененной молекулой, может привести к латентной эндокринопатии, симптомы которой проявятся в перинатальном периоде. Известно, что имеются случаи гормонального импринтинга, когда при неонатальном введении крысам однократно диэтилстильбэстрола или аллилэстронола у взрослых животных соответственно на 50 и 75 % уменьшалось количество рецепторов эстрогенов в матке. Половая дифференцировка тоже может быть изменена на ранней стадии эмбриогенеза воздействием половых гормонов. Многие химические вещества с гормоноподобным действием или структурой могут патологически изменять или ингибировать неонатальный гормональный импринтинг. Начальный (первичный) контакт гормона с клеткой, с премордиальным рецептором определяет дальнейшую судьбу гормонсвязывающих мест и поведение клетки в ответ на гормональное окружение. Рецепторы гормонов подобно иммунным рецепторам являются частью системы распознавания «своего» и «чужого» и хранят память этих различий в течение жизни.

В соответствии с циклическими колебаниями концентрации эстрогенов и прогестерона в крови в течение овариального цикла изменяется количество рецепторов к этим гормонам в эндометрии и миометрии [48]. У крыс

концентрация ЭР в ядрах минимальна в течение эструса и метэструса, нарастает в диэструсе и достигает максимума в проэструсе. Эти изменения происходят параллельно изменению уровня секреции овариальных эстрогенов (рис. 17), максимум содержания ядерных ЭР соответствует максимально высокому уровню секреции эстрогенов в проэструсе. На 2–3-и сутки после спаривания концентрация ЭР значительно возрастает перед имплантацией. В день имплантации (4-е сутки) уровень ЭР падает до исходного (рис 18). По-видимому, повышение концентрации ЭР в ядрах имеет значение для децидуализации эндометрия и имплантации. Последующее снижение концентрации может быть результатом снижения уровня эстрогенов и (или) повышения уровня прогестерона [49]. В качестве модели для изучения изменений в эндометрии в процессе имплантации используют децидуальную реакцию при псевдобеременности [50]. Установлено, что в регуляции чувствительности матки к децидуализации большую роль играет прогестерон,

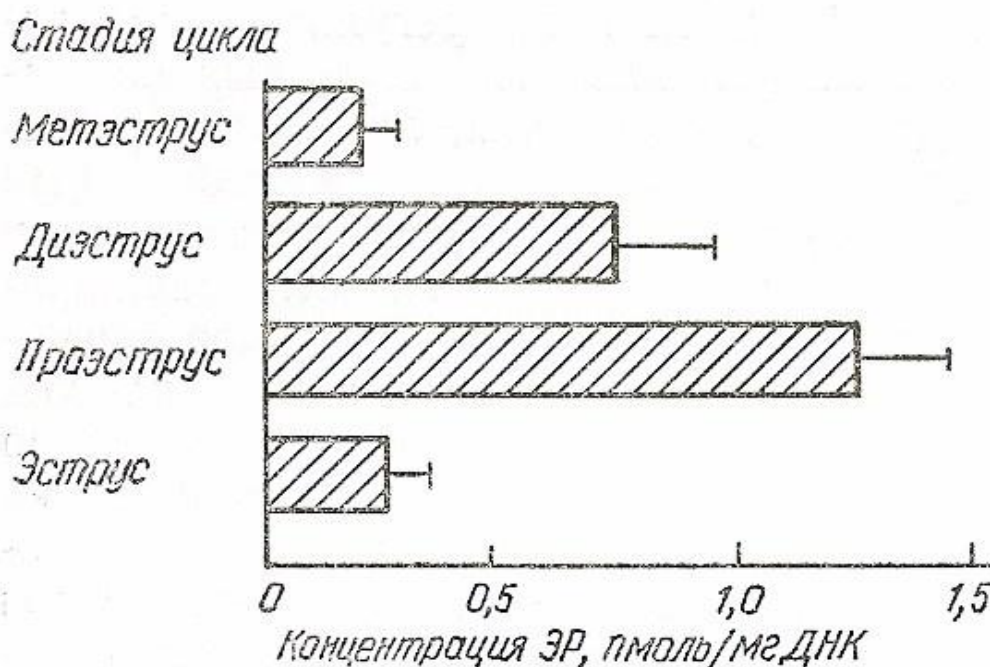


Рис. 17. Концентрация ЭР в ядрах клеток крысиной матки в течение астрального цикла.

а эстрогены могут модулировать его действие при изменении количественного соотношения гормонов. Максимальная пролиферация стромальных фибробластов в децидуализированной матке крыс соответствует продолжительному снижению уровня эстрогенов и повышению уровня прогестерона [51]. Введение больших доз эстрогенов приводит к уменьшению массы децидуальной ткани. Рецепторы эстрогенов в децидуализированной матке по физико-химическим характеристикам не отличаются от рецепторов в

небеременной матке циклирующих крыс. Уровень РЭ на 2–3-и сутки децидуализации такой же низкий, как в эструсе, на 5-е сутки уровень РЭ резко снижается и продолжает снижаться до 7-х суток. Концентрация РП в децидуализированной матке на 3-и и 5-е сутки такая же, как в матке в период эструса, а затем между 5-ми и 7-ми сутками снижается. Это снижение предшествует уменьшению содержания ЭР, но независимо в этот период от концентрации эстрогенов и прогестерона, сохраняющейся еще длительное время на постоянном уровне. Концентрация ЭР и ПР в матке остается низкой до родов.

В качестве рабочей гипотезы Leavitt и соавт. [48] предложена следующая схема: действие прогестерона в течение беременности хронически индуцирует рецептор-регулирующий фактор (РРФ), который инактивирует ядерный рецептор эстрогенов и, таким образом, блокирует действие эстрогенов. РРФ имеет короткую полужизнь и зависит от продолжительной стимуляции прогестероном: снижение секреции прогестерона или преднамеренное удаление его из циркуляции приводит к быстрому уменьшению количества РРФ и восстановлению ядерных ЭР. Перед родами, когда происходит резкое падение концентрации прогестерона, возможно, таким путем восстанавливается действие эстрогенов и повышается уровень ЭР в матке, восстанавливаются ее электрическая активность и чувствительность к стимуляции окситоцином. К концу беременности и псевдобеременности в матке уровень обоих рецепторов повышается пропорционально увеличению соотношения концентрации в плазме эстрадиола и прогестерона [52].

Существенное мнение, что бластоциста принимает активное участие в процессе имплантации, воздействуя на эндометрий в месте имплантации. Помимо других изменений, в месте соприкосновения бластоцисты с эндометрием значительно повышается концентрация РЭ и РП в ядрах. Овариэктомиа беременных крыс не изменяет распределение РЭ и РП в эндометрии. Не исключено, что бластоциста выделяет неизвестный фактор, который изменяет транслокацию рецептора из цитоплазмы в ядро [53].

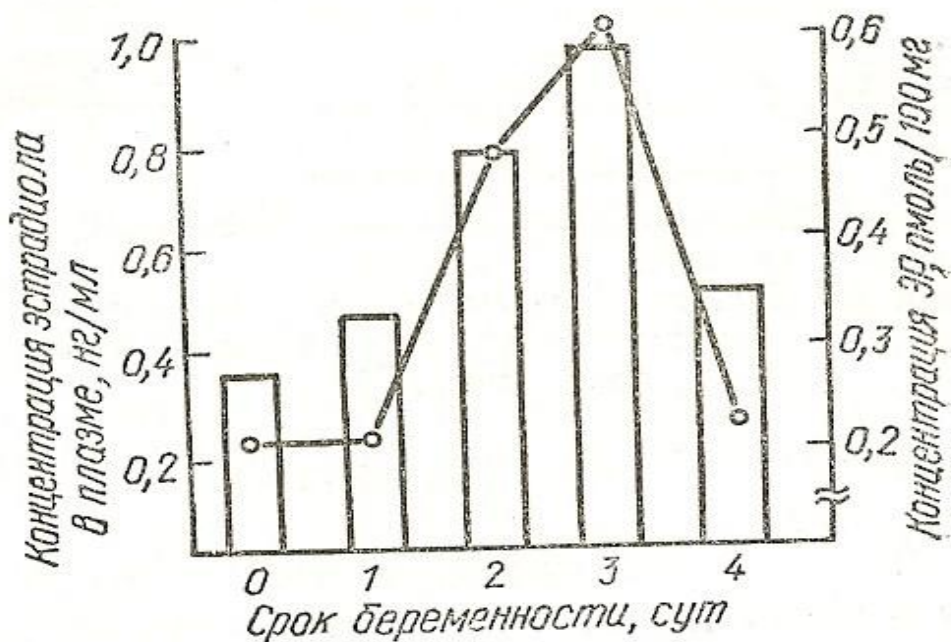


Рис. 18. Концентрация ЭР в ядрах клеток матки в течение ранней беременности и эстрогенов крови.

В течение беременности под влиянием происходящих в гормональном статусе женщины изменений происходят существенные изменения и в очень важном для репродукции органе – молочной железе, в которой активизируется рост и долько-альвеолярное развитие. В этот период плацентарный лактоген, кортизол, прогестерон и инсулин являются основными гормонами, регулирующими рост и дифференцировку молочной железы [54]. У беременных животных подавление секреции гипофизарного пролактина введением бромкриптина не сказывалось на нормальном развитии молочных желез. В исследованиях *in vitro* было показано, что потенции плацентарного лактогена по сравнению с гипофизарным пролактином в индукции лактогенеза несколько ниже (~10%), что проявлялось в более слабой индукции накопления мессенджер-РНК-казеина [55] и синтеза α -лактальбумина [56]. В опытах *in vitro* введение бромкриптина в течение беременности также незначительно отразилось на развитии молочных желез и последующей лактации [54]. После родов в регуляции лактогенеза основное место занимает гипофизарный пролактин. В регуляции гормонозависимой дифференцировки эпителия молочной железы важна последовательность действия регулирующих гормонов, которая определяет соответствующую фазовость жизненного цикла клеток. На примере эпителия молочной железы мышей (рис. 19) [57] было показано, что инсулин вовлекается в стимуляцию пролиферации клеток и необходим в G_1 -фазе после митоза, а также в S-фазе для инициации ДНК-синтеза. Гидрокортизон действует в течение пролиферативного периода

клеточного цикла эпителия молочной железы. Если клеточная пролиферация происходила в отсутствие гидрокортизона в среде, то новые клетки были неспособны к последующей дифференцировке в ответ на добавление инсулина, гидрокортизона и пролактина. Прولاктин может вызвать дифференцировку после митоза. Гидрокортизон повышает способность клеток молочной железы связывать пролактин и регулирует реактивность молочной железы к этому гормону, увеличивая число пролактиновых рецепторов в эпителии железы. В отсутствие глюкокортикоидов снижение концентрации прогестерона после овариэктомии не вызывает увеличения количества рецепторов пролактина и функциональной активации молочной железы [58].



Рис. 19. Действие гормонов в соответствии с клеточным циклом эпителия молочной железы (по [57])

В поддержании функции молочной железы исключительно важную роль играет инсулин, регулируя синтез липидов, лактозы, казеина. Количество рецепторов инсулина на эпителии молочной железы значительно увеличивается к концу беременности и особенно в период лактации. По видимому, связывание инсулина с рецепторами клеток молочной железы в большей степени регулируется прогестероном, чем пролактином, так как после овариэктомии беременных крыс снижение концентрации прогестерона в сыворотке крови вызывает увеличение числа рецепторов инсулина и молочных желез, в то время как введение бромкриптина не влияет на количество рецепторов инсулина. Частично этот эффект овариэктомии можно объяснить изменением концентрации инсулина после удаления яичников, но возможно и прямое влияние прогестерона на связывающую способность рецепторов инсулина [59, 60]. Таким образом, высокий уровень прогестерона в течение беременности играет важную роль в ограничении гормоночувствительности ткани молочной железы к гормонам лактогенеза – инсулину и пролактину, а снижение концентрации прогестерона перед родами и после них способствует лактогенезу.

В лактирующей молочной железе отмечено изменение чувствительности ткани к действию эстрогенов. Если молочная железа девственных мышей реагирует на введение эстрадиола увеличением числа рецепторов прогестерона,

повышением активности пероксидазы, усилением окисления глюкозы и синтеза ДНК, то лактирующая молочная железа не реагирует на эстрадиол по этим критериям. При этом физико-химические характеристики рецепторов эстрадиола в лактирующей молочной железе не изменяются, в градиенте плотности сахарозы в присутствии молибдата натрия они седиментируют как 9S-формы рецепторов, не обнаружено также различий в процессе активации гормонрецепторного комплекса у девственных мышей и лактирующих [61]. При этом количество рецепторов эстрадиола в лактирующей молочной железе в 2–3 раза выше, чем в нелактирующей [62]. По-видимому, нечувствительность лактирующей железы к эстрогенам обусловлена какими-то другими факторами, а не количеством связывающих мест и их молекулярной формой. В лактирующей молочной железе по сравнению с нелактирующей ниже уровень эндогенных протеаз, таких, как плазминогенактиватор, активность которого снижает пролактин, в результате чего рецепторы меньше подвергаются деградации [62]. Отсутствие реакции на эстрадиол в лактирующей молочной железе является тканевой специфичностью, так как в матке лактирующих самок реакция на эстрадиол в виде синтеза рецепторов прогестерона сохраняется. В молочной железе рецепторы эстрадиола имеются не только в эпителиальных клетках, но и в жировой ткани и соединительнотканых элементах. Возможно, частично реакция на эстрогены в молочной железе зависит и от межклеточных взаимодействий [63, 64].

При раке молочной железы некоторые гормоны, участвующие в регуляции ее роста и развития, а также рецепторы гормонов в ткани опухолей служат маркерами гормоночувствительности новообразований, критериями прогноза течения заболевания и выбора метода лечения. Показано, что активность некоторых ферментов, принимающих участие в метаболизме стероидов, таких, как ароматаза, 17 β -дегидрогеназа, монооксигеназа, 5 α -редуктаза, значительно изменяется в опухолях молочной железы, и эти изменения коррелируют с наличием рецепторов эстрадиола. В рецептор положительных опухолях процесс превращения эстрадиола в эстрон, в котором участвует 17 β -дегидрогеназа, выражен значительно слабее, чем в рецепторотрицательных опухолях [65].

Известно, что эстрогены могут вырабатываться непосредственно в ткани злокачественных опухолей, около 60 % карцином молочной железы синтезируют эстрогены *in vitro*, причем биосинтез в опухоли интенсивнее, чем в других тканях [66, 67]. Эстрон в опухоли синтезируется из андростендиона посредством конверсии ароматазой или из сульфата эстрона посредством конверсии сульфатазой. Основное значение в превращении андрогенов в ткани рака молочной железы имеет ароматаза. Установлено, что чувствительность этого фермента к ингибиторам отличается в карциномах молочной железы и в плаценте, что может иметь значение для скрининга ингибиторов, предназначенных для лечения рака молочной железы. Активность ароматазы и биосинтез эстрогенов наиболее выражены в ткани опухоли и в окружающей ее

ткани молочной железы и значительно превышают эти показатели в доброкачественных опухолях молочной железы и неопухолевых тканях. По-видимому, локальный синтез эстрогенов в опухолях молочной железы имеет значение в их развитии. Ароматазная активность в опухоли хорошо коррелирует с ее рецепторным статусом. Большинство (68 %) ЭР⁺-опухолей молочной железы синтезируют эстрадиол, а большинство (62%) ЭР⁻-опухолей не способны к синтезу эстрогена. Средний уровень рецепторов эстрадиола значительно выше в опухолях с выраженной ароматизацией стероидов, чем в опухолях, не синтезирующих эстрадиол. Роль ароматазной активности и локального синтеза эстрогенов в поддержании роста опухолей подтверждается лечебным эффектом ингибитора ароматазы аминоглутетимида, причем лечебный эффект положительно коррелирует с наличием ароматазной активности в опухоли [66, 67].

Среди опухолевых маркеров, ассоциированные с беременностью и лактацией, экспрессия которых находится под гормональным контролем, в последнее время большое внимание уделяется белкам молока: казеину и α -лактальбумину, белку мембран жировых глобул молока, некоторым цитоплазматическим и секретируемым белкам раковых опухолей молочной железы, напоминающим индуцируемые эстрогеном белки в эндометрии. Эти белки могут, с одной стороны, служить дополнительными маркерами гормоночувствительности опухолей, а с другой – маркером экспрессии регулируемых гормонами генов.

В физиологических условиях экзокринная секреция в клетках молочной железы наблюдается в период лактации, а способность к синтезу казеина в эпителии молочной железы начинает проявляться со второй половины беременности. Регуляция экспрессии мРНК казеина и α -лактальбумина изучена в экспериментах *in vivo* и *in vitro* с использованием эксплантатов молочной железы. Установлено, что у кроликов, крыс, мышей и морских свинок лактогенные гормоны (пролактин, плацентарный гормон, гормон роста приматов) регулируют экспрессию генов казеина и α -лактальбумина – белков вовлеченных в синтез лактозы [68–70]. В органной культуре молочной железы крысы пролактин проявляет плеiotропное действие, усиливая транскрипцию казеина и увеличивая время полужизни вновь синтезированных мРНК молекул [62]. Прогестерон ингибирует оба эти процесса, а глюкокортикоиды потенцируют действие лактогенных гормонов [71, 72]. Показано, что экспрессия генов казеина и α -лактальбумина зависит от дозы пролактина и оптимальная стимуляция наблюдается при концентрации гормона ($5 \cdot 10^{-10}$) – ($5 \cdot 10^{-9}$) моль/л [73]. При высоких концентрациях пролактина синтез и секреции казеина и α -лактальбумина резко снижается, т. е, по-видимому, существует регуляция на клеточном уровне, за счет которой быстро изменяется способность рецепторов пролактина к связыванию с гормоном и уменьшается экспрессия гена белка молока [74]. В регуляции экспрессии гена казеина большую роль также играют глюкокортикоиды которые пермиссируют

стимулирующее действие пролактина. Было показано, что ингибирование связывания глюкокортикоидов с рецепторами цитозоля молочной железы, вызванное конкуренции с прогестероном за одни и те же места связывания, вызывает уменьшение накопления мРНК казеина в эксплантатах молочной железы при наличии в культуральной среде пролактина и инсулина. Это свидетельствует о том, что действие глюкокортикоидов на гены казеина опосредовано через связывание с рецепторами. В опытах *in vitro* с ингибированием ядерного связывания глюкокортикоид-рецепторного комплекса с помощью пиридоксаль-5'-фосфата также уменьшалось накопление мРНК казеина в молочной железе, действие ингибитора было обратимым, при удалении его из среды накопление мРНК казеина в железе увеличивалось. Таким образом, в экспрессию гена казеина вовлечено взаимодействие глюкокортикоидов с ядром [75]. Результаты изучения многофакторной гормональной регуляции экспрессии генов казеина свидетельствуют о том, что она осуществляется на уровне транскрипции [76].

В некоторых клетках злокачественных опухолей появляется способность к синтезу и секреции казеина и его можно обнаружить в сыворотке крови больных РМЖ, раком желудка и кишечника, раком легкого, т.е. в некоторых случаях может наблюдаться эктопическая секреция белка. Существует корреляция между количеством казеина и прогрессией роста опухолей, массой опухоли и наличием метастазов, в связи с чем этот маркер может быть использован для мониторинга качества течения заболевания и эффективность лечения [77].

При некоторых злокачественных новообразованиях в тканях опухолей и сыворотке крови больных обнаруживается еще один антиген, ассоциированный с лактацией – антиген жировых глобул молока человека (ЖГМЧ), присущий в физиологических условиях плазматической мембране секреторных эпителиальных клеток молочной железы. Антиген ЖГМЧ представляет собой молекулу гликопротеина, богатую галактозой и N-ацетилгалактозамином, в состав его входит сиаловая кислота. Биологическая роль этих антигенов остается пока неясной. Получено несколько моноклональных антител к антигенам ЖГМЧ, которые реагируют с эпителиальными клетками злокачественных опухолей молочной железы, яичников, матки, кишечника и с антигенами в сыворотке крови этих больных. У больных раком молочной железы повышенное количество антигена ЖГМЧ в сыворотке крови обнаружено в 35 % случаев, у больных раком яичника – в 50%, в то время как у больных злокачественными опухолями других локализаций и у больных с воспалительными процессами этот антиген в сыворотке крови выявлен лишь в 3 % случаев. Установлена сильная положительная корреляция между наличием метастазов и уровнем антигена ЖГМЧ в сыворотке крови. При двух и более метастазах повышенный уровень ЖГМЧ у больных раком молочной железы обнаружен в 35 % случаев, при одном метастазе – у 22 % больных, а в состоянии ремиссии без признаков прогрессии заболевания только в 6,2 %

случаев [77]. Наличие антигена ЖГМЧ в ткани опухолей положительно коррелирует также со степенью их дифференцировки и рецепторным статусом, причем корреляция более выражена при наличии ЭР или одновременном присутствии ЭР и ПР, чем при наличии только ПР. Высказано предположение, что экспрессия этих антигенов связана с активацией ЭР и увеличивает экспрессию галактозилтрансферазы – фермента, ответственного за специфическое гликозилирование в комплексе Гольджи клетки. Это подтверждается тем, что экзогенный эстрадиол стимулирует активность галактозилтрансферазы в ЭР-положительных карциномах молочной железы у крыс [78, 79], а также данными об изменении гликозилтрансферазной активности при злокачественной трансформации [80].

Иммунореактивный материал ЖГМЧ в нормальной молочной железе связан с плазматической мембраной железистых или протоковых клеток, а также с секреторным материалом в протоках и просветах ацинусов. В злокачественных опухолях молочной железы этот иммунореактивный материал обнаруживается в цитоплазме. Интересно отметить, что антигены не разрушаются при фиксации в формалине и заключении срезов в парафин и могут быть определены в парафиновых срезах опухолей в качестве дополнительного диагностического и прогностического критерия [78].

Прогностическая значимость обнаружения антигена ЖГМЧ явственно проявляется при анализе в связи с выживаемостью больных раком молочной железы. Десятилетняя выживаемость больных с опухолями, экспрессирующими антиген ЖГМЧ, наблюдалась в 67,5 % случаев по сравнению с 35 % у больных с негативными по этому показателю опухолями [78]. Изучение опухоли-ассоциированного маркера ЖГМЧ в онкологических клиниках различных стран с помощью моноклональных антител показало, что этот маркер является ценным для диагностики рака молочной железы и рака яичника, для мониторинга за эффективностью лечения и течения заболевания, для раннего обнаружения рецидива заболевания [81, 82, 83].

При раке молочной железы в повышенных количествах обнаружен еще один гликопротеин, ассоциированный с беременностью и принимающий участие в регуляции активности половых стероидов – фетальный стероидсвязывающий протеин (ФССП) [84]. Этот гликопротеин, обнаруженный в ткани печени плода, обладает способностью специфически связывать большинство стероидных половых гормонов, но отличается от секс-стероидсвязывающего глобулина (тестостерон-эстрадиолсвязывающего глобулина) физико-химическими и иммунологическими особенностями и, по-видимому, не является ни предшественником, ни продуктом метаболизма секс-глобулина. Его роль *in vivo*, возможно, заключается во влиянии на степень связывания половых стероидов с альбумином. В исследованиях *in vitro* показано, что ФССП способен конкурировать с альбумином и секс-глобулином за связывание со стероидами. При наличии в среде всех трех белков повышение концентрации ФССП приводит к значительному увеличению связывания

половых стероидов с альбумином при незначительном усилении связывания с ФССП. Этот гликопротеин обнаружен в препаратах цитозоля из ткани нормальной молочной железы в концентрации 47 фмоль/мг белка и из опухоли молочной железы в несколько большем количестве – 67 фмоль/мг белка. Повышенное количество ФССП выявлена при метастазах рака молочной железы в печень и раке печени, что может быть результатом разрушения гепатоцитов. Увеличение количества этого белка при раке молочной железы без метастазов в печень пока необъяснимо. Обнаружено, что у здоровых женщин с низким риском заболевания раком молочной железы уровень ФССП в крови высок. ФССП является одним из компонентов системы регуляции уровня активных половых стероидов в циркуляции, способных взаимодействовать с клетками мишенями. Возможно, при раке молочной железы повышение концентрации этого белка является защитной реакцией на рост опухоли, частично снижающей сродство эстрогенов к опухоли [84].

Из опухолевых маркеров, ассоциированных с беременностью, клиническое применение при некоторых опухолях органов репродуктивной системы нашел муциноподобный опухолеассоциированный антиген (МСА). Этот антиген также представляет собой гликопротеин, содержащий сиаловую кислоту, фукозу, галактозу и галактозамин. Моноклональные антитела к МСА b-12 позволяют выявлять этот белок в тканях и крови здоровых и больных людей. В повышенном количестве МСА обнаруживается в крови при беременности и у кормящих матерей, в амниотической жидкости, а у больных – при раке молочной железы, шейки матки, яичника и простаты. В ткани карциномы молочной железы уровень МСА значительно выше, чем в ткани нормальной молочной железы, а в сыворотке крови больных количество МСА положительно коррелирует с поражением лимфоузлов, однако не обнаружено корреляции между концентрацией МСА в цитозоле опухолей молочной железы и сыворотке крови. Концентрация МСА в сыворотке была значительно ниже, чем в цитозоле карцином и нормальной ткани молочной железы, однако менялось соотношение концентраций для нормальной ткани молочной железы 72 : 1, для карциномы 175 : 1. При метастазировании рака молочной железы уровень МСА и частота его обнаружения были значительно выше. Использование МСА в качестве прогностического критерия дало 74 % совпадающих с прогнозом результатов [85].

Метод идентификации белков с помощью моноклональных антител значительно расширил возможности изучения механизмов гормональной регуляции в клетках нормальных и трансформированных тканей. Некоторые регулируемые гормонами белки экспрессируются преимущественно в клетках злокачественных опухолей, связаны с реакцией клетки на гормональные воздействия, с интенсивностью пролиферативных процессов в ткани или способностью злокачественных клеток к метастазированию, в связи с чем используются в клинике как дополнительные маркеры гормоночувствительности опухолей, диагностические и прогностические

критерии. Наиболее подробно изучено и продолжает изучаться влияние эстрогенов на пролиферативные и биосинтетические процессы в клетках органов-мишеней.

Впервые индуцированный эстрогеном белок (IP-белок) был описан Notides и Gorski [86] в матке крыс. Роль этих белков в механизме действия эстрогенов пока не совсем понятна. Установлено, что белок имеет молекулярную массу 48 кД и основным компонентом его является ВВ-изозим креатинкиназы [87].

В эпителии рака молочной железы эстрадиол вызывает многочисленные эффекты, стимулирует пролиферацию, включение тимидина, активность плазминогенактиватора, синтез рецепторов прогестерона и еще по крайней мере 9 белков [88]. При изучении спектра индуцированных эстрогенами белков в клетках линии MCF-7 рака молочной железы человека в цитозоле обнаружены две основные фракции с молекулярной массой 46 и 52 кД и две небольшие фракции с молекулярной массой 54 и 60 кД. В отличие от IP-белка матки эти белки оказались более кислыми и не проявляли активности креатинкиназы. Синтез этих белков в ответ на стимуляцию эстрадиолом вызван в клетках MCF-7, содержащих рецепторы эстрогенов, и не индуцировался в клетках Evsa-T, лишенных рецепторов. Под влиянием эстрадиола увеличивалась также секреция некоторых белков (37, 46, 54 и 60 кД) в клетках MCF-7 [89].

В цитозоле клеток MCF-7 обнаружен также белок с молекулярной массой 24 кД, синтез которого регулируется эстрогенами: при добавлении эстрадиола в среду максимум синтеза белка наблюдался на 4–6-е сутки при оптимальной концентрации гормона в среде 10 нмоль/л, причем усиление синтеза белка 24 кД соответствовало процессингу ядерных рецепторов эстрадиола [90]. Получены моноклональные антитела к белку 24 кД, с помощью которых иммуногистохимическим методом было показано селективное накопление регулируемого эстрогеном белка в цитоплазме клеток рака молочной железы, содержащих ЭР и ПР. Белок не экспрессируется в нормальной и лактирующей молочной железе, в рецепторотрицательных клетках рака молочной железы и в опухолях из «гормоннезависимых» тканей. Вместе с тем белок 24 кД экспрессируется в нормальной эндометрии в соответствии с модуляцией гормонов в течение менструального цикла и, по-видимому, выполняет какие-то функции в нормальном процессе репродукции. Положительная корреляция экспрессии белка 24 кД с содержанием ЭР и ПР позволяет использовать определение этого белка в ткани опухолей молочной железы для изучения их гормоночувствительности [91].

Помимо внутриклеточных белков, эстрогены индуцируют и несколько секретлируемых белков с различной молекулярной массой – 163, 52 и 46 кД. В 1979 г Rochefort и соавт. [92] начали изучать белок 52 кД, который синтезируется и секретруется клетками рака молочной железы. Синтез белка стимулируется эстрогенами и его секреция обнаружена в

гормоночувствительных линиях клеток РМЖ человека и в первичных культурах из плевральных экссудатов больных раком молочной железы. Показано, что белок 52 кД представляет собой гликопротеин, предшественник лизосомальной протеазы с молекулярной массой 34 кД. У этого белка определены две биологические активности – митогенная для клеток MCF-7 и протеолитическая для различных субстратов, включая протеогликаны и базальные мембраны, что может способствовать инвазии и миграции раковых клеток. Отчасти это подтверждается корреляцией между высокими концентрациями белка 52 кД у больных РМЖ и поражением подмышечных лимфоузлов, а также плохим прогнозом заболевания [93]. Авторы считают, что белок идентичен по свойствам и молекулярной массе катепсину Д. Концентрация белка повышена в некоторых опухолях молочной железы, он обнаруживается в тканях печени, потовых и сальных желез, меланом; яичники, плацента, эндометрий, опухоли эндометрия и нормальная молочная железа не содержат белок. В доброкачественных опухолях молочной железы белок обнаруживается только при пролиферативных формах заболевания, т. е., по-видимому, может быть маркером клеточной пролиферации. Очищенный белок 52 кД при добавлении в культуральную среду может стимулировать рост клеток MCF-7 [94]. Полученные данные свидетельствуют, что эстрогены могут стимулировать рост клеток рака молочной железы непрямым путем через некоторые ферменты, как фермент 52 кД который может действовать как аутокринный митоген.

6.1. Заключение

Представленные в данном разделе факты о некотором сходстве и различиях в гормональном статусе, гормоночувствительности тканей и механизме действия гормонов при беременности и раке, конечно, не исчерпывают всей суммы имеющихся в настоящее время данных в этой области, однако дают представление о сложности многофакторной регуляции процессов пролиферации и дифференцировки в норме и при злокачественном росте. Многоступенчатый иерархический характер и многофакторность регуляции гомеостатических процессов предполагают большое количество вариантов нарушений гомеостаза, которые трудно оценить и трудно смоделировать. На примере изучения роли гормонов в канцерогенезе можно видеть, что, несмотря на огромное количество исследований гормонально-метаболических нарушений при раке, нелегко составить представление о последовательности событий, ведущих к злокачественной трансформации, об удельном весе отдельных событий на различных этапах канцерогенеза. В течение многих лет шли поиски исключительной роли какого-либо одного гормона в канцерогенезе, например эстрогена или пролактина. В некоторых экспериментальных исследованиях было подтверждено, что в отдельных случаях воздействие высоких доз гормонов может способствовать

канцерогенезу, а удаление гормонов – препятствовать ему. Вместе с тем при изучении гормонального статуса у больных раком или у пациентов с повышенным риском заболевания раком в большинстве случаев не обнаружено резких отличий в уровне гормонов, скорее выявлялись изменения в соотношении гормонов, изменения биологических ритмов их выделения.

Анализ данных о роли гормонов в эмбриогенезе, в процессе репродукции, в митотическом цикле свидетельствует о важности дозы гормона, определенной последовательности воздействия различных гормонов и соответствия этого воздействия стадии развития клетки, органа, организма. На определенной стадии эмбриогенеза вмешательство в гормональную регуляцию может привести к изменению половой дифференцировки, ранняя первая беременность способствует снижению риска заболевания раком молочной железы.

Протекторное влияние ранней первой беременности у женщин на молочную железу и беременности у животных на индуцированный канцерогенез, возможно, связано с воздействием гормонов беременности на молочную железу в той стадии развития вскоре после полового созревания, когда максимальное количество клеток молочной железы может быть переведено в необратимую стадию дифференцировки, причем для этого нужны очень высокие дозы гормонов и комплекс гормонов, присущий беременности. При наступлении беременности через значительный промежуток времени после полового созревания в молочной железе накапливается пул дремлющих клеток, не подвергающихся дифференцировке даже при соответствующем изменении гормонального статуса и способных к злокачественной трансформации под влиянием канцерогенных факторов.

В настоящее время такие опухолевые маркеры, как гормоны, гормональные рецепторы, регулируемые гормонами белки, используются в качестве прогностических факторов и для мониторинга эффективности лечения. Имеются предпосылки для надежды на то, что в будущем моноклональные антитела к некоторым субстанциям злокачественных клеток могут быть использованы в качестве проводников лекарственных средств. Попытки лечения РМЖ мечеными моноклональными антителами уже предприняты, правда, сроки наблюдения за этими больными пока непродолжительны [95].

Сравнительный аспект изучения биологической роли опухолевых маркеров в регуляторных механизмах процессов пролиферации и дифференцировки, в частности, в индукции и ингибировании этих процессов в эмбриогенезе и в канцерогенезе, возможно, поможет определить, на что и чем необходимо воздействовать для лечения опухолей. В этом плане перспективно изучение регуляторных субстанций, участвующих во взаимодействии между клетками, происшедшими из различных зародышевых листков, стромой и эпителием в опухолях и зародышевых тканях. Имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о возможности реверсии опухолевого фенотипа

под влиянием индукторов дифференцировки, например при совместном культивировании опухолевой ткани с индуктивноактивными эмбриональными тканями или трансформированного эпителия с нормальной стромой [96].

Важным фактором во взаимодействии различных регуляторов клеточного лечения и дифференцировки является временная координация регулирующих импульсов и их соответствие стадии развития клетки. Исследования в этой области фрагментарны, их результаты не дают представления о системных пространственно-временных взаимоотношениях регулирующих и реагирующих субстанций, в частности, таких, как гормоны и клеточные белки, гормоны и системы аутокринной регуляции клеточного деления. По-видимому, для достижения больших успехов в понимании взаимоотношений в многофакторных системах и в межсистемных взаимодействиях необходимо привлечение математики, построение математических моделей, которые позволили бы проверять влияние изменений определенных параметров на протекание процессов пролиферации и дифференцировки в норме и патологии.

6.2. Список литературы

1. *Foulds L.* Neoplastic development. – London; New York: Acad. prehs, 1969. – Vol. 1. – 439 p.
2. *Злокачественные опухоли и беременность.* – Л., 1981. – 176 с.
3. *Винницкий В. Б.* О природе толерантности организма к опухоли // Эксперим. онкология. – 1981. – 3, № 2. – С. 3 – 12.
4. *Остин К., Шорт Р.* Гормональная регуляция размножения млекопитающих. – М.: Мир, 1987. – 305 с.
5. *Klopper A., Fuchs F.* Progestogens // *Endocrinology of pregnancy.* – New York, 1977. – P. 92 – 122.
6. *Vaitukaitis Y. L.* Human chorionic gonadotropin // *Endocrinology of pregnancy.* – New York, 1977. – P. 63 – 75.
7. *Баграхин Э. Р.* О гормональной регуляции гестадионного процесса // *Акушерство и гинекология.* – 1984. – № 4. С. 8 – 11.
8. *Saxena V. B.* Human prolactin // *Endocrinology of pregnancy.* – New York, 1977. – P. 222 – 245.
9. *Герасимович Г. И., Михнюк Д. М., Дуда И. В.* Эстриол и его значение в репродуктивной функции // *Акушерство и гинекология.* – 1984. – № 3. – С. 3 – 6.
10. *Beling C.* Estrogens // *Endocrinology of pregnancy.* – New York, 1977. – P. 76 – 96.
11. *Gandy H. M.* Androgens // *Ibid.* – P. 123 – 156.
12. *Роль гормонов репродуктивной системы в обеспечении генеративной функции.* – М.: ВНИЦентр, 1985. – 96 с.
13. *Дильман В. М.* Механизм взаимоотношений между беременностью и

опухолевым процессом // Злокачественные опухоли и беременность. – Л., 1981. – С. 36 – 40.

14. *Дильман В. М.* Эндокринологическая онкология. – М.: Медицина, 1983. – 408 с.

15. *Mac Mahon B., Cole P., Brown J.* Etiology of human breast cancer // J. Nat. Cancer Inst. – 1973. – **50**, N 1. – P. 21 – 42.

16. *Estrogen profiles of premenopausal women with breast cancer / P. Cole, D. Cramer, S. Yen et al.* // Cancer Res. – 1978. – **38**, N 7. – P. 745 – 748.

17. *Influence of pregnancy and lactation on serum and breast fluid estrogen levels: implications for breast cancer risk / N. L. Petrakis, M. R. Wrensch, V. L. Ernster et al.* // Int. J. Cancer – 1987. – **40**, N 5. – P. 587 – 591.

18. *Parity and age influence hormonal risk factors of breast cancer / P. F. Bruning, J. M. G. Bonfrer, A. A. M. Hart et al.* // Hormones and Cancer: Proc. 2nd Int. Congr., Monte Carlo, Sept, 1983. – New York, 1984. – Vol. **2**. – P. 335 – 342.

19. *Dao T. L., Bock F. G., Greiner M. J.* Mammary carcinogenesis by 3-methyl-cholanthrene. 2. Inhibitory effect of pregnancy and lactation on tumor induction // J. Nat. Cancer Inst. – 1960. – **25**, N 5. – P. S91 – 1002.

20. *Dao T. L., Pazik J.* Early pregnancy protects against mammary gland carcinogenesis // Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. – 1981. – **22**. – 96 (abstr).

21. *Sinha D. K., Pazik E.* Tumorigenesis of mammary gland by 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene during pregnancy with DNA synthesis // Int. J. Cancer – 1981. – **27**, N6. – P. 607 – 810.

22. *Vonderhaar B., Topper Y.* A role of the cell cycle in hormone dependent differentiation // J. Cell. Biol. – 1974. – **63**, N6. – P. 707 – 712.

23., *Sinha D. K.; Pazik J. E., Dao T. L.* Prevention of mammary carcinogenesis in rats by pregnancy: effect of full-term and interrupted pregnancy // Brit/ J. Cancer. – 1988. – **57**. N 4. – P. 390 – 394.

24. *Huggins C., Grand L. C., Brillantes F. P.* Critical significance of breast structure in the induction of mammary cancer in the rat // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1959. – **45**. – P. 1294 – 1300.

25. *N-nitroso-N-methylurea-induced mammary carcinogenesis effect of pregnancy on preneoplastic cells // C. J. Grubbs, D. L. Hill, K. C. McDonough, J. C. Peckham* // J. Nat. Cancer Inst. – 1983. – **71**, N3. – P. 825 – 628.

26. *Moon R. C.* Relationship between previous reproductive history and chemically induced mammary cancer in rats // Int. J. Cancer. – 1969. – **4**, N 3. – P. 321 – 317.

27. *Heston W. E.* Mammary tumors in agent-free mice // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1958. – **71**. – P. 931 – 942.

28. *Nandi S.* Effect of the mammary tumor agent (MTA) and of multiple pregnancies on the responsiveness of C₃H mammary tissue to somatotropin containing hormonal combinations // Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. – 1961, – **3**, N 3. – P 254.

29. *Comparative studies on estrogen receptor between a pregnancy – dependent*

mouse mammary tumor (TPDMT-4) and related autonomous tumours / A. T. Matsuzawa, S. Haya Kawa, S. Takitany T. Iwaguchi // *Endocrinology*. – 1987. – **120**, N 6. – P. 2346 – 2356.

30. *Prolactin* regulation of estrogen and progesterone receptors in normal and neoplastic mouse mammary tissue / Y. Koseki, D. Cole, A. Matsuzawa, M. E. Costlow // *GANN*. – 1987. – **78**, N10. – P. 1105 – 1111.

31. *Progestin* action and progesterone receptor structure in human breast cancer / K. B. Horwitz, L. L. Wei, S. M. Sedlacek, C. N. D'Arville // *Rec. Progr. Horm. Res.* – 1985. – **41**. – P. 249 – 316.

32. *Acceptor* sites on chromatin for receptor bound by estrogen versus antiestrogen in antiestrogen-sensitive and resistant MCF-7 cells / R. K. Singh, M. F. Ruh, W. H. Butler, T. S. Ruh // *Endocrinology*. – 1986. – **118**, N3. – P. 1087 – 1095.

33. *Reiner G. C. A., Katzenellenbogen. B. S.* Characterization of estrogen and progesterone receptors and the dissociated regulation on growth and progesterone receptor stimulation by estrogen in MDA-MB-134 human breast cancer cells // *Cancer Res.* – 1986. – **46**, N 3. – P. 1124 – 1131.

34. *Induction* of progesterone receptor in an estrogen progesterone receptor-negative breast cancer line / N. Devleeschouwer, N. Oleo-Serrano, D. Leclercq, N. Legros, J. C. Heuson // *J. Steroid Biochem.* – 1986. – **24**, N 1. – P. 365 – 368.

35. *Kiang D. T., Handschin B., Zhand H.-J.* Nuclear estrogen receptor and nonhistone chromosomal proteins in hormonal independency of murine breast cancers // *Cancer Res.* – 1984. – **44**, N 9. – P. 4118 – 1123.

36. *Promoter* elements of genes coding for proteins and modulation of transcription by estrogens and progesterone / P. Chambon, A. Dierich, M.-P. Gaub et al. // *Rec. Progr. Horm. Res.* – 1984. – **40**. – P. 1 – 42.

37. *Ciocca D. R., Adams D. J., Edwards D. P., Bjercke R. D.* Distribution of an estrogen induced protein with a molecular weight of 24.000 in normal and malignant human tissues and cells // *Cancer Res.* – 1983. – **43**. – P. 1204 – 1210.

38. *Adams D. J., McGiire W. L.* Quantitative enzyme linked immunosorbent assay for the estrogen regulated Mr 24 000 protein in human breast tumors: Correlation with estrogen and progesterone receptors // *Cancer Res.* – 1985. – **45**, N 6. – P. 2445–2449.

39. *Thorsen T.* Association of plasminogen activator activity and steroid receptors in human cancer // *Eur. J. Cancer and Clin. Oncol.* – 1982. – **18**, N 2. – P. 129 – 132.

40. *Chen Y. M., Vaughn C. B.* Studies on the endogenous activation and inhibition of hormone receptor reaction // *Anticancer Res.* – 1984. – **4**, N 4/5. – P. 273 – 278.

41. *Evidence* that transforming growth factor- β is a hormonally regulated negative growth factor in human breast cancer line / C. Knabbe, M. E. Lippman, L. M. Wakefield et al. // *Cell*. – 1987. – **48**, N3. – P. 417 – 428.

42. *Progestin* regulation of epidermal growth factor receptor in human mammary carcinoma cells // L. J. Murphy, R. L. Sutherland, A. Bronwgn et al. //

Cancer Res. – 1986. – **46**, N2. – P. 728 – 734/

43. *Human* oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to *v-erb-A* / S. Green, P. Walter, V. Kumar et al. // *Nature*. – 1986. – **320**, N 3, – P. 134 – 139.

44. *Слюсарев А. А.* Основные закономерности эмбрионального развития // *Биология*. – Киев: Вищ. шк., 1987. – С. 142 – 160.

45. *Participation* of cultured teratocarcinoma cells in mouse embryogenesis / V. E. Papaioannou, R. L. Gardner, M. W. McBurney et al. // *J. Embryol. and Exp. Morphol.* – 1978. – **44**. – P. 93 – 104.

46. *Condamine H.* Le Tératocarcinome dae la souris: origine et relation avec les cellules embryonnaires précoces // *Reprod. Nutr. Dévelop.* – 1980. – **20**, N 2. – P. 479–522.

47. *Csaba G.* Receptor ontogeny and hormonal imprinting // *Experientia*. – 1986. – **42**. – P. 750 – 759.

48. *Leavitt W. W., Mac Donald R. G., Okulicz W. C.* Hormonal regulation of estrogen and progesterone receptors systems // *Biochem. Act. Hormones*. – 1983. – **10**. – P. 324 – 356.

49. *Mechanism* of steroid hormone action / S. R. Glasser, J. H. Cark, R. G. Smith, B. W. O'Malley // *Endocrinology of pregnancy* / Eds. F. Fuchs, A. Klopfer. – New York, 1977. – P. 15 – 40.

50. *The variations* of estrogen receptor, progesterone receptor cAMP, ODC activity and RNA synthesis of deciduoma in pseudopregnant rats / H. Hoshiai, S. Uehara, M. Suzuki, C. A. Ville // *Tohoku J. Exp. Med.* – 1982. – **137**. – P. 349 – 360.

51. *Yochim J. M., Feo V. J. De.* Control of decidual growth in the rat steroid hormones of the ovary // *Endocrinology*. – 1972. – **71**, N 1. – P. 134 – 142.

52. *Quirk S. M., Currie B. W.* Uterine steroid receptor changes associated with progesterone withdrawal during pregnancy and pseudopregnancy in rabbits // *Ibid.* – 1984. – **144**, N1. – P. 182 – 191.

53. *Local* effects of the blastocysts on estrogen and progesterone receptors in the rat endometrium / F. Logeat, P. Sartor, M. T. Vu Hal, E. Milgrom // *Science*. – 1980. – **207**, N4435. – P. 1083 – 1085.

54. *Forsyth I. A., Byatt J. C., Hey S.* Hormone concentrations, mammary development and milk yield in goats long term bromocriptine treatment in pregnancy // *J. Endocrinol.* – 1985. – **104**, N 1. – P. 77 – 85.

55. *Comparative* measurement of the lactogenic activity of ovine placental lactogen in rabbit and ewe mammary gland / J. L. Serveley, M. N'G. Emane, L. M. Houdebine et al. // *Gen. and Comp. Endocrinol.* – 1983. – **51**. – P. 255 – 262.

56. *Byatt J. C., Forsyth I. A.* The effect of bromocriptine on initiation of secretory activity by the mammary gland of primigravid goats // *J. Dairy Sci.* – 1983. – **66**, Suppl. 1. – P. 105 – 106.

57. *Lockwood Dean H., Stockáall Frank E., Topper Yale J.* Hormone dependent differentiation of mammary gland: sequence of action of hormones in relation to cell cycle // *Science*. – 1967. – **156**, N8777. – P. 945 – 946.

58 *Influence of glucocorticoids on mammary prolactin receptors in pregnant mice after ovariectomy* / T. Harigaya, S. Sakai, K. Kohmoto, Y. Shoda // *J. Endocrinol.* – 1982. – **94**, N1. – P. 149 – 155.

59. *Flint D. J.* Insulin binding to rat mammary gland at various stages of cell isolation and purification // *Mol. and Cell Endocrinol.* – 1982. – **26**, N 2. – P. 218 – 294.

60. *Flint D. J.* Regulation of insulin receptors by prolactin in lactating rat mammary gland // *J. Endocrinol.* – 1982. – **93**, N2. – P. 279 – 286.

61. *Haslam S. Z., Gall K. L., Dachtler S. Z.* Estrogen receptor activation in normal mammary gland // *Endocrinology.* – 1984. – **114**, N 4. – P. 1163 – 1172.

62. *Ossowski L., Diegel D., Reich E.* Mammary plasminogen activator: correlation with involution hormonal modulation and comparison between normal and neoplastic mammary tissue // *Cell.* 1979. – **16**. – P. 929 – 935.

63. *Gaubert C. M., Biancucci S., Shyamala G.* A comparison of the cytoplasmic estrogen receptor's of mammary gland from virgin and lactating mice // *Endocrinology.* – 1982. – **110**, N2. – P. 683 – 685.

64. *Syamala G.* Regulation of mammary responsiveness to estrogen: an analysis of differences between mammary gland and the uterus // *Molecular mechanism of steroid hormone action.* – Berlin; New York; Walter de Gruyter and Co, 1985. – P. 413 – 435.

65. *Abul-Hajj V. J., Iverson R., Kiand D. T.* Estradiol 17 β -dehydrogenase and estradiol binding in human mammary tumors // *Steroids.* – 1979. – **33**, N2. – P. 477 – 484.

66. *Miller W. R., Shivas A. A., Forrest A. P. M.* Factor affecting testosterone metabolism by human breast tissues // *Clin. Oncol.* – 1978. – **4**. – P. 77 – 85.

67. *Миллер У. Р.* Локальный биосинтез эстрогенов и роль ингибиторов ароматазы // *Применение аминоклоротетимида (оримитена) при злокачественных новообразованиях: Тез. докл. симп., Москва, 20 апр. 1988 г.* – М., 1988.

68. *Houdebine L., M.* Effects of prolactin and progesterone on expression of casein genes // *Eur. J. Biochem.* – 1976. – **68**. – P. 219 – 225.

69. *Guyette W. A., Matusik R. J., Rosen J. M.* Prolactin-mediated transcriptional control of casein gene expression // *Cell.* – 1979. – **17**. – P. 1013 – 1023.

70. *Terry P. M., Banerjee M. R., Lit R. M.* Hormone-inducible casein messenger RNA in a serum-free organ culture of whole mammary gland // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1977. – **74**. – P. 2441 – 2445.

71. *Progesterone mediated inhibition of casein mRNA and polysomal casein synthesis in the rat mammary gland during pregnancy* / J. M. Rosen, D. L. O'Neal, J. E. McHugh, J. P. Comstock // *Biochemistry.* – 1978. – **17**. – P. 290 – 297.

72. *Devinoy E., Houdebine L. M.* Effects of glucocorticoids on casein gene expression in the rabbit // *Eur. J. Biochem.* – 1977. – **75**. – P. 411 – 416.

73. *Cell proliferation and milk protein gene expression in rabbit mammary cell cultures* / Y. M. Suard, M. T. Haeuptle, E. Farinon, J.-P. Kraehenbuhl // *J. Cell. Biol.*

– 1983. – **96**. – P. 1435 – 1442.

74. *Djiane J., Delouts C., Kelly P. A.* Prolactin receptor in organ culture of rabbit mammary gland effect of cycluhexemide and prolactin // *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* – 1979. – **162**. – P. 342 – 445.

75. *Majumder P. K., Joshi J. B., Banerjee M/ R.* Correlation between nuclear glucocorticoid receptor levels and casein gene expression in munne mammary gland in vitro // *J. Biol. Chem.* 1983. – **258**, N11. – P. 6793 – 6798.

76. *Multihormonal* regulation of casein gene expression at the transcriptional levels in he mammary gland / J. M. Rosen, J. R. Matusik, D. A. Richards et al. // *Recent Progr. Hormone Res.* – 1980. – **36**. – P. 157 – 187.

77. *Hendrick J. C., Reuter A., Franchimont P.* Les antigenes des cancers avec référence á la caséine dans le cancer du sein // *Rev. Franc. Endocrinol. Clin., nutr. et metabol.* – 1976. – **17**, N 4. – P. 349 – 350.

78. *Helle M.* Studies on monoclonal antibodies to human milk fat globule membrane antigens with special reference to mammary carcinoma. – Mikkeli: Länsi-Savo Oy, 1986. – 103 p.

79. *Ip C., Dao T. L.* Effect of estradiol anl prolaction on galactosyltransferase and lactalbumin activities in rat mammary gland and mammary tumor // *Cancer Res.* – 1978. – **38**, N 7. – P. 2077 – 2083.

80. *Burchell J., Durbin H., Taylor-Papadimitrow J.* Detection of the tumor-associated antigens recognized by the monoclonal antibodies HMFG-1 and 2 in serum from patients with breast cancer // *Int. J. Cancer.* – 1984. – **34**. – P. 763-768.

81. *Клиническое* изучение CA 15-3 при раке молочной железы в качестве индикатера выбора терапевтической тактики у больных распространенным или рецидивирующим раком молочной железы. / N. Tadachi, N. Mitsuhiro, S. Shinichi et al. // *Fukushima Med. J.* – 1986. – **36**, N 4. – P. 427 – 431.

82. *CA 15.3: early results of a new breast cancer marker* / R. Colomer, A. Sole Luis, N. Navarro et al. // *Anticancer Res.* – 1986. – **6**, N 4. – P. 683 – 684.

83. *MAM-6 antigen a new serum marker for breast cancer monitoring* / J. Hilkens, V. Kroezen, J. M. G. Bonfrer et al. // *Cancer Res.* – 1986. – **46**, N 5. – P. 2552 – 2587.

84. *Forbes A.* Foetal steroid binding protein and malignancy // *Anticancer Res.* – 1987. – **7**, N 513. – P. 937 – 942.

85. *Bumbardieri E., Colombo A., Gion M. A.* A preliminary evaluation of the tissue ard serum levels of MCA, a new tumor associated antigen of breast cancer // *MCA in relation on competing breast cancer markers: Abstr. symp. Basel, Nov. 16, 1987.* – Basel, 1987.

86. *Notides A., Gorski J.* Estrogen induced synthesis of a specific uterine protein // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1966. – **46**, – P. 230 – 235.

87. *Galand P, Flandroy L., Mairesse N.* Relationship between the estrogen-induced protein IP and other parameters of estrogenic stimulation // *Life Sci.* – 1973. – **22** – P. 217 – 233.

88. *Cloning of a gere expressed in human breast cancer and regulated by*

estrogen in MCF-7 cells / J. F. Prud'homme, F. Fndlansky, A Le Canf, M. Atger et al. / DNA. – 1985. – **4**. – P. 11 – 16.

89. *Estrogen-induced synthesis and secretion of proteins in the human breast cancer cell line MCF-7* / N. Mairesse, N. Develeeschouwer, G. Leclercq, P. Galand // J. Steroid. Biochem. – 1981. – **15**. – P. 375 – 381.

90. *Edwards D. P., Adams D. J., McGuire W. L.* Specific protein synthesis regulated by estrogen in human breast cancer // Ibid. – P. 247 – 259.

91. *Adams D. J., McGuire W. L.* Quantitative enzyme-linked immunosorbent assay for the estrogen-regulated Mr 24000 protein in human breast tumors: correlation with estrogen and progesterone receptors // Cancer Res. – 1985. – **45**, N 6. – P. 2449 – 2454.

92. *Immunoenzymatic assay of Mr 52000 cathepsin D in 182 breast cancer cytosols: low correlation with other prognostic parameters* / T. Maudelond S. Khaleef, M. Garcia et al. // Ibid. – 1988. – **48**, N 2. – P. 462 – 466.

93. *Estrogen-induced lysosomal proteases secreted by breast cancer cells a role in carcinogenesis?* // H. Rochefort, F. Capony, M. Garcia et al. // J. Cell. Biochem. – 1987. – **35** – N 1.

94. *Autocrine stimulation of breast cancer cell growth by estrogen regulated protein (s)* / H. Rochefort, F. Capony, G. Cavalié-Bartherz et al. // Eur. J. Cancer and Clin. Oncol. – 1986. – **22**, N6. – P. 726.

95. *Ashorn P.* Human milk fat globule membrane antigens as diagnostic markers for ovarian carcinoma // Acta Universitatis Temperensis. – Tampere; 1987. – 184 p.

96. *Hodges G. M.* Tumor-formation: the concept of tissue (stroma – epithelium) regulatory dysfunction // The 5th symp. Brit. Soc. cell biol. – Cambridge, 1982. – P. 333–356.

Глава 7

ГОРМОНЫ БЕРЕМЕННОСТИ КАК МАРКЕРЫ ОПУХОЛЕЙ, ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ОПУХОЛЕВОМ ПРОЦЕССЕ И БЕРЕМЕННОСТИ

7.1. Некоторые механизмы, обеспечивающие физиологическое развитие наполовину чужеродного для организма матери плода

Один из наиболее сложных и до конца не распознанных феноменов современной иммунологии – способность плода человека и млекопитающих избегать иммунного отторжения при беременности. Эта проблема издавна привлекает внимание исследователей, которые связывают с ее решением выяснение ключевых вопросов современной биологии и медицины. Основываясь на сходстве биологических признаков эмбриональных и злокачественных клеток, онкологи пытаются расшифровать некоторые механизмы нераспознавания злокачественных клеток организмом опухоленосителя по аналогии с толерантностью организма матери к наполовину чужеродным клеткам плода, а также разработать подходы к проблеме элиминации опухолевых клеток из организма и восстановлению генетического гомеостаза [1].

Как известно, самые совершенные и надежные механизмы, обеспечивающие сохранение и нормальное развитие плода, развились в процессе эволюции у человека и млекопитающих с гемохориальным типом плаценты [2–4]. Физиологическое развитие беременности обеспечивается комплексом взаимосвязанных специфических и неспецифических факторов. Активная иммунная реакция со стороны материнского организма, которая неминуемо должна была бы привести плод к отторжению, подавляется. До настоящего времени механизмы, осуществляющие толерантность матери и плода друг к другу, изучены недостаточно. Для объяснения этого явления выдвигались различные гипотезы [3, 5], согласно которым рефрактерность к иммунным реакциям проявляется со стороны как плода, так и материнского организма. В первую очередь это обеспечивается анатомическим барьером – слоем коагуляционного фибриноидного некроза, полосой Нитабух, располагающейся между базальной децидуальной оболочкой матки беременной и выстилающим ее трофомастом [6]. До настоящего времени дискутируются происхождение фибриноида и его состав. Фибриноид откладывается также на поверхности трофобласта. По некоторым данным, трибриноидный слой содержит сульфатированные протеогликаны. Предполагается [2], что они несут отрицательный заряд и поэтому сталкивают материнские лимфоциты, также заряженные отрицательно. При таких условиях Т-лимфоциты-киллеры могут сдерживаться электростатическими силами от соприкосновения с поверхностью трофобласта, который с помощью различных механизмов

осуществляет надежную блокаду иммунных реакций матери в отношении плода.

В матке при нормальной беременности, несмотря на наличие плода и инвазивность трофобласта, отсутствуют признаки воспалительной реакции, которая могла бы привести плод к отторжению. Некоторые авторы [7] связывают это с деятельностью децидуальных клеток, выделяющих ингибитор активатора плазминогена, а возможно, и других ингибиторов протеиназ и эстераз.

Имеются данные о способности трофобласта фиксировать материнские антитела (АТ). К этому также причастен фибриноидный слой, на поверхности и в цитоплазме хориального эпителия которого обнаруживаются значительные количества компонентов комплемента (C_3 , C_4) иммуноглобулинов [8, 9]. Таким образом, трофобласт служит фильтром, задерживающим поступление к плоду материнских антител и иммунных лимфоцитов. Однако плацента функционирует не как фильтр, механически пропускающий субстанции в зависимости от размера молекул, а как многофакторная система, обладающая значительной избирательной активностью. Клетки плаценты несут Fc-рецепторы, фиксирующие АТ [10]. Кроме того, в плаценте происходит ферментативная обработка иммуноглобулинов, приводящая к усилению или ослаблению их эффекторных свойств. Причем из всех классов иммуноглобулинов трансплацентарный переход осуществляется только IgG.

В плаценте крыс обнаружено около 20 антигенов (АГ), из них только 7 имеют плацентарное происхождение, остальные являются межорганными белками различной специфичности [11]. Плацента человека содержит аллоантигены ряда генетических систем [12], в том числе АГ главного комплекса гистосовместимости (МНС – major histocompatibility complex), а также АГ, специфичные для трофобласта – TA_1 и TA_2 – с широкой перекрестной реактивностью, включающие АГ, перекрестно реагирующие с лимфоцитами матери, и др. Предполагают, что трофобласт содержит АГ, которые распознаются лимфоцитами матери, однако в плазме крови беременных женщин содержатся факторы, блокирующие процесс распознавания. Определенная роль в сохранении беременности отводится механизмам защиты со стороны плода. К ним относится высокое содержание супрессорных Т-лимфоцитов в пуповинной крови, в то время как в крови новорожденного таких клеток наполовину меньше [13]. Обнаружено, что $>T$ -супрессоры крови пуповины новорожденных обладают способностью блокировать пролиферацию лимфоцитов взрослых людей в однонаправленной смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ).

Лимфоидные клетки печени 8-недельного плода подавляют пролиферацию аллогенных лимфоцитов как в СКЛ, так и после воздействия фитогемагглютинином (ФГА) [14]. Наряду с этими существуют и противоположные данные, не подтверждающие супрессию иммунной системы матери при беременности. В результате экспериментов [15] установлено, что у

линейных мышей в процессе беременности не снижается пролиферация лимфоцитов под влиянием ФГА, а сыворотки беременных мышей не ингибируют реакцию бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) при их добавлении в культуру лимфоцитов.

Свой вклад в процессы репродукции у млекопитающих вносят также простагландины (ПГ), которые рассматривают как местные тканевые гормоны [16]. ПГ – продукты метаболизма арахидоновой кислоты и синтезируются практически всеми типами клеток. С их действием также связывают подавление реакций иммунитета, в частности, при опухолевом росте. Оказалось, что имплантация бластоцисты происходит в участке, имеющем уровень ПГF₂ выше, чем в окружающей ткани, а наиболее высокие концентрации ПГЕ и ПГF₂ при беременности сосредоточены именно в области фетоплацентарного барьера.

Считают [12], что в защите плода от отторжения ведущую роль играют иммунологические механизмы подавления или модуляции иммунного ответа организма матери. Наиболее ранним иммунологическим супрессорным агентом является фактор ранней беременности (ФРБ), который продуцируется оплодотворенной яйцеклеткой, и маточными трубами [2, 17]. В сыворотке крови беременных мышей он появляется уже через 6 ч после оплодотворения. У женщин – через 24–48 ч после фертилизации, что подтверждает его нетрофобластическое происхождение. ФРБ обнаружен методом торможения образования розеткообразующих клеток, он не обладает видовой специфичностью. Имеются данные о его иммуносупрессирующих свойствах, которые хронологически проявляются раньше, чем действие других специфических белков и гормонов беременности, секретируемых плацентой человека и млекопитающих. Плацента играет важнейшую роль в иммунологических механизмах, способствующих сохранению плода и поддержанию беременности [18, 19]. Это связано с секрецией плацентой значительного количества биологически активных веществ, высокой белковообразовательной функцией, особенно в период ее формирования. Согласно существующей классификации, основанной на особенностях функциональной активности таких субстанций [12], различают белки:

1) обладающие гормональной активностью – хорионический гонадотропин (ХГ), плацентарный лактоген человека (ПЛЧ), хорионический тиреотропин (ХТ), кортикотропин и др.;

2) обладающие ферментативной активностью – цистинамино-пептидазу, 17-гидрооксистероид-дегидрогеназу, гистаминазу, окситоциназу, термостабильную щелочную фосфатазу, α_2 -микроглобулин фертильности и др.;

3) с неизвестной функцией – трофобластический β_1 -гликопротеин (ТБГ), α_2 -глобулин, плацентарные белки, РР₅, РАРР-А, ІРА-С и др.

Приведенная классификация содержит элемент условности, поскольку наряду с основной функциональной нагрузкой белки, естественно, обладают и другими еще не до конца изученными свойствами. Доказано, что с некоторыми

из перечисленных веществ в немалой степени связана рефрактерность плода к иммунной реакции материнского организма. В первую очередь это относится к белкам, секретируемым трофобластом, который через 8–9 сут после оплодотворения яйцеклетки человека уже отчетливо дифференцирован на два слоя – внутренний, обращенный к полости матки – цитотрофобласт, слой Лангханса, и наружный, прилежащий к слизистой матки – синцитиотрофобласт, плазмоидальный трофобласт. Последний секретирует ряд белков, обладающих свойствами ингибировать иммунокомпетентные клетки. Обнаружено, что аналогичные белки экспрессируются также клетками злокачественных опухолей. Среди них важная роль принадлежит хорионическому гонадотропину. Не вызывает сомнений значительное супрессивное влияние на иммунокомпетентные клетки материнского организма и других веществ, особенно гормонов, количество которых, например эстрогенов, увеличивается в период беременности в 10–1000 раз. Большое значение имеют также кортикостероиды. Однако особая роль в состоянии толерантности плода к активной иммунной реакции организма матери (а возможно, в какой-то степени клеток некоторых злокачественных опухолей к иммунной реакции организма-опухоленосителя) отводится специфическим белкам и гормонам беременности, которые являются также маркерами опухолевого роста, и важнейшему из них – хорионическому гонадотропину.

7.2. Хорионический гонадотропин – специфический гормон беременности. Влияние на интактный организм и систему иммунитета

Хорионический гонадотропин – гликопротеин [20] с молекулярной массой около 50 кД; состоит из α и β -субъединиц, α -ХГ содержит 92 аминокислотных остатка, β -ХГ – 147. Хорионический гонадотропин содержит нейраминовые кислоты, количество которых прямо пропорционально его активности. При их отщеплении биологическая активность ХГ исчезает. α -Субъединица ХГ идентична α -субъединицам других гликопротеидных гормонов (ЛГ, ФСГ, ТТГ), тогда как их β -субъединицы различаются, придавая гормонам биологическую специфичность [2, 17, 20]. Максимальная концентрация ХГ у плодов обоего пола отмечается на 11–14-й неделе беременности, причем у плодов женского пола она выше и составляет при этом сроке 43 нг/мл по сравнению с 30–40 нг/мл у плодов мужского пола [21]. В венозной крови плодов концентрация ХГ, выше, чем в артериальной. После формирования плаценты продуцируется до 100 000 МЕ/ХГ, доходя в пике продукции до 600 МЕ/г плаценты [2]. Максимальная концентрация ХГ в сыворотке крови и моче у женщин приходится на 40–80-е сутки беременности. По данным радиоиммунологического метода (РИМ), содержание ХГ в сыворотке крови небеременных женщин и у мужчин менее 3,0 МЕ/л. При

беременности 7–10 сут – больше 3,0 МЕ/л, 30 сут – 100–500, 40–80 сут – 50 000–140 000 МЕ/л, а затем количество уменьшается с небольшим подъемом перед родами. В моче при 6-недельной беременности у женщин количество ХГ составляет 13 000 МЕ/л, 8-недельной – 30 000, 12–14-недельной – 105 000 и затем понижается до 5–20 000 МЕ/л. В нормальной моче у женщин может содержаться до 30 МЕ/л ХГ. Средняя концентрация ХГ в крови в конце беременности в 40–100 раз выше, чем в амниотической жидкости [22]. Через 72 ч после родов ХГ исчезает. Гормон обнаружен также в сперматозоидах человека и у бактерий, обитающих в организме онкологических больных

Можно полностью согласиться с мнением В.И. Говалло [2] о том, что в процессе эволюции для прекращения циклических изменений, выключения мощных эндокринных воздействий, создания в женском организме определенной, сбалансированной для нормального протекания беременности ситуации должен был возникнуть фактор, который появлялся бы в высоких концентрациях в определенное время, обладал противодействующим гонадотропным гормонам эффектом, определенным ингибирующим влиянием на иммуокомпетентные клетки, а затем исчезал после родов. Всем перечисленным требованиям соответствует ХГ, продуцируемый с момента образования трофобласта и продолжающий секретироваться плацентой в течение всей беременности. Это свойство ХГ уже свыше 60 лет используется в качестве теста ранней диагностики беременности (реакция Ашгейма–Цондека).

Обнаружено, что ХГ и ЛГ связываются в яичниках и семенниках одними и теми же рецепторными участками, локализируются на клетках-мишенях – желтых телах яичников и клетках Лейдига, которые отвечают на оба гормона значительным увеличением образования цАМФ. Влияние ХГ на интактный организм неоднозначно. Уже через сутки после введения он стимулирует внутриклеточные регенераторные процессы в патологически измененных гепатоцитах крыс. При этом быстро возрастает количество нормальных гепатоцитов, снижается число дегенерирующих форм, уменьшается количество субстрата для расщепления и снижается активность лизосомальных ферментов [23]. После парентерального введения ХГ у крыс уменьшается диурез за счет увеличения канальцевой реабсорбции воды. Считают, что задержка экскреции различных электролитов имеет важное биологическое значение для обеспечения солевых потребностей растущего плода [24]. Известно, что ХГ значительно увеличивает синтез ПГ (Е+А) в печени и концентрацию ПГ в плазме крови. Дегликолизированный ХГ человека конкурирует с ^{125}I -ХГ за места связывания в яичниках псевдобеременных крыс, а введение ^{125}I -ХГ совместно с ХГ на 37 % угнетает овуляцию у крыс [25].

ХГ значительно расширяет возможности иммунологической адаптации организма под его влиянием у линейных мышей дольше, чем в контроле, переживали кожные аллотрансплантаты. Обнаружена способность ХГ угнетать формирование первичного иммунного ответа, нарушая кооперативные взаимоотношения иммуокомпетентных клеток на уровне короткодистантных

медиаторов иммунитета [26]. При этом гормон повышает уровень иммунологически значимого класса ПГ выше оптимального, что приводит к угнетению функциональной активности Т-хелперов, секретирующих ИЛ-2. В то же время наряду со способностью ингибировать иммунокомпетентные клетки, участвующие в гуморальном иммунном ответе, ХГ в определенных дозах оказывает и противоположное влияние – щадящее действие на стволовые кроветворные клетки костного мозга и селезенки линейных мышей, не подавляет киллерной функции Т-лимфоцитов [27]. Под влиянием ХГ возникает преходящая инволюция тимуса, других иммунокомпетентных органов (селезенки, лимфоузлов) и обеднение периферической крови лимфоидными элементами. Еще в большей степени это проявляется при сочетании ХГ с эстрогенами и прогестероном. Отмечена способность ХГ при инкубации с лимфоцитами индуцировать появление супрессорных клеток, угнетая продукцию Т-клеточнозависимого синтеза IgM, IgG IgA [28].

Данные о влиянии ХГ на пролиферативный ответ лимфоцитов в культуре *in vitro* по влиянию митогенов противоречивы. Показано [29], что такое действие оказывают только грубые, неочищенные препараты ХГ, а высокоочищенные вызывают иммуносупрессию лишь при использовании в больших дозах (более 5000–10 000 МЕ/мл) или вовсе не обладают таким эффектом. Это обстоятельство позволило некоторым авторам поставить под сомнение особую роль ХГ в предупреждении отторжения плода материнским организмом. Однако большинство исследователей обнаружили такой эффект ХГ. При этом отмечено [30], что ХГ – сильный, но обратимый ингибитор реакции бласттрансформации лимфоцитов на ФГА. Ингибирующий эффект дозозависим и наиболее выражен при концентрации ХГ 100 МЕ/мл и выше, что находится в пределах диапазонов концентрации ХГ в сыворотке человека во второй половине беременности. При дозе 10 000 МЕ/мл активность лимфоцитов подавляется полностью. Предполагается, что трофобласт 10-суточного эмбриона может локально продуцировать ХГ в концентрации, далеко превышающей 10 000 МЕ/мл, и происходит это в месте контакта материнских лимфоцитов с трофобластом. Отсюда следует, что иммунокомпетентность лимфоцитов матери при беременности может быть изменена в результате действия ХГ обратимым и не цитотоксическим способом. Предполагают, что иммуносупрессивный эффект вызывает не сам ХГ, а его нейтральные примеси – плазменные белки с молекулярной массой 20–40 кД, и входящий в его состав ФРБ, причем такое его влияние проявляется только у женщин, поскольку в у-хромосоме присутствуют гены подавляющие способность ХГ индуцировать супрессию лимфоцитов [по 2].

Анализ литературных данных свидетельствует о существенном значении в создании временной иммунологической толерантности организма матери к АГ плода клеточных и сывороточных факторов иммунитета в тесной связи с комплексом гормональных изменений. Поддерживать состояние толерантности может высокий уровень эстрогенов, синтез предшественников которых

стимулируется ХГ. Известно, что повышенная секреция глюкокортикоидов в крови способствует ингибированию митозов лимфоидных клеток, а при введении реципиенту гормонов в дозах, присущих беременности, удлиняются сроки жизни трансплантата. На модели ФГА-стимулированной РБТЛ периферической крови человека, обнаружили усиление ингибирующего эффекта ХГ при его совместном применении с глюкокортикоидами (гидрокортизоном, преднизолоном) по сравнению с действием каждого гормона в отдельности [31]. Таким образом, в организме при беременности складывается определенная гормональная ситуация, обеспечивающая оптимальное воздействие ХГ на иммунокомпетентные клетки. В послеродовом периоде, когда синтез специфических белков беременности прекращается и резко изменяется соотношение других гормонов, введение ХГ уже не влияет на выживаемость внутриматочных кожных аллотрансплантатов у экспериментальных животных.

Как известно, важную роль в регуляции иммунологических процессов в организме играют Т-лимфоциты и их субпопуляции [32]. Их функции разнообразны: помощь В-клеткам в продукции АТ, регуляция дифференцировки В-клеток в плазматические и Т-клеток в бластные формы, блокирование аутоиммунных реакций и многое другое. Главной задачей регуляторных клеток является обеспечение гомеостатического контроля за функционированием иммунной системы. О влиянии ХГ или каких-либо других факторов на систему иммунитета судят по изменению количественных и функциональных характеристик иммунокомпетентных клеток [33], которые определяются различными методами, в частности, по выявлению поверхностных маркеров. Так, Т-клетки, несущие *Fc*-рецепторы к IgG, обнаруживают супрессорную активность, а *Fc*-рецепторы к IgM—хелперную. Однако это положение достаточно условно, поскольку клетки, несущие аналогичные рецепторы, могут быть функционально различны. Кроме того, *Fc*-рецепторы весьма лабильны, подвержены модуляциям и взаимным переходам, особенно после различных воздействий. Даже с помощью моноклональных АТ (МАТ) не удается надежно разграничить супрессорные и хелперные клетки, получив полную аналогию с функциональными тестами. О функциональном состоянии лимфоцитов можно судить по их способности к пролиферации под влиянием различных митогенов (ФГА, *Con A* и др.), продукции MIF (*Migration inhibitory factor*), методах учета синтеза иммуноглобулинов и пр.

Обнаружено, что инкубация ХГ с лимфоцитами человека снижает их способность к образованию розеткообразующих клеток (РОК) с эритроцитами барана, т.е. ХГ может «маскировать» часть популяции Т-лимфоцитов, а также снижать взаимодействие сенсibilизированных лимфоцитов с клетками-мишенями. Таким образом, ХГ проявляет способность маскировать как хелперные, так и киллерные Т-клетки. Barnett и соавт. [по 12] провели анализ субпопуляций Т-лимфоцитов в различных триместрах беременности у женщин с помощью МАТ к маркерам Т-клеток – ОКТ₃ (маркер всей популяции Т-

лимфоцитов), ОКТ₄ (хелперных Т-лимфоцитов) и ОКТ₈ (супрессорных Т-лимфоцитов). Для избежания возможных ошибок учитывали результаты методики непрямой иммунофлюоресценции на автоматическом цитофлюориметре. Авторы обнаружили снижение как общего количества Т-клеток, так и субпопуляции Т-хелперов в периферической крови в первые два триместра беременности, что явилось еще одним подтверждением того, что супрессорные иммунные реакции матери более выражены в начале беременности, когда активизируется фетоплацентарный комплекс – продуцируются специфические белки беременности, в частности ХГ. Установлено, что ХГ в небольших количествах встречается также и вне периода беременности. По данным разных авторов [34], его количество в норме колеблется от 0,5 до 1,4 нг/мл.

7.3. Хорионический гонадотропин при злокачественном росте

Современными исследованиями установлены [1, 35, 36] многочисленные факты, свидетельствующие о наличии сходства биологических особенностей эмбриональных и злокачественных опухолевых клеток: быстрый рост, феномен инвазии, способность к имплантации, синтез белков эмбрионального типа. Между процессами беременности и опухолевого роста также существуют параллели – сходные иммунологические механизмы толерантности организма матери к плоду, организма-опухоленосителя к опухоли, снижение иммунного ответа организма, во многих случаях сопровождающее оба процесса, тканевая гипоксия, а также некоторое сходство биохимических и ультраструктурных свойств клеток. Обнаружено, что основное вещество опухоли по составу во многом аналогично таковому эмбрионов на ранней стадии развития, когда пролиферация преобладает над дифференцировкой. Особый интерес вызывают клетки трофобласта, которые имеют биохимические признаки злокачественных клеток (усиленные протеолиз, гликолиз и пентолиз), а также способность к инфильтрации и разрушающему росту.

Параллели, проводимые между онко- и эмбриогенезом базируются также на данных о наличии перекрестных реакций между АГ опухолей и специфических белков беременности, в частности с ХГ, и наличии эмбриональных АГ, которые могут локализоваться как на поверхностной мембране, так и в цитоплазме или органеллах опухолевых клеток. Полагают, что эмбриональные АГ являются факторами иммунологического усиления роста опухоли и даже причастны к запуску пролиферации опухолевых клеток [35].

Имеются данные, что антисыворотки (АС) к специфическим белкам и гормонам беременности (ХГ, ПЛЧ, ТБГ) в большинстве случаев реагируют с клетками рака молочной железы человека [по 2]. Моноклональные антитела против АГ трофобласта человека взаимодействуют с клетками рака яичников, матки, а кроличьи АТ против клеточных мембран плацентарных ворсин – с

мембранами клеток рака молочной железы, но не реагируют с нормальной тканью молочной железы. Иммунологические, биохимические и морфологические признаки клеток эмбрионов ранних стадий развития имеют клетки тератокарциномы [37].

В течение последних десятилетий проводится неустанный поиск маркерных веществ, специфичных для злокачественного роста, которых не содержали бы нормальные ткани организма в процессе своего образования и развития. В настоящее время количество субстанций, претендующих на роль опухолевых маркеров, весьма внушительно [38–40]. В гл. 2 настоящей монографии этот вопрос рассмотрен более подробно и приведена классификация маркеров. Мы детальнее остановимся на изучении биологической роли хорионического гонадотропина, трофобластического β -глобулина и плацентарного лактогена человека, секретируемых при беременности синцитиотрофобластом. Наш интерес к ним обусловлен тем, что вне периода беременности эти белки экспрессируются клетками злокачественных опухолей и их определение имеет большое практическое значение.

Представляют интерес исследования влияния ХГ на опухолевый рост. Известно, что введение ХГ в дозах 200 и 400 мкг повышает частоту метастазирования метилхолантеновой саркомы мышей с 4 до 33 %. Комбинация ХГ с гормонами (прогестероном и эстрогеном) также приводит к существенной стимуляции роста плоскоклеточного рака шейки матки у мышей BALB/c по сравнению с животными контрольной группы [41] *In vitro* ХГ может длительное время продуцироваться различными клеточными линиями злокачественных опухолей человека и животных [42]. Так, в культурах хорионэпителиомы яичка *in vitro* продукция ХГ определялась в течение 3 лет. Однако наряду с этим обнаружена секреция ХГ и нормальными клетками эпителия мочевого пузыря [43].

Опухолегенные гибриды клеток HeLa синтезировали α -субъединицу ХГ в количестве 20–700 нг/мл и эта экспрессия коррелировала со степенью злокачественности клеток. В то же время у неопухолегенных клеток такая секреция не обнаруживалась или была незначительна [44]. В культуре клеток ткани пузырного заноса человека ХГ может продуцироваться свыше 400 сут. Naughton и соавт. [45] обнаружили, что ХГ секретируется клетками различных злокачественных опухолей человека – рака молочной железы, легкого, предстательной и поджелудочной желез, толстого кишечника, почки, семиномы, липосаркомы. Оказалось, что ХГ располагается на мембране злокачественных клеток в отличие от других гормонов, которые находятся в цитоплазме в секреторных гранулах. При проведении такого исследования авторы в качестве положительного контроля использовали синцитиотрофобласт и трофобластические злокачественные опухоли, т.е. ткани, клетки которых всегда содержат ХГ. Именно таким поверхностным расположением ХГ объясняется маскировка злокачественных клеток,

экспрессирующих ХГ, от надзора иммунной системы хозяина аналогично ускользанию клеток эмбриона от активной иммунной реакции материнского организма.

Структура ХГ, образующегося при беременности и раке, имеет некоторые различия. С помощью методов аффинной хроматографии, гель-фильтрации, β -элиминации обнаружено, что часть ХГ мочи беременных составляет трисахарид, а при хориохэтиелиоме – гексасахарид [46]. Авторы предложили считать ХГ, обогащенный гексасахаридом, маркером хорионэпителиомы. В отличие от хорионического гонадотропина, секретируемого в период беременности, экспрессируемый при злокачественном росте ХГ молекулярно гетерогенен, т. е. встречается как в виде целой молекулы, так и α - или β -субъединиц. В моче количество ХГ может превышать таковое в плазме, что, возможно, отражает различие в периоде полужизни ХГ и его субъединиц [20]. Для ХГ этот показатель составляет много часов, а у лютеинизирующего гормона период полужизни равен 30 мин. Качественные и количественные различия ХГ и его субъединиц из первичной опухоли и ее метастазов подтверждают положение о клонировании опухолевых клеток *in vivo*. Оказалось, что секреция атипичных молекулярных форм ХС характерна для многих гистологически и клинически разных типов злокачественных клеток [39, 47–49]. По данным многих авторов, количество и молекулярная масса секретируемого при опухолевом росте ХГ может варьировать. Наряду с этим имеются данные об идентичности естественного ХГ и секретируемого при раке. Количество определяемого ХГ колеблется в больших диапазонах. Так, у больных с несеминомным раком яичка количество ХГ составляло от 9,0 до $4,5 \cdot 10^6$ МЕ/л. При этом колебания β -ХГ достигали 20–286, а α -ХГ – 14–498 мкг/л [50]. В ряде случаев обнаружена β -ХГ с большой молекулярной массой – 70 кД.

Следует отметить, что с разработкой гибридной технологии и возможностью получения МАТ к различным опухолевым маркерам, в частности к ХГ, значительно возросли качество и достоверность иммунологических исследований. Обнаруживаются все новые локализации злокачественных опухолей, клетке которых экспрессируют ХГ, что приводит исследователей к мысли об универсальности этого явления для злокачественного роста [51]. Интенсификация исследований качественных различий ХГ, секретируемого при раке, обусловлена насущными потребностями онкологической клиники в прогнозировании биологических характеристик опухолевого материала, в частности способности раковых клеток к метастазированию.

ХГ-подобная субстанция обнаружена в плазме, моче и гипофизе небеременных женщин. Это вещество не содержало углеводов и не обладало биологическим действием. Полагают, что источником ХГ может быть любая неэндокринная ткань, в которой происходит усиленная клеточная пролиферация. Все большее подтверждение получает предположение, что присутствие атипичных молекул ХГ с антигенной детерминантой и низкой

биологической активностью – характерный признак малигнизации клеток [52]. Этому способствовала разработка более сложных и чувствительных иммунологических методов, позволивших показать, что не все опухоли секретируют биологически активные гормоны [53]. Оказалось, что высокие концентрации иммунологически активных форм не отражают биологическую активность гормона. Эта проблема привлекла широкое внимание не только экспериментаторов, но и клиницистов, поскольку были охарактеризованы новые эктопические гормональные синдромы.

Продукция ХГ обнаружена также у мужчин при гинекомастии [53]. При этом его уровень превышал аналогичный показатель в первом триместре беременности у женщин. Огромные количества ХГ, секретируемого при хорионэпителиоме, как правило, не коррелирует с эндокринным статусом женщин, возможно, за счет отсутствия биологически активного ХГ. Вместе с тем отмечена довольно выраженная иммуносупрессивная активность атипичных форм ХГ, обладающих антигенными свойствами. С повышенным содержанием кислых форм ХГ (рН от 3,2 до 3,7) и высокой иммунореактивностью связывают низкую выживаемость больных с хорионэпителиомой. В то же время диапазон рН ХГ, выделенного из сыворотки у этих больных, соответствовал таковому у беременных.

В литературе обсуждается значение ХГ в качестве маркера рака молочной железы у женщин [55]. Повышенные уровни ХГ обнаружены примерно в 14 % сывороток таких больных. Однако есть данные об обнаружении гормона также при доброкачественных поражениях молочной железы, причем чаще в постменопаузальном периоде. Поскольку в этом периоде у женщин устойчиво повышен уровень ЛГ, возникло предположение, что в некоторых случаях источником ХГ служит гипофизарный ЛГ. Как известно, ЛГ и ХГ имеют структурное и биологическое сходство [20]. При этом ХГ, воздействуя на рецепторы к ЛГ, активизирует деятельность желтого тела, необходимого для поддержания беременности в I триместре. Структурно ХГ содержит β -ЛГ и дополнительно 30 аминокислотных остатков на С-конце. Возможно, эволюция обеспечила механизм, позволяющий при необходимости получить биологический эффект путем объединения β -субъединицы с любой гомологичной α -субъединицей. Обнаружение в сыворотке больных раком молочной железы ХГ некоторые авторы также склонны объяснить перекрестными реакциями с ЛГ, поскольку использовавшиеся ранее в клинике методы исследования не позволяли дифференцировать гликопротеидные гормоны [55]. Для исключения возможных перекрестных реакций с ЛГ и другими гормонами в последние годы используются высокоспецифичные к β -субъединице ХГ антитела. Один из наиболее перспективных способов их получения заключается в образовании полипептида, представляющего собой С-концевую участок β -ХГ, состоящий из 30–35 аминокислотных остатков.

Однако почва для сомнений в диагностической ценности ХГ для рака молочной железы остается. Она базируется на данных об обнаружении ХГ-

подобного вещества в здоровых тканях и, как следствие, накоплении его в опухолевой ткани путем усиления синтеза ХГ. Кроме того, имеются убедительные клинико-иммунологические параллели, не подтверждающие зависимость между содержанием ХГ при злокачественных и доброкачественных опухолях молочной железы и степенью прогрессии процесса.

ХГ определяется примерно в 14 % случаев у больных раком легкого при отсутствии его у лиц контрольной группы (хронические бронхиты, туберкулез легких, бронхиальная астма), в 48 % – при раке яичника, в 51 % – яичка, в 50–60 % – при раке желудочно-кишечного тракта, в 30 % органов мочеполовой системы, в зависимости от размеров опухоли в 25–77 % при раке толстой и прямой кишок. Считается доказанной целесообразность одновременного комплексного определения нескольких маркеров, что значительно повышает их диагностическое и практическое значения. Например, одновременное определение РЭА, АФП, ХГ и ЛДГ улучшает диагностику рака яичников до 92,5 %, а у больных с дисгерминомой – до 100%. В метастазах злокачественных опухолей β -ХГ иногда определяется в значительно больших количествах, чем в сыворотке крови, например, 720–185 нг/мл [56]. ХГ обнаружен у больных злокачественными и доброкачественными нетрофобластическими опухолями гинекологической сферы. После хирургического лечения 12 из 17 ХГ-положительных больных стали ХГ-отрицательными, 5 остались ХГ-положительными, 7 из 49 ХГ-отрицательных пациентов стали ХГ-положительными. Повышенный уровень ЛГ авторы не связывают с реверсией ХГ, так как концентрация ЛГ оставалась ниже уровня перекрестных реакций. Кроме того, 8 пациентов с высокой концентрацией ЛГ были ХГ-отрицательными. Предполагается возможность существования гипофизарного ХГ. Ставится под сомнение целесообразность мониторинга с помощью ХГ нетрофобластических гинекологических злокачественных опухолей [57].

Следует указать на возможность ложноположительных реакций при определении ХГ, которые встречаются при гемолизе крови, липемии. Mohler [58] описывает 36-летнего мужчину с семиномой яичка, у которого было повышено количество β -ХГ. После проведения курса химиотерапии в момент операции была обнаружена только некротическая ткань, в которой с помощью пероксидазного окрашивания выявили β -ХГ. Автор пришел к выводу, что при фагоцитозе некротических масс происходит высвобождение β -ХГ. Мониторинг ХГ у больных со злокачественными опухолями в ряде случаев имеет прогностическое значение: понижение уровня ХГ коррелирует с отсутствием рецидивов и метастазов, а повышение служит сигналом прогрессии процесса. С помощью исследования ХГ представляется возможным дифференцировать первичную опухоль или метастазы в центральной нервной системе поскольку ХГ не проходит через гематоэнцефалический барьер и можно определить соотношение содержания гормона в периферической крови и цереброспинальной жидкости.

В огромных количествах ХГ вырабатывается при одной из наиболее злокачественных опухолей – хорионэпителиоме (ХЭ), поражающей чаще женщин детородного возраста в различные сроки после беременности и родов. В этих случаях содержание ХГ может на несколько порядков превышать количество гормона в I триместре беременности [47, 59, 60]. Необходимо подчеркнуть, что трофобластические опухоли занимают особое положение среди злокачественных опухолей человека, поскольку возникают из ткани трофобласта, которая наполовину аллогенна для организма за счет наличия 50 % наследственного материала отца. В связи с этим такие опухоли некоторыми исследователями рассматриваются в качестве аллотрансплантата. Однако сам трофобласт при пересадке ведет себя подобно трансплантату генетически совместимых реципиентов, в то время как такая же пересадка эмбриональной ткани приводит к ее полному разрушению. Предполагают, что причиной инвазивного роста трофобласта может служить идентичность АГ ребенка и отца материнским АГ по HLA, (Human Leucocyte Antigens) и системе АВО при отсутствии защитных иммунных реакций со стороны матери. Это подтверждается данными о том, что хорионэпителиома чаще встречается при недостаточном генетическом различии партнеров, при браках среди родственников. Степень гетерогенности наследственного материала больных хорионэпителиомой играет решающую роль в прогнозе этого заболевания.

О зависимости течения хорионэпителиомы от выраженности антигенных различий свидетельствуют факты развития хорионэпителиомы не только у беременных женщин, но и у детей, мужчин, когда из-за отсутствия антигенного материала партнера она растет из тератом, смешанных опухолей эмбрионального происхождения. Отсутствие чужеродного для организма АГ неминуемо приводит таких больных к трагическому исходу: в литературе не описано ни одного случая спонтанной регрессии такой опухоли в отличие от хорионэпителиомы, возникшей после беременности.

Хорионэпителиома чаще развивается через различные сроки после беременности, пузырного заноса, искусственного аборта, и наряду с существованием случаев спонтанной регрессии нередко наблюдается чрезвычайно злокачественное ее течение и раннее метастазирование. Такими фактами объясняется предложение некоторых авторов приравнивать выживаемость больных хорионэпителиомой без метастазов в течение года, например, к 5-летней выживаемости при раке легкого. С позиций последних дискуссий о роли **системы** иммунитета при злокачественном росте [61, 62] и правомочности существования проблемы противоопухолевого иммунитета хорионэпителиома может служить моделью для ответа на вопросы, тревожащие иммунологов, работающих в области экспериментальной и клинической онкологии.

Необходимо отметить, что наряду со столь высокой злокачественностью хорионэпителиома является одной из немногих локализаций опухолей, которая при условии своевременной диагностики и химиотерапевтического лечения

может привести к полному излечению до 95 % случаев при отсутствии метастазов и до 83 % больных с метастазами.

В плане рассматриваемого нами вопроса о гормонах беременности как маркерах опухолевого роста определение ХГ (наряду с ТБГ) – достаточно информативный лабораторный тест в диагностике некоторых форм рака. На определение ХГ у женщин-доноров при пересадке органов настаивают трансплантологи, обнаружившие случаи получения реципиентом вместе с органом клеток хорионэпителиомы, которые метастазировали и приводили к летальному исходу. Иммунологические показатели при хорионэпителиоме, пузырьном заносе, в частности субпопуляционный состав Т-лимфоцитов и их функциональная активность, не имеют существенных особенностей по сравнению с другими локализациями злокачественных опухолей. Обсуждается вопрос о существовании у животных субстанций, подобных человеческому ХГ. Известно, что секреция при беременности ХГ является привилегией человека и приматов. Ранее высказывалось предположение, что у мышей при беременности и опухолевом росте продуцируется ХГ-подобная субстанция [45]. В настоящее время имеются данные [63] о секреции ХГ-подобного вещества аденокарциномой молочной железы крыс (штамм 3230) и другими опухолями животных [51], что свидетельствует о возможном существовании более широкого спектра экспериментальных злокачественных опухолей, продуцирующих ХГ, и, возможно, является одним из доказательств в пользу универсальности ХГ как маркера озлокачествления клетки.

Считается, что опухолевые маркеры в практической онкологии должны отвечать нескольким требованиям: 1) присутствовать или индуцироваться только опухолевой клеткой; 2) концентрация в сыворотке крови или моче должна коррелировать с размером опухоли; 3) обнаруживаться до клинического проявления рецидивов.

Из анализа литературных данных следует, что ХГ (как, впрочем, и другие маркеры) не вполне удовлетворяет всем трем требованиям. В определенной мере, по-видимому, это можно объяснить молекулярной гетерогенностью ХГ. Перспективно использование в онкологической клинике АТ к ХГ и другим опухолевым маркерам для диагностики злокачественных опухолей, рецидивов и метастазов, а также для подавления экспрессии таких маркеров опухолевыми клетками с целью снижения иммуносупрессорного действия и торможения роста опухолей [64].

В США запатентован метод диагностики злокачественных опухолей с помощью антисывороток против β -ХГ, меченных технецием 99-М [65]. Суть метода заключается в следующем: больному внутривенно вводя меченую антисыворотку к ХГ или β -ХГ (в дозе 5–30 мКи на 70 кг массы, чаще 10–20 мКи). АТ накапливаются в опухоли, содержащей ХГ. С помощью сканирующей аппаратуры по γ -излучению определяется биораспределение меченого соединения, что позволяет выявить наличие злокачественных клеток в организме.

Представляет интерес изучение влияния АС к ХГ на злокачественный рост. В экспериментах на мышах с карциномой Эрлиха В.М. Дильман и соавт. [66] установили, что при введении АС к ХГ с высоким титром рост первичной опухоли тормозился на 30–45 %, а с низким титром — на 21 %. Авторы объясняют это снижением способности опухолевых клеток к имплантации и росту.

Экспериментальное и клиническое подтверждение находит мысль об иммунизации организма ХГ с целью выработки АТ *in vivo*, а не об их пассивном введении. При этом для повышения эффективности иммунизации и иммуногенности используется конъюгация ХГ с гаптенами или полноценными АГ. Чаще с такой целью применяют столбнячный анатоксин [67]. Выбор исследователей обусловлен несколькими причинами. Известно, что столбнячный анатоксин может вызвать длительный иммунитет, его разрешается вводить человеку. При таком способе иммунизации вырабатываются антитела как против β -ХГ, так и против столбнячного анатоксина. Такое соединение является иммуногенным не только для человека, но и для многих млекопитающих.

Kellen и соавт. [63] исследовали влияние предварительной иммунизации конъюгата β -ХГ и столбнячного анатоксина на рост и развитие легочных метастазов аденокарциномы молочной железы крыс (штамм 3230). Животные получали инъекцию конъюгата один раз в неделю в количестве 1,3 мкг в течение 3 недель. Через 2 недели после последней иммунизации крысам внутривенно перевели аденокарциному молочной железы, у которой обнаружена экспрессия ХГ-подобной субстанции. В качестве контрольных использовали группу животных, не получавших конъюгат, а также группу, которой вводили только столбнячный анатоксин. В результате исследования было обнаружено, что все контрольные животные имели множественные легочные метастазы, а у животных группы опыта они были единичны. Некоторые из таких животных были живы в течение 6 мес без признаков легочной патологии.

Появляются работы по применению АС и к другим опухолевым маркерам как в эксперименте, так и в клинике: АТ против α -фетопротеина применили на фоне химиотерапии у 14 неоперабельных больных с гепатоцеллюлярным раком. Продолжительность жизни таких больных составила от 8 до 96 недель. Следует учесть, что это были неоперабельные больные [68].

Ниже мы представляем собственные данные о влиянии антисывороток к ХГ на рост некоторых экспериментальных опухолей.

7.4. Влияние ХГ и антител к ХГ на рост и метастазирование некоторых экспериментальных опухолей

Выше приведены данные, согласно которым механизмы действия на систему иммунитета одного из важнейших опухолевых и

плацентоспецифических маркеров – ХГ разнообразны и неоднозначны. Чаще превалирует супрессивное действие ХГ на иммунокомпетентные клетки. Не исключается, что продуцируемый как трофобластом, так и опухолевыми клетками ХГ способствует защите плода от иммунной реакции материнского организма, а опухоли – от организма опухоленосителя и тем самым усиливает рост и прогрессию злокачественных клеток. Мы изучали влияние ХГ на рост и метастазирование карциномы Льюис у мышей линии С57В1/6. Как известно, карцинома Льюис представляет собой интересную для экспериментальной онкологии перевивную модель злокачественной опухоли, вторично метастазирующую в легкие животных. Перевивку опухоли осуществляли с помощью трипсинизированных опухолевых клеток в количестве 250 000–300 000 на мышь, подкожно, в правую заднюю конечность. Через 21–28 сут с момента перевивки животных декапитировали. Исследовали следующие параметры: массу животных, массу первичной опухоли, количество метастазов в легких, объем метастатической массы в условных единицах, который определялся следующим подсчетом произведением количества метастазов на их диаметр в миллиметрах и на индекс 0,52 [69].

Первая серия экспериментов была проведена на 30 мышах С57В1/6, которых разделили на две группы по 15 животных в каждой. Животным первой группы после перевивки карциномы Льюис ежедневно в течение 3 недель вводили по 25 ЕД ХГ отечественного производства. Животным второй группы, служившим контролем, после перевивки вводили физиологический раствор. При оценке влияния ХГ на организм у мышей группы опыта отмечено

Таблица 12. Влияние ХГ на рост и метастазирование карциномы Льюис у мышей С57В1/6

Исследуемая группа	Масса				Число метастазов	Объем метастатической массы, усл. ед.
	мышь, г	яичников, мг	матки, мг	опухоли, г		
ХГ (n = 15)	21,0±0,37	9,86±0,29	22,9±2,59	5,28±0,31	10,6±2,55	84,3±22,3
Контроль (физиологический раствор, n = 15)	20,0±0,29	8,41±0,44	21,9±2,29	4,36±0,33	12,0±2,0	77,7±27,7
		p<0,05		p<0,05		

увеличение массы яичников, что свидетельствовало о гонадотропном эффекте ХГ. При оценке влияния ХГ на опухолевый рост обнаружено, что использованная доза препарата привела к достоверному увеличению роста первичной опухоли (табл. 12) и практически не отразилась на процессах метастазирования.

Наличие стимулирующего рост опухоли влияния ХГ послужило основанием для проведения нами работы по нейтрализации предполагаемой

продукции опухолевыми клетками ХГ-подобной субстанции. Мы остановились на методе иммунонейтрализации ХГ с помощью антисывороток против ХГ. С этой целью иммунизировали трех самок кроликов породы шиншилла массой 2,5–3,0 кг отечественным официальным препаратом ХГ. Иммунизацию проводили подкожно в область паховых лимфоузлов путем введения 3000 МЕ ХГ с полным адьювантом Фрейнда (Difco, USA). Всего проведено 7–8 иммунизации с интервалом 7–10 сут. После 6-й иммунизации был сделан перерыв на 2 мес. Последнюю иммунизацию осуществляли внутривенным введением 3000 МЕ ХГ. Через неделю после последней иммунизации исследовали титр АС в реакции торможения пассивной гемагглютинации, который у всех кроликов был доведен до $1 \cdot 5100$. Кроликов обескровливали, полученную АС инактивировали 30 мин при 56°C , адсорбировали сывороточным альбумином человека из расчета 250 мкг/мл сыворотки, к сыворотке добавляли мертиолят натрия, ампулировали и сохраняли в холодильнике при -20°C .

Для выполнения поставленных задач нам необходимо было ответить на ряд вопросов. Первый из них – возможно ли применение АС к ХГ человека у лабораторных животных? Будут ли АТ против ХГ человека реагировать с ХГ-подобной субстанцией мышей? Для решения вопроса мы остановились на модели предупреждения возникновения беременности у мышей с помощью введения АС к ХГ человека.

Полученную АС к ХГ использовали для проведения эксперимента по предупреждению возникновения беременности у белых беспородных самок-мышей. Эксперименты проведены на 40 мышах в возрасте 2–2,5 мес, у которых на протяжении двух недель с целью изучения эстрального цикла исследовали вагинальные мазки. Мышей разделили на 4 группы. Мышам 1-й и 2-й групп вводили АС к ХГ с титром $1 : 5$ (1-я группа) и $1 : 50$ (2-я группа), а мышам 3–4-й групп вводили аналогичные количества и разведения нормальной кроличьей сыворотки.

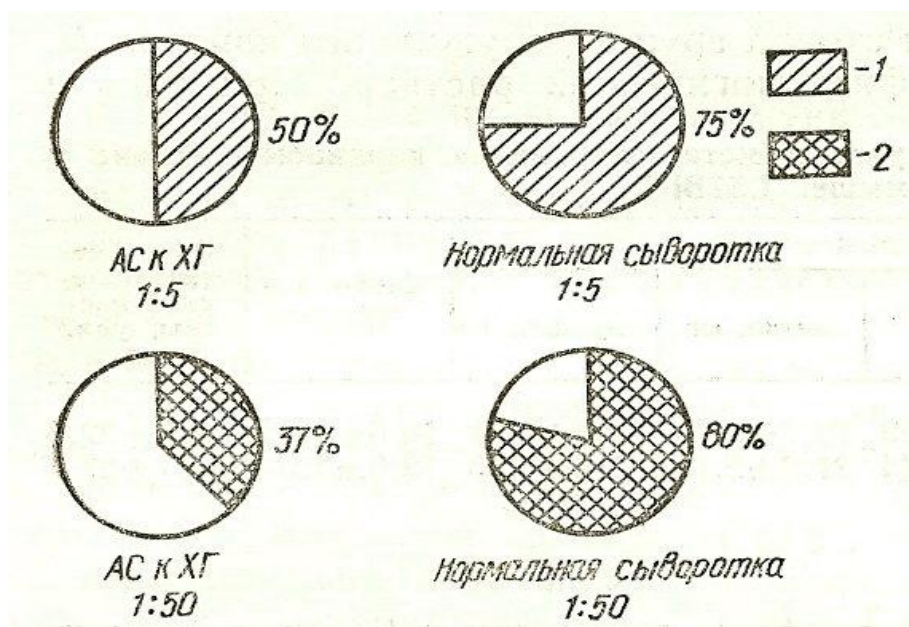


Рис. 20. Влияние антисыворотки к ХГ на возникновение беременности у беспородных мышей:

1 – беременные мыши после введения сывороток в разведении 1 : 5; 2 – после введения сывороток в разведении 1 : 50

Через сутки после начала введения к самкам были подсажены самцы. Обнаружено, что беременность возникла у 50 % мышей 1-й и 2-й групп и соответственно у 56 и 71 % 3-й и 4-й групп. Когда исследованных мышей разделили на подгруппы в зависимости от ритмичности эстрального цикла и проанализировали антифертильный эффект АС к ХГ только в группах животных с нормальным половым циклом, то оказалось, что беременность возникла у 50 и 37 % мышей, которым вводили АС в разведениях 1 : 5 и 1 : 50 и соответственно у 75 и 80 % мышей, которым вводили аналогичные разведения нормальной кроличьей сыворотки (рис. 20).

Таким образом, более эффективной оказалась АС в разведении 1 : 50, которая более чем в два раза снизила возникновение беременности у мышей. Результаты эксперимента свидетельствуют, что антитела к ХГ человека могут связываться с ХГ-подобной субстанцией мышей и антисыворотку к ХГ человека можно использовать в эксперименте для нейтрализации предполагаемой продукции экспрессируемого опухолевыми клетками ХГ.

В следующей серии экспериментов мы исследовали влияние АС к ХГ в различных разведениях и режимах введения на опухолевый рост в эксперименте. В работе использовали АС к ХГ с титром 1 : 5120 в разведениях 1 : 10 и 1 : 100. Введение АС начинали на следующие сутки после перевивки карциномы Льюис мышам С57В1/6. Было обнаружено, что раннее введение АС к ХГ оказало некоторое стимулирующее влияние на рост первичной опухоли

($p > 0,05$), а также привело к увеличению количества метастазов в легких мышей ($p < 0,05$). В то же время у мышей, которым ежедневно в течение 18 сут вводили АС к ХГ в разведении 1 : 100, замедлялся рост метастазов (рис. 21). Количество крупных метастазов с диаметром 4–6 мм было в два раза меньше, чем у животных контрольной группы.

Учитывая полученные результаты в дальнейшем для проведения исследований по нейтрализации предполагаемой секреции ХГ-подобных субстанций у опухолевых животных, мы использовали то оптимальное разведение АС, которое оказало выраженный антифертильный эффект у

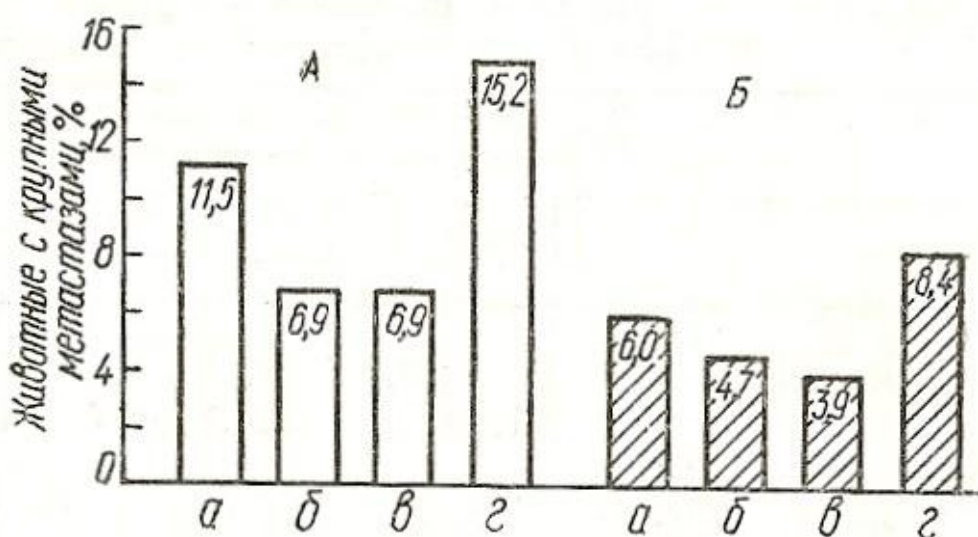


Рис. 21. Влияние антисыворотки к ХГ на метастазирование карциномы Льюис у мышей С57В1/6:

а – АС к ХГ 1 : 10, введение два раза в неделю, б – АС к ХГ 1 : 100, введение два раза в неделю, в – АС к ХГ 1 : 100, ежедневное введение; г – контроль; А – животные с метастазами диаметром 4–6 мм; Б – диаметром 5–6 мм

беспородных мышей, т. е. 1 : 50. Кроме того, изменили режим введения АС – два раза в сутки с целью поддержания определенного уровня АТ в сыворотке крови животных. Эффект раннего введения АС к ХГ изучили на другом штамме экспериментальных опухолей – карциноме молочной железы, метастазирующей в легкие мышей F1 (С57В1/6 Х А). При ежедневном в течение 18 сут двухразовом введении таким мышам АС к ХГ в разведении 1 : 50 были получены следующие данные (табл. 13).

Таблица 13. Влияние раннего введения АС к ХГ на рост карциномы молочной железы мышей F1 (C57Bl/6 X A)

Исследуемая группа	Масса				Число метастазов	Объем метастатической массы, усл. ед.
	мышь, г	яичников, мг	матки, мг	опухоли, г		
АС (n = 15)	21,9±0,6	8,83±0,71	19,1±1,9	5,45±0,32	11,6±2,0	27,9±7,7
Контроль (нормальная кроличья сыворотка, n = 13)	22,0±0,3	12,73±1,38 p<0,02	23,0±2,6	4,36±0,35 p<0,05	12,0±1,8	64,0±15,7 p<0,05

Введение антисыворотки к ХГ в указанном режиме привело к существенному уменьшению массы яичников ($p<0,02$), т. е. оказало антигонадотропный эффект. Влияние раннего (на 2-е сутки после перевивки) введения антисыворотки на опухолевый рост было неоднозначным – наблюдалась стимуляция роста первичной опухоли ($p<0,05$) и наряду с этим достоверное торможение роста метастазов в объеме ($p<0,05$).

В дальнейшем мы исследовали влияние АС к ХГ на опухолевый процесс при наличии сформировавшихся опухолевых узлов – через 5 сут после перевивки опухоли. С этой целью 40 мышей

Таблиц 14. Влияние позднего (через 5 сут после перевивки) введения АС к ХГ на рост и метастазирование карциномы Льюис у мышей C57Bl/6

Исследуемая группа	Масс			Число метастазов	Объем метастатической массы, усл. ед
	мышь, г	селезенки, мг	опухоли, мг		
АС к ХГ 1 : 50 (n = 15)	20,6±0,2	210,8±10,3	3,82±0,21	7,55±0,77	15,2±8,3
Контроль (нормальная кроличья сыворотка, 1 : 50 n = 20)	21,4±0,3	228,8±8,7	4,64±0,32 p<0,05	18,3±1,91 p<0,001	77,6±27,2 p<0,05

C57Bl/6 после подкожной перевивки карциномы Льюис разделили на две группы по 20 животных в каждой. Мышам 1-й группы ежедневно 2 раза в сутки в течение 2 недель вводили АС к ХГ с титром 1 : 1280 в разведении 1 : 50. Животные контрольной группы получали нормальную кроличью сыворотку в аналогичном разведении (табл. 14).

В результате эксперимента было установлено, что в случае более

позднего с момента перевивки начала введения АС к ХГ наблюдалось существенное торможение роста первичной опухоли, высокодостоверное уменьшение количества имплантированных в легких мышей метастазов и значительное торможение их роста. Объем метастатической массы в группе опыта был в 5 раз меньше, чем в контрольной группе (рис. 22). Таким образом, АС к ХГ в зависимости

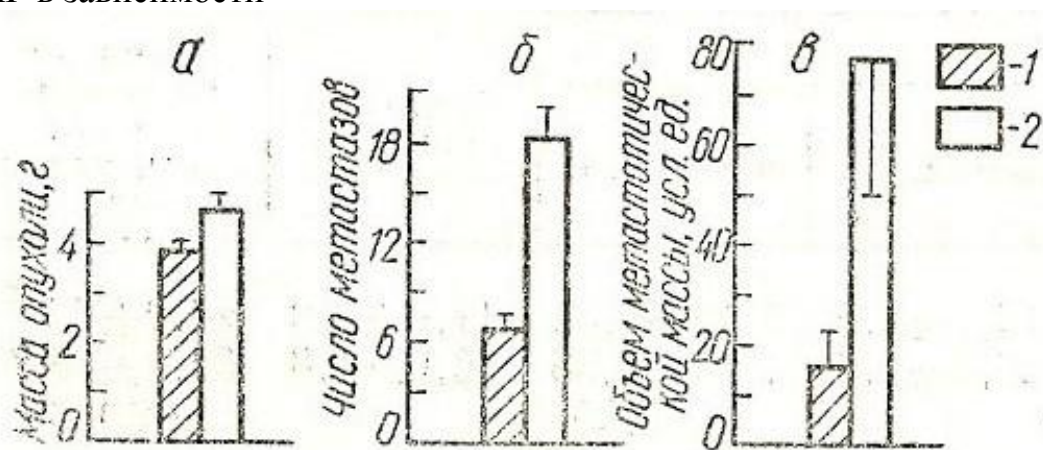


Рис. 22. Противоопухолевое действие антисыворотки к ХГ на карциному Льюис у мышей С57В1/6:

а – масса первичной опухоли б – число метастазов в легких; в – объем метастатической массы; 1 – АС к ХГ 1: 50, введение два раза в сутки с 5-х суток после перевивки; 2 – нормальная кроличья сыворотка 1 : 50, введение два раза в сутки с 5-х суток после перевивки

от сроков начала ее введения в организм оказывала различное влияние на опухолевый рост в эксперименте. Введение ксеногенной сыворотки в период инокуляции опухолевых клеток ускоряло рост первичной опухоли, но оказывало ингибирующее влияние на процесс метастазирования. Более оптимально, по нашим данным, отсроченное от момента перевивки на 5 сут введение АС, которое вызывало торможение роста первичной опухоли и метастазов карциномы Льюис у мышей С57В1/6. Учитывая тот факт, что иммунонейтрализацию мы проводили с помощью кроличьих ксеногенных АТ, интересно было исследовать возможность усиления противоопухолевого эффекта, используя для иммунонейтрализации ХГ-подобных субстанций аутологичные антитела.

В следующей серии опытов мышей линии С57В1/6 трехкратно с интервалом 7 сут иммунизировали хориогонином с полным адьювантом Фрейнда, а через 2 недели после последней иммунизации

Таблица 15. Влияние прсимунизации ХГ с адьювантом Фрейнда на рост и метастазирование карциномы Льюис у мышей С57В1/6

Исследуемая группа	Масса				Число метастазов	Объем метастатической массы, усл. ед.
	мышь, г	яичников, мг	матки, мг	опухоли, г		
ХГ + адьювант (n = 15)	19,9±0,6	10,3±0,44	22,1±2,2	3,85±0,32*	6,13±1,48*	46,3±13,8
Адьювант Фрейнда (n = 15)	21,1±0,5	–	–	5,96±0,25**	12,4±0,96**	53,5±22,8
Контроль (физиологический раствор, n = 15)	20,3±0,2	8,4±0,44	21,9±2,2	4,36±0,33	12,0±2,0***	77,7±27,7

*, **, *** p<0,01.

перевили карциному Льюис, т. е. к моменту роста и метастазирования карциномы в организме мышей должны были образовываться аутологичные антитела к ХГ, которые взаимодействовали бы с ХГ-подобной субстанцией опухолевыми клетками ХГ вводили в количестве 2,5 ЕД (или 1 мкг по белку) в три точки передней поверхности живота, подкожно, всего в объеме 0,1 мл на мышь (0,05 мл физиологического раствора + 0,05 мл адьюванта Фрейнда).

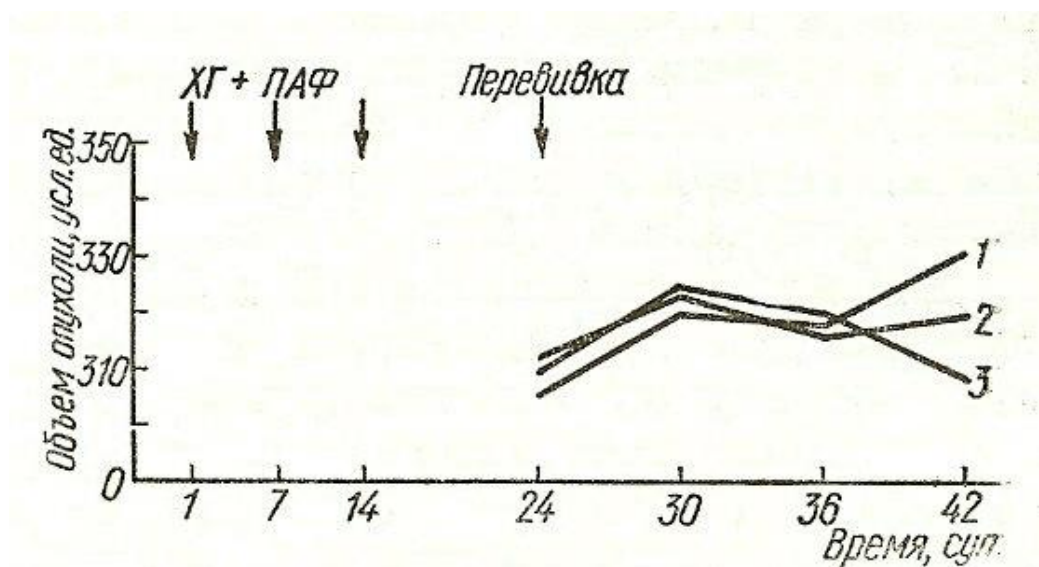


Рис. 23. Динамика роста первичной карциномы Льюис у мышей С57В1/6 после индукции антител к ХГ:

1 – полный адьювант Фрейнда; 2 – физиологический раствор; 3 – ХГ – хорионический гонадотропин+ПАФ

Через 21 сут с момента перевивки мышей декапитировали и определяли массу животных, матки и яичников, массу опухоли, число метастазов в легких и объем метастатической массы (табл. 15). В результате исследования обнаружено существенное торможение роста первичной опухоли у мышей группы опыта (рис. 23), а также числа метастазов в легких ($p < 0,001$) по сравнению с группой мышей, иммунизированных полным адьювантом Фрейнда без ХГ при отсутствии заметного влияния на увеличение метастазов в объеме (рис. 24). При сравнении показателей мышей опытной группы с показателями животных, которым вводили физиологический раствор (растворитель ХГ), обнаружено существенное снижение числа метастазов в легких. Кроме того, отмечалась выраженная тенденция к возрастанию массы яичников, т. е. наличие гонадотропного эффекта от введения ХГ. При сравнении противоопухолевого эффекта, полученного в результате пассивной иммунизации (введения животным ксеногенных антител к ХГ) или активной индукции аутологичных антител, более выраженное торможение роста первичной опухоли и метастазирования отмечалось в первом случае. Возможно, оптимальным воздействием на всех этапах роста карциномы Льюис

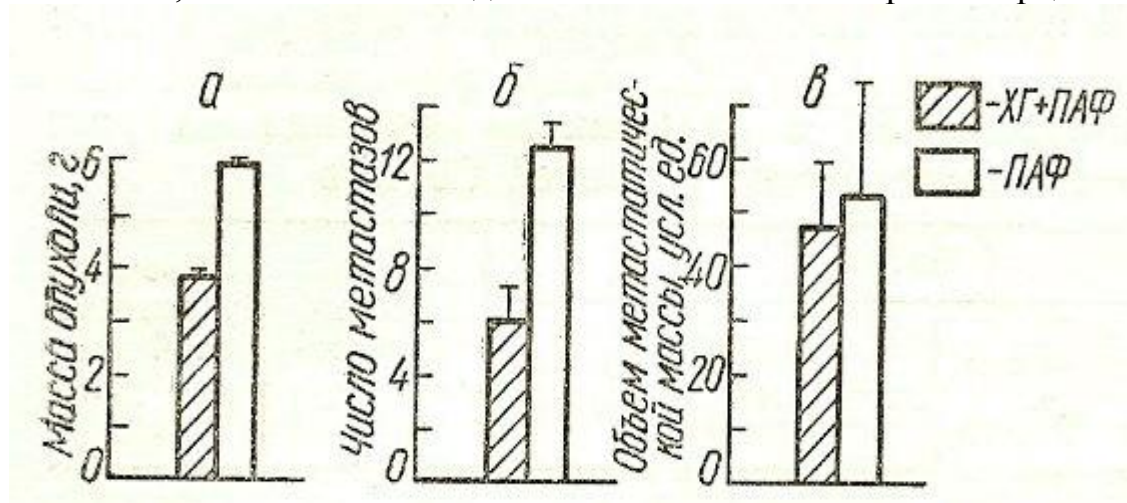


Рис. 24. Влияние индукции антител к ХГ на рост и метастазирование карциномы Льюис мышей С57В1/6

а – масса первичной опухоли; б – число метастазов в легких; в – объем метастатической массы

у мышей может быть комбинация этих двух способов иммунонейтрализации, дополнительная иммунизация ХГ с адьювантом Фрейнда и применение более специфичной β -антисыворотки, т. е. АС к β -субъединице ХГ или МАТ к β -ХГ.

Следующим этапом нашей работы было получение антисыворотки к β -субъединице ХГ. β -Субъединица получена в лаборатории биохимии белковых гормонов Института экспериментальной эндокринологии и химии гормонов АМН СССР, ст. науч. сотр. канд. хим. наук В.С. Карасевым. Кроликов иммунизировали 100 мкг β -ХГ с полным адьювантом Фрейнда, подкожно, в 3–4 точки, в область подмышечных и паховых лимфоузлов, а также в 4 точки спины. Интервал между иммунизациями составлял 10–14 сут. Титры

полученной АС к β -ХГ составляли 1 : 1280 и 1 : 2560.

Для изучения влияния АС к β -ХГ на опухолевый рост мы воспользовались приближенным к клиническим условиям вариантом – перевивкой метастазирующей карциномы Льюис, удалением первичной опухоли после ее сформирования и исследованием влияния АС на процесс метастазирования при отсутствии основного опухолевого очага. Мышей С57В1/6 оперировали через 11–12 сут после перевивки карциномы Льюис под кожу в правый бок. Через 2 сут после операции животных разделили на 5 групп, которым ежедневно вводили: 1) ХГ в количестве 50 ЕД на мышшь; 2) физиологический раствор (растворитель ХГ); АС к ХГ; 4) АС к β -ХГ; 5) нормальную кроличью сыворотку. Через 2 недели после операции животных декапитировали. Оказалось, что несмотря на тщательность оперативного вмешательства, у всех оперированных животных на месте удаленной опухоли возникли рецидивы.

При анализе результатов исследования обнаружено, что введение ХГ после удаления первичной опухоли существенно не повлияло на метастазирование карциномы Льюис в легких мышей, однако стимулировало рост рецидива ($p > 0,05$) (табл. 16). Некоторое торможение роста метастазов в объеме, по-видимому, можно объяснить не столько воздействием ХГ, сколько усилением под его влиянием роста рецидивов (по типу конкомитентного иммунитета), которые оказались наибольшими в этой группе животных. АС к ХГ оказала ингибирующее влияние как на рост рецидивов ($p < 0,02$), так и на процесс метастазирования. Причем действие антисыворотки к ХГ было более выраженным, чем антисыворотки к β -субъединице ХГ.

Таблица 16. Влияние ХГ, АС к ХГ и АС к β -ХГ на метастазирование карциномы Льюис у мышей С57В1/6 после удаления первичной опухоли

Исследуемая группа	n	Масса		Число метастазов	Объем метастатической массы, усл. ед
		мышь, г	рецидива, г		
ХГ	11	19,2±0,2*	3,52±0,44	13,0±3,8*	23,5±8,8
Контроль (физиологический раствор)	10	18,0±0,4**	2,82±0,54	13,5±3,1**	47,3±17,9
АС к ХГ (1 : 50)	11	19,1±0,2	1,69±0,36*	4,81±0,95***	10,3±4,2
АС к β -ХГ (1 : 50)	11	19,0±0,7	2,60±0,38**	8,9±3,42	10,5±2,9
Контроль (нормальная кроличья сыворотка, 1 : 50)	12	18,8±0,4	3,25±0,44***	8,5±2,3	15,2±7,6

*, ** $p < 0,05$; *** $p < 0,01$.

Таким образом, в результате исследований установлено, что ХГ, рассматриваемый в качестве опухолевого и плацентоспецифического маркера, в примененных нами дозах в большей степени оказывал стимулирующее влияние на рост первичной опухоли, а также возникшего на месте ее удаления рецидива, чем на метастазирование карциномы Льюис у мышей С57В1/6.

Проведенные нами эксперименты свидетельствуют о целесообразности применения при злокачественном росте антисыворотки к ХГ, которая в зависимости от дозы и сроков ее применения может оказывать противоопухолевый эффект как на рост первичной опухоли, так и на процесс метастазирования. Заслуживает внимание разработка способов иммунонейтрализации опухолевых маркеров с помощью специфических антител.

7.5. Использование антисывороток к маркерам беременности и рака для получения антифертильного эффекта

Считаем необходимым остановиться еще на одном очень интересном и важном направлении использования антисывороток к белкам беременности – разработке иммунологических способов контрацепции – прерывания имплантации, предотвращения транспорта сперматозоидов и оплодотворения. Известны способы получения антифертильных вакцин на основе β -субъединицы ХГ и АГ блестящей оболочки яйцеклетки. Не исключено, что найдут применение АС и к другим белкам беременности. Talwar и соавт. [67] с целью прерывания беременности у людей и животных использовали конъюгат β -ХГ+столбнячный анатоксин. Полученная антисыворотка оказалась высокоспецифичной. Она не реагировала перекрестно с гормонами роста, ФСГ и ЛГ. Ее применение не вызывало изменений менструального цикла у женщин. Биопсия эндометрия, исследование вагинальной цитологии и уровня прогестерона сыворотки крови в секреторной фазе цикла свидетельствовали об овуляции. С помощью иммунофлюоресцентного метода установлено, что АТ не реагировали с тканями других органов человека – гипофизом, щитовидной железой, паращитовидными железами, надпочечниками, яичниками.

Иммунологическое действие АС к β -ХГ проверили на мышах, кроликах, козах и обезьянах. АТ вступили в реакцию как с β -ХГ, так и с целым ХГ; при выяснении механизма действия обнаружили, что АТ препятствовали связыванию меченного ^{125}I -ХГ с рецепторами на поверхности желтого тела. Средняя продолжительность циркуляции АТ у иммунизированных пациенток составила один год. Количество циркулирующих АТ было достаточным для инактивации 5000 ЕД ХГ. Это было проверено по связыванию ХГ с АТ в крови. Хочется надеяться, что высокая эффективность и безопасность применения АС против β -ХГ в целях предупреждения возникновения беременности послужит

основанием более широкого использования подобного рода сывороток для диагностики злокачественных опухолей, а возможно, и в комплексном лечении онкологических больных.

7.6. Трофобластический β -глобулин при беременности и злокачественном росте

Из эмбриональных и плацентарных белков, биосинтез которых возобновляется при злокачественном росте, важная роль принадлежит трофобластическому β_1 -гликопротеину (ТБГ), обнаруженному исследователями в β -глобулиновой зоне иммуноэлектрофореграммы крови беременных женщин [70]. Впервые он был выделен, очищен и идентифицирован Ю.С. Татариновым [71].

ТБГ – гликопротеин с молекулярной массой 90–120 кД, синтезируется синцитиотрофобластом, состоит из α - и β -субъединиц [71, 72]. Некоторые исследователи относят ТБГ к белкам беременности с неизвестной функцией. Однако в последнее десятилетие появились факты, раскрывающие некоторые биологические особенности ТБГ. Обнаружены различия биохимических свойств ТБГ, ЛГ и других гормонов. Установлено важное преимущество ТБГ перед ХГ. Оно заключается в отсутствии перекрестных реакций ТБГ с другими белками и гормонами, что позволяет полностью исключить ложноположительные результаты. В некоторых случаях обнаружение ТБГ является единственным доступным и неоспоримым показателем беременности или наличия хорионэпителиомы. У ТБГ не обнаружена гормональная или ферментативная активность. Имеются данные о его участии в транспорте железа, но этот факт оспаривается другими исследователями. Предполагают, что железо в молекуле ТБГ выполняет роль связывающего звена, удерживающего α - и β -субъединицы ТБГ.

Высказывается предположение, что основная функция ТБГ при беременности – транспорт полипептидов соматомединов, опосредующих действие соматотропного гормона (СТГ) в крови беременных. Доказано, что ТБГ необходим для нормального течения беременности. При этом содержание ТБГ прогрессивно возрастает до 36-й недели беременности, достигая 147 нг/л сыворотки крови. Перед родами количество ТБГ резко уменьшается. Снижение концентрации ТБГ характерно также для осложненной беременности. К концу нормальной беременности в сыворотке крови содержание ТБГ может увеличиваться в 30 раз, при этом в плацентарной ткани его уровень возрастает незначительно [73]. При снижении количества ТБГ в сыворотке крови более чем в 6 раз наступает прерывание беременности [72].

Обнаружено, что ТБГ, как ХГ и другие специфические белки беременности, обладает иммуносупрессивным действием в системе мать – плод. В исследованиях, проведенных *in vitro* с очищенным препаратом ТБГ, выделенным из сыворотки крови беременных женщин, наблюдалось подавление пролиферативного ответа лимфоцитов под влиянием ФГА и митогена лаконоса [74]. Влияние ТБГ на реакцию бласттрансформации лимфоцитов зависело от его дозы. Доза 3 мкг/мл не снижала пролиферативного

ответа лимфоцитов, активированных аллогенными клетками или митогенами. Доза 6 мкг/мл оказывала ингибирующий эффект в культуре лимфоцитов, стимулированных ФГА, а доза 60 мкг/мл практически тотально подавляла пролиферативный ответ лимфоцитов. Особо следует подчеркнуть, что даже максимальные концентрации ТБГ (60 мкг/мл) не влияли на жизнеспособность лимфоцитов. Примененные авторами концентрации ТБГ физиологичны для II триместра беременности, в III триместре они значительно выше. Имеются данные, что торможение пролиферативного ответа лимфоцитов на ФГА в присутствии ТБГ не происходит, когда белок и лектины добавляют к клеткам одновременно, а обнаруженное высокое сродство между ТБГ и ФГА позволило некоторым авторам усомниться в достоверности иммуносупрессивных свойств ТБГ.

Методом ракетно-линейного иммуноэлектрофореза с адсорбцией сыворотки крови беременных и небеременных женщин антисывороткой против легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов выявлено свойство ТБГ (и других белков беременности) образовывать комплексы с иммуноглобулинами. Обнаруженный механизм, возможно, является важным звеном в регуляции иммунологических взаимоотношений между организмом матери и плода [75].

ТБГ оказывал существенное влияние на механизм активации клеток-мишеней (в частности, тучных клеток) аллергических реакций, блокируя их. Это подтвердило предположение авторов [76] о наличии рецепторов к ТБГ у таких клеток. Рецепторы к ТБГ обнаружены также на лимфоцитах беременных с помощью реакции розеткообразования субпопуляции Т-лимфоцитов с эритроцитами быка, сенсibilизированных ТБГ (60 мкг/мл). Максимальное количество таких клеток определялось в I триместре беременности, т. е. практически все Т-лимфоциты (99,7 %) несли на своей поверхности – рецепторы к ТБГ. Во II и III триместрах их относительное количество составляет соответственно 59,6 и 19,4 % по сравнению с 12,8 % таких клеток у небеременных женщин. При анализе субпопуляционного состава Т-лимфоцитов оказалось, что с увеличением срока беременности значительно возрастало количество Т-клеток (клеток с Fc-рецепторами к IgG), которые обладают супрессорной активностью.

Известно, что один из наиболее достоверных критериев функциональной активности иммунокомпетентных клеток – продукция лимфокинов. При изучении влияния ТБГ на выработку фактора, угнетающего миграцию макрофагов (ФУММ), индуцированного ФГА, обнаружено [78], что ТБГ ингибировал его продукцию лишь в I триместре беременности и только начиная с дозы 20 мкг/мл. У небеременных женщин ТБГ оказывал противоположное влияние на продукцию MIF. Такие данные позволили предположить, что ТБГ может влиять и на клетки-продуценты MIF. Возможно, направленность действия ТБГ неоднозначна и зависит и от состояния иммунокомпетентных клеток, и от условий его взаимодействия с клеткой. Допускается мысль о способности ТБГ как активировать клетки-супрессоры, так и блокировать поверхностные рецепторы лимфоцитов.

При сравнительном изучении влияния сыворотки крови беременных женщин и очищенного препарата ТБГ на индуцированный ФГА пролиферативный ответ лимфоцитов доноров, а также продукцию ФУМ-Л

(фактора, угнетающего миграцию лейкоцитов) установлено, что с увеличением концентрации очищенного препарата ТБГ его потенцирующее влияние значительно превышало действие сыворотки крови беременных, содержащих аналогичную дозу этого белка [79]. Обращает на себя внимание то, что наиболее выраженным ингибирующим эффектом обладают сыворотки крови беременных I триместра по сравнению с аналогичным показателем II и III триместров. На наш взгляд, в этом случае необходимо учитывать, что в I триместре беременности в сыворотке крови достаточно высоки также концентрации ХГ и других белков, обладающих иммуносупрессивным действием. Кроме того, возможно влияние блокирующих факторов, модифицирующих действие ТБГ и ХГ на фоне различного гормонального статуса. Предполагают, что различное соотношение специфических белков в разные периоды беременности может обеспечивать оптимальный уровень активации или супрессии иммунной системы.

ТБГ обладает высокой видовой специфичностью. Антисыворотка против ТБГ человека не дает перекрестных иммунологических реакций с сыворотками крови беременных кроликов, крыс, мышей, хомяков, морских свинок, собак. Считали, что иммунологически сходные аналоги ТБГ существуют только у обезьян. Однако в лаборатории Ю.С. Татарина [71] обнаружили, что в крови беременных животных, имеющих гемохориальный тип плаценты, содержатся аналоги ТБГ, близкие к нему по функциональным и физико-химическим свойствам. Обнаружено [80] несколько форм этого белка, которые различаются углеводным составом и конформацией углеводных радикалов. Имеются данные о наличии у ТБГ от одной до трех антигенных детерминант, полностью или частично сходных между собой. Специфический β_1 -глобулин обнаруживается также с 6–7-х суток беременности в сыворотке крови крыс, достигая максимума к концу беременности и через 3–4 сут после родов исчезает из кровотока самки. Местом его биосинтеза является плацента. Другие органы беременных крыс (печень, почки, сердце, селезенка), не синтезируют специфический β_1 -глобулин [81]. Антисыворотка против ТБГ при введении беременным макакам вызывала у них аборт, а активная иммунизация ТБГ этих животных предотвращала возникновение беременности.

Как известно, в период беременности в организме секретируется целый спектр различных плацентарных белков. Представляют интерес исследования совместного действия нескольких из них, у которых обнаружена иммуносупрессивная активность. Радиометрическим способом вначале изучили раздельно влияние ТБГ и ХАГ (хорионического α_2 -микроглобулина – протеида, секретирующегося плацентой в амниотическую жидкость) на пролиферативный ответ лимфоцитов доноров, стимулированных ФГА, *Con A* и митогеном лаконоса. Обнаружили дозозависимое снижение пролиферативного ответа лимфоцитов в присутствии физиологических концентраций ТБГ и усиление *Con A*-индукции клеток-супрессоров. ХАГ не оказывал заметного влияния на эти процессы. Однако при исследовании совместного действия ТБГ и ХАГ на РБТ с ФГА наблюдалась не только отмена ингибирующего эффекта ТБГ, но даже некоторое стимулирующее влияние такой смеси. Авторы высказали предположение об отсутствии подавляющего влияния комплекса фетоплацентарных факторов на деление клеток, обладающих высокой

пролиферативной активностью, что, как известно, характерно, кроме эмбриона, для опухолевых клеток. При работе с разными сериями ХАГ получили неоднозначные результаты, что довольно характерно для маркеров, общих для беременности и рака, изменение биологических свойств которых зачастую зависит от степени чистоты препарата [82]. Аналогичные результаты получены теми же исследователями при изучении совместного влияния ТБГ и ХАГ на пролиферацию злокачественных фибробластов. Результаты исследования позволили высказать предположение, что взаимодействие различных фетоплацентарных факторов при беременности или аналогичных опухолевых маркеров при канцерогенезе лежит в основе одного из механизмов защиты интенсивно пролиферирующих эмбриональных и опухолевых тканей [83].

Вне периода беременности ТБГ появляется в значительных количествах при хорионэпителиоме, пузырьном заносе, а также у больных с солидными злокачественными опухолями: при раке яичника, легкого, молочной железы, желудочно-кишечного тракта. Высокая специфичность, отсутствие ложноположительных реакций позволяют надеяться на более широкое использование ТБГ для диагностики как беременности, так и злокачественных опухолей. Иммунохимическая неидентичность ХГ и ТБГ позволяет определять последний независимо от уровня ХГ. Эта особенность делает более достоверным определение ТБГ у больных с трофобластическими опухолями. Однако известны и ТБГ-негативные трофобластные опухоли, при которых ТБГ не секретируется, а возможно, по каким-либо причинам не определяется.

7.7. Плацентарный лактоген человека при беременности и злокачественном росте

В литературе плацентарный лактоген человека (ПЛЧ) известен под несколькими названиями – хорионический соматомаммотропин (ХСМТ), хорионический лактогенный соматотропный гормон, (ХЛСГ). По биологическому, химическому и иммунологическим свойствам он близок к гормону роста передней доли гипофиза и пролактину [84]. ПЛЧ выделен из плаценты в 1956 г., это белок с молекулярной массой 21 кД, он включает 190 аминокислотных остатков, из которых 160 такие же, как у ХГ.

С помощью иммунофлюоресцентных методов в электронно-микроскопических срезах плаценты I триместра беременности и доношенной плаценте обнаружено, что ПЛЧ локализуется в мелких гранулах (0,12–0,25 мкм) в отличие от ХГ, который располагается в комплексах крупных гранул (0,4–1,2 мкм), т. е. эти гормоны находятся в двух морфологически различных типах секреторных гранул [85].

Обнаружено, что под действием ПЛЧ усиливается липолиз в организме матери, вследствие чего значительная часть ее энергетических потребностей удовлетворяется за счет жиров, а глюкоза сберегается для питания плода [86]. У небеременных женщин количество ПЛЧ составляет около 0,5 мкг/мл. На 5–6-й неделе беременности количество ПЛЧ в среднем $36 \pm 4,7$ нг/мл, на 7–8-й – $263 \pm 37,7$, а на 13–14-й – уже 1524 ± 113 нг/мл [84]. Обращает на себя внимание

вариабельность содержания ПЛЧ у разных женщин в одни и те же периоды беременности. При двойне уровень ПЛЧ достигает 20 мкг/мл, т. е. в 2–3 раза превышает его содержание при одноплодной беременности. Количество ПЛЧ повышено также у беременных с диабетом (до 11 мкг/мл), при несовместимости по резус-фактору крови. Уровень ПЛЧ зависит от массы плаценты и плода. В амниотической жидкости его содержится в 15–20 раз меньше, чем в сыворотке беременных, однако значительно больше, чем в венозной крови матери, где его концентрация $9,4 \pm 0,6$ мкг/мл. У плода в артериальной крови $27,3 \pm 2,2$ нг/мл ПЛЧ, в венозной – $25,4 \pm 2$ нг/мл, в тканях плаценты – от 100 до 200 мг/г. Артерио-венозная разница составляет 1,9, т. е. плод практически не участвует в метаболизме этого гормона. Установлено, что количество ПЛЧ в каждые последующие 2–4 недели беременности достоверно отличается от количества, выявленного в предыдущие сроки. Гормон имеет период полужизни всего 20 мин, у него отсутствует суточная ритмика секреции. По динамике содержания ПЛЧ в крови можно определить функцию плаценты [84].

Из сыворотки беременных с низким содержанием ПЛЧ выделено вещество, способное его связывать и уменьшать биологическое действие. В физиологических или супрафизиологических концентрациях ПЛЧ подавляет РБТ на ФГА, угнетает пролиферативный ответ у мышей на ФГА, липополисахарид, митоген лаконоса. После активной иммунизации очищенным ПЛЧ у крыс и кроликов нарушалась имплантация бластоцисты. АС к ПЛЧ применяются с антифертильной целью, так же, как и АС к ХГ и ТБГ [по 2]. Еще в 1968 г. появились сообщения об обнаружении ПЛЧ у мужчин с гинекомастией и анапластической крупноклеточной карциномой легкого. Из 64 больных раком легкого ПЛЧ определялся у 7, причем у 4 из них был обнаружен также ХГ [53].

При чувствительности метода 1 нг/мл ПЛЧ не определялся в сыворотке ни в одном из 80 случаев неонкологических заболеваний [88]. У больных со злокачественными опухолями молочной железы ПЛЧ обнаруживается чаще, чем β -ХГ, причем присутствие ПЛЧ не зависит от наличия ХГ [89]. У больных с доброкачественными процессами в молочной железе (мастите, фиброаденоме и др.) этот гормон не определяется.

7.8. Заключение

Анализ литературных данных свидетельствует, что белки беременности плацентарного происхождения принимают участие в ингибировании активности иммунной реакции материнского организма на развивающийся наполовину чужеродный плод. В большей степени такой процесс, по-видимому, выражен на ранних стадиях беременности, когда существует наибольшая опасность для выживания плода. Разноречивость данных о роли тех или иных маркеров беременности в иммуносупрессии, возможно, объясняется разнонаправленным влиянием фетоплацентарных факторов, которые в организме, естественно, взаимодействуют друг с другом, определяя конечный эффект. Определенную роль играет и адекватность методов исследования, а также степень чистоты получаемых маркеров.

Иммуносупрессия при беременности обеспечивается комплексом факторов со стороны как материнского организма, так и плода. Эти факторы проявляют влияние в определенной, специфичной для беременности гормональной ситуации, когда в организме возникают новые эмбриональные белки, а также значительно повышается секреция некоторых гормонов. Создаются оптимальные условия, при которых поддерживается толерантности плода к иммунной реакции материнского организма или ее ингибирование, с одной стороны, и проявляется щадящее влияние комплекса фетоплацентарных факторов на высокопролиферирующие клетки и их жизнеспособность – с другой.

Согласно литературным данным при злокачественном росте маркеры, общие для беременности и рака, могут играть определенную роль в защите опухолевых клеток от активной иммунной реакции организма-опухоленосителя. Пристальное внимание онкологов к процессам, происходящим при беременности, обусловлено данными о сходстве биологических особенностей эмбриональных и малигнизированных клеток, обнаружением все новых плацентарных белков, экспрессируемых опухолевыми клетками, например, ОМА-8, недавно выделенному из рака яичника и зрелой плаценты [90]. Требуется решения вопрос, является ли секреция маркеров типа ХГ клетками разных злокачественных опухолей ведущим признаком метастатических потенций клетки, обеспечивающим селективное преимущество при выживании.

До настоящего времени мало изучены механизмы, осуществляющие элиминацию клеток трофобласта в послеродовом периоде и предотвращающие в норме развитие опухолей трофобластного происхождения. Представляется заманчивым моделировании таких процессов в опухолевом организме. Возможно, их пониманию будет способствовать более детальное изучение роли клеток мононуклеарной фагоцитирующей системы в иммунологических взаимоотношениях матери и плода. Как известно, макрофаги играют большую роль в сложных межклеточных взаимодействиях, принимают участие во всех фазах индукции клеточного иммунитета, активации Т-лимфоцитов, в результате чего секретируются различные биологически активные вещества с нейропептидной и гормональной активностью, что позволяет макрофагам производить очистку крови и тканей организма от чужеродных субстанций [91]. Можно надеяться, что познание многофакторной природы этих механизмов будет способствовать решению важнейшей проблемы онкологии – снижению прогрессии злокачественных опухолей, метастатического потенциала их клеток и повышению противоопухолевой резистентности организма.

Полученные нами данные о противоопухолевой и антиметастатической активности антисывороток к маркеру беременности и злокачественного роста – хорионическому гонадотропину – свидетельствует о целесообразности разработки сывороток такого рода (а также использования МАТ к маркерам беременности и [92]) и способов их применения с целью усиления противоопухолевого эффекта в комплексной терапии онкологических больных.

7.9. Список литературы

1. *Эренпрейс Я. Г.* Современные концепции опухолевого роста. – Рига: Зинатне, 1987. – 120 с.
2. *Гмалло В. И.* Иммунология репродукции. – М.: Медицина, 1987 – 304 с.
3. *Основы иммуноэмбриологии* / Под ред. О. Е. Вязова, В. М. Баранова. – М.: Медицина, 1973. – 303 с.
4. *Колесников С. И., Морозова Л. М.* Генетико-физиологические взаимоотношения матери и плода. – Новосибирск : Наука, 198. – 180 с.
5. *Гулянский Л. Н.* Влияние гормонов на клеточный и гуморальный иммунитет при беременности // *Акушерство и гинекология.* – 1978. – № 9. – С. 1–5.
6. *Федорова М. В., Калашников Е. П.* Плацента и ее роль при беременности. – М.: Медицина, 1986. – 256 с.
7. *Михайлов В. М., Малыгин А. М.* К вопросу о роли децидуальных клеток в иммунобиологических взаимоотношениях матери и плода // *Цитология.* – 1981. – **23**, № 2. – С. 211–215.
8. *Фогел П. И., Павленко Т. К.* Изучение иммунологических свойств трофобласта // *Акушерство и гинекология.* – 1977. – № 8. – С. 18–21.
9. *Цирельников Н. И.* Гистофизиология плаценты человека. – Новосибирск: Наука, 1980. – 184 с.
10. *Thomas J. H., Mac-Arthur R. S., Humphrey L. I.* Fc-receptors on the human placenta // *Abstet. Gynecol.* – 1976. – **48**. – P. 170–171.
11. *Кан М. Ф., Кривоносое С. К., Татаринов Ю. С.* Иммунохимическое определение плацентоспецифических и межорганых антигенов в экстракте плаценты и в сыворотке крови при беременности у крыс // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1985. – № 4. – С. 466–467.
12. *Хаитав Р. М., Вербицкий М. Ш.* Онтогенез иммунной системы // *Итоги науки и техники. Иммунология.* – 1986. – **14**. – С. 4–163.
13. *Рябчиков О. П., Хлыстов З. С.* Становление Т-клеточного звена иммунной системы в пренатальном онтогенезе человека // *Успехи соврем. биологии.* – 1986. – **101**, № 1. – С. 85–89.
14. *Birkeland S. A., Kristoffersen K.* The fetus as Rh-allograft; a longitudinal study of normal human pregnancies studied with mixed lymphocyte cultures between mother – father and mother – child // *Scand. J. Immunol.* – 1980. – **11**, N 3. – P. 311–319.
15. *Федюк Е. А.* Реактивность Т-лимфоцитов у линейных мышей при беременности // *Цитология и генетика.* – 1980. – **14**, № 5. – С. 68–72.
16. *Вельтищева Е. Ю.* Простагландины как медиаторы иммунитета, значение простагландинов в репродукции человека // *Акушерство и гинекология.* – 1988. – №3. – С. 3–4.
17. *Кавкасидзе Г. В.* Медико-биологическая роль фактора ранней беременности // *Там же.* – 1986. – № 12. – С. 6–8.
18. *Васильева З. Ф., Шабалин В. Н.* Иммунологические основы акушерской патологии – М.: Медицина, 1984. – 190 с.

19. *Straube W., Hoffman R., Klausch B.* Schwangerschaftsimmunologie. Neue Aspekte der immunologischen Mutter–Kind–Beziehungen // *Zbl. Gynäk.* – 1979. – **101**, N 18. – S. 1169–1186.
20. *Эндокринология и метаболизм* / Под ред. Ф. Фелига, Дж. Д. Бакстера. – М.: Медицина, 1985. – 520 с.
20. *Кузнецова Л. В.* Уровень хорионического гонадотропина в сыворотке крови плода человека и новорожденного // *Педиатрия.* – 1982. – №7. – С. 6–8.
22. *Клиническая оценка лабораторных тестов* / Под ред. Н. У. Тица. – М.: Медицина, 1986. – 480 с.
23. *Блинова Т. В., Солопаева И. М., Жарикова Г. В.* Влияние хориогонина на ферментативную активность лизосом в цирротически измененной печени крыс // *Вопр. мед. химии.* – 1982. – № 6. – С. 41–45.
24. *Митцеев К. Г., Брин В. Б.* Влияние хорионического гонадотропина на водный диурез и экскрецию электролитов у крыс // *Пробл. эндокринологии.* – 1984. – № 5. – С. 63–65.
25. *Kato K., Salram M. R.* Inhibition of ovulation in the rat by A hCG antagonist // *Contraception.* – 1983. – **27**, N 5. – P. 515–520.
26. *Ширшев С. В., Кеворков Н. И., Шарый Н. И.* Влияние хорионического гонадотропина на кооперативные взаимоотношения спленоцитов, реализующих первичный иммунный ответ // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 198. – № 9. – С. 337–340.
27. *Кирпатовский И. Д., Полянский Н. С., Рахманова Г. А.* Исследование иммунодепрессивных свойств хориогонина в эксперименте // *Пробл. гематологии и переливания крови.* – 1981. – № 5. – С. 35–37.
28. *In vitro* induction of human suppressor T-cells by a chorionic gonadotropin preparation / T. Fuchs, L. Hammarström, C. Smith et al. // *J. Reprod. Immunol.* – 1981. – N 7. – P. 75–84.
29. *Paavonen T.* Hormonal regulation of lymphocyte functions // *Med. Biol.* – 1987. – N 65. – P. 229–240.
30. *Human chorionic gonadotropin: its possible role in maternal lymphocyte suppression* / E. Adcock, F. Teasdale, C. August et al. // *Science.*—1973.—181.— P. 845—847.
31. *Совместное* действие глюкокортикоидов и хориогонина на активность Т-лимфоцитов в экспериментах *in vitro* и *in vivo* / Л. М. Муховатова, В. С. Сускова Л В Сутющева и др. // *Регуляция иммунного гомеостаза.* – Л.: Медицина, 1982. – С. 75–77.
32. *Клиническая оценка* иммунорегуляторных субпопуляций лимфоцитов (Т-супрессоры и Т-помощники) / Р. В. Петров, Л. В. Ковальчук, А. С. Павлюк и др. // *Иммунология.* – 1980. – № 5. – С. 67–70.
33. *Кадагидзе З. Г* Субпопуляции лимфоцитов при злокачественном росте // *Вопр. Онкологии.* – 1984. – **30**, № 1. – С. 90–97.
- 34 *Greif R., Pink V.* В-HCG-Bestimmungen bei Hodentumoren // *Radiobiol.-Radiother.* – 1987. – **28**, N 2. – P. 157–159.

35. Ерхов В. С., Агеенко А. И. Возможная роль эмбриональных поверхностных антигенов в формировании аутостимула пролиферации опухолевых клеток // Эксперим. онкология. – 1986. – **8**, № 2. – С. 32–35.
36. Stauss H. Tumor-specific antigens on experimental tumors // Progr. Immunol. VI: 6th Int. Congr. Immunol. – Orlando, 1986. – P. 706–713.
37. Jacob F. Mouse teratocarcinoma and mouse embryo // Proc. Roy. Soc. London. B. – 1978. – **201**, N 1144. – P. 249–270.
38. Ziegenbein R. Tumor-Marker. Neue Aspekte fur die Labordiagnostik // Fortschr. Oncol. – 1982. – **8**. – P. 5–11.
39. Guncler P. Grundlegendes zur Rolle der Tumormarker in der Nachsorge und Behandlung Krebskranker // Dtsch. Z. Oncol. – 1987. – **19**, N 3. – S. 73–76.
40. Seeber S. Die Bedeutung der Bestimmung von Tumormarkern in der Praxis // Therapiewoche. – 1984. – **34**, N 7. – S. 1000–1004, 1006.
41. Урманчеева А. Ф. Экспериментальные аспекты сочетания рака и беременности // Злокачественные опухоли и беременность. – Л., 1981. – С. 44–46.
42. Production of B-human chorionic gonadotropin by human squamous carcinoma cell lines / C. Cowley, J. Smith, M. Ellison et al. // Int. J. Cancer. – 1985. – **35**, N 5. – P. 575–579.
43. In vitro secretion of human chorionic gonadotropin by bladder tumor cells / R. lies, R. Oliver, M. Kitau // Brit. J. Cancer. – 1987. – **55**, N 6. – P. 623 – 626.
44. Strandbridge E. J., Rosen S. W., Sussman H. H. Expression of the α -subunit of human chorionic gonadotropinis is specifically correlated with tumorigenic expression in human cell hybrids // Proc. Nat. Acad. Sci USA. – 1982. – **79**, N 20. – P. 6242–6245.
45. Localisation of the β -chain of human chorionic gonadotropin on human tumor cells and placental cells / M. Naughton, D. Merill, L. McManuc et al. // Cancer Res. – 1975. – **35**. – P. 1887–1890.
46. Cole Laurence A. The O-linked oligosaccharide structures are striking different on pregnancy and choriocarcinoma HCG // J. Clin. Endocrinol. and Metabol. – 1987. – **65**, N 4. – P. 811–813.
47. Unusual molecular forms of hCG in gestational trophoblastic neoplasma / S. Amr, C. Rosa, R. Wehmann et al. // Ann. Endocrinol. – 1984. – **45**, N 4/5. – P. 321–326.
48. Ectopic production of human chorionic gonadotropin (hCG) by neoplasms: the value of measurements of immunoreactive hCG in the urineas a sereening procedure / P. Papapetrou, N. Sakarelou, H. Braouzi et al. // Cancer. – 1980.– **45**, N 10. – P. 2583–2592.
49. Vaitukaitis J. Immunologic and physical characterization of human chorionic gonadotropin secreted by tumors // J. Clin. Endocrinol. and Metabol. – 1973. – **37**, N 4. – P. 505–514.
50. Klaus M., Trans K. Molecular heterogeneity of human chorionic gonadotropin and its subunits in testicular cancer // Cancer. – 1983. – **52**, N 4. – P. 654–660.

51. *Flow* cytofluorometric analysys of choriogonadotropin-like material on the surface of human and mouse malignant cells // R. Raikow, H. Acevedo, A. Krichevsky et al. // *Cancer Detect. and Prev.* – 1987. – **59**, N 1. – P. 173–181.
52. Цырельников Н. И. Биоактивность различных молекулярных форм хориального гонадотропина человека на ранних и поздних сроках беременности // *Бюл. Сиб. отд. АМН СССР.* – 1987. – № 6. – С. 109–113.
53. *Vaitukaitis J.* Peptide hormonas as tumor markers // *Cancer.* – 1976. – **37**, N 1. – P. 567–572.
54. *Katsumi Y., Armstrong E., Koide S.* Unique variants of hCG in sera of carcinoma patients // *Cancer.* – 1987. – **59**, N 4. – P. 795–797.
55. *Ectopic* production of human chorionic gonadotropin-like material by breast cancer / J. Monteiore, W. Greening, A. Neville, et al. // *Cancer.* – 1984. – **53.** – N 4. – P. 957–962.
56. *Isolated* ectopic production of the free beta subunit of chorionic gonadotropin by an epidermoid carcinoma of unknown primary site / S. Nagelberg, B. Marmorstein, M. Khazaeli, S. Rosen // *Cancer.* – 1985. – **55**, N 9. – P. 1924–1930.
57. *Rutanen E., Seppila M.* The hCG-beta subunit radioimmunoassay in nontrophoblastic gynecologic tumors // *Ibid.* – 1978. – **49**, N 2. – P. 692–696.
58. *Mohler J. L., Siami P. F., Flanigan R. C.* False positive beta-human chorionic gonadotropin in testicular cancer // *Urology.* – 1987. – **30**, N 3. – P. 252–254.
59. Димитров Д. Я. Хориальный гонадотропин человека. – М.: Медицина, 1979. – 140 с.
60. Нечаева И. Д., Дильман В. М. Трофобластическая болезнь. – Л.: Медицина. 1976. – 160 с.
61. Фель В. Я. Иммунореактивность при опухолевом росте // *Вопр. онкологии.* – **33**, № 4. – С. 99–106.
62. Гордиенко С. П. К вопросу о противоопухолевой иммунитете // Там же. – С. 87–91.
63. *Kellen J., Kolin A., Acevedo H.* Effect of antibodies to choriogonadotropin in malignant growth // *Cancer.* – 1982. – **49**, N 11. – P. 2300–2304.
- 64 *The clinical* value of imaging with antibody to human chorionic gonadotropin in the detection of residual choriocarcinoma / R. Begent, K. Bagshawe, A. Gree et al. // *Brit. J. Cancer.* – 1987. – **55**, N 6. – P. 667–660.
65. *Crockford D., Rhodes B.* Method and composition for cancer detection in humans // *Patent USA.* – 4, 323, 546. – 1982. – Apr. – 6.
66. Дильман В. М., Цырлина Е. В., Буковская Л. Н., Бобров Ю. Ф. Торможение роста перевивной карциномы-Эрлиха у мышей антихорионической иммунной сывороткой // *Вопр. онкологии.* – 1983. – **29**, № 2. – С. 62–64.
67. *Isoimmunization* against human chorionic gonadotropin with conjufates of processed β -subunit of the hormone and tetanus toxoid // G. Talwar, N. Sharma, S. Dubey et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1976. – **73**, N 1. – P. 218–222.
68. *Serotherapy* of AFP-producing tumors with the purified antibody to AFP / Y. Kusumoto, K. Nakata, T. Muro et al. // *Oncodevelop. Biol. and Med.* – 1983. – **4**, N

6. – P. 95–100.

69. *Differential growth of metastatic tumours in liver and lung. Experiments with rabbit Vr carcinoma* / В. Lucke, С. Breedis, Z. Woo et al. // *Cancer*. – 1952. – **12**, N 5. – P. 734–738.

70. *Василейский С. С., Иванов И. П.* Исследование белков сыворотки крови при позднем токсикозе беременных методом сопряженного стереоиммуноэлектрофореза // *Акушерство и гинекология*. – 1964. – № 1. – С. 48–52.

71. *Татаринов Ю. С.* Трофобластический бета-гликопротеин. // *Успехи соврем. биологии*. – 1983. – **95**, № 1. – С. 57–63.

72. *Посисеева Л. В.* Специфический трофобластический β -гликопротеин в акушерской практике // *Акушерство и гинекология*. – 1986. – № 10. – С. 6–8.

73. *Сравнительное* изучение четырех белков плаценты человека в процессе развития беременности // Д. Д. Петрунин, Ю. С. Татаринов, В. В. Калашников и др. // Там же. – 1988. – № 1. – С. 50–52.

74. *Влияние* трофобластического β_1 -гликопротеида на пролиферацию лимфоцитов в культуре, вызванную митогенами и аллогенными клетками / Ю. С. Татаринов, Н. Н. Головистиков, Н. К. Горлина и др. // *Иммунология*. – 1980. – № 5. – С. 14–17.

75. *Обнаружение* феномена связывания белков беременности с иммуноглобулинами иммунохимическими методами // Р. М. Зорина, Н. А. Зорин, И. Н. Головистиков и др. // Там же. – 1985. – № 2. – С. 82–83.

76. *Влияние* трофобласт-специфического β_1 -гликопротеина на соотношение клеточных форм в популяции тучных клеток / Н. М. Сидоров, С. К. Кривоносов, И. Н. Головистиков и др. // *Онтогенез*. – 1988. – **19**, № 2. – С. 213–216

77. *Сотников Н. Ю., Бабакова Л. А., Петров Р. В.* Рецепторы лимфоцитов к трофобластическому β -гликопротеиду // *Бюл. Эксперим. биологии и медицины*. – 1985. – № 3. – С. 326–327.

78. *Петров Р. В., Сотников Н. Ю., Кривоносов С. К., Бабакова Л. А.* Регуляция трофобластическим β_1 -гликопротеидом выработки фактора, ингибирующего миграцию макрофагов при неосложненной беременности // *Акушерство и гинекология*. – 1986. – № 10. – С. 63–65.

79. *Сопоставление* действия сыворотки беременных женщин и трофобластического гликопротеида в ряде иммунологических тестов / Н. К. Горлина, И. Н. Головистиков, Р. А. Ашурова и др. // *Онтогенез*. – 1983. – **14**, № 6. – С. 607–611.

80. *Изучение* аффинитета специфического для беременных крыс β_1 -глобулина к различным пектинам / С. К. Кривоносов, Н. А. Зорин, А. Ф. Курсин и др. // Там же. – 1988. – **19**, № 2. – С. 143–148.

81. *Кривоносов С. К., Михайлов А. Т., Татаринов Ю. С.* Биосинтез и продукция специфического бета₁-глобулина (СБГ) при беременности у крыс // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 1979. – № 7. – С. 51–53.

82. Горлина Н. К., Головистиков И. Н., Татаринов Ю. С., Стенина М. А. Плацентарные белки как регуляторы иммунологических реакций при беременности // Онтогенез. – 1983. – **14**, № 2. – С. 205–208.
83. Действие специфических плацентарных белков – трофобластического бета₁-гликопротеида и хорионического альфа₁-микроглобулина на пролиферацию лимфоцитов и злокачественных фибробластов *in vitro* / Н. К. Горина, И. Н. Головистиков, Д. Д. Петрунин и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1981. – № 3. – С. 345–347.
84. Афанасьева В. М., Баграмян Э. Р. Динамика содержания плацентарного лактогена при нормальной беременности // Акушерство и гинекология. – 1977. – № 1. – С. 54–56.
85. Mornsh D., Marusyk H., Bhardwal D. Ultrastructural localization of human placenta lactogen in distinctive granules in human placenta comparison with granules containing human chorionic gonadotropin // J. Histochem. and Cytochem. – 1988. – **36**, N 2. – P. 193–197.
86. Neulen I, Breckwoldt M. Beemfassung des Fettstoffwechsels durch hPl in der späten Schwangerschaft // Geburtshilfe und Frauenheilk. – 1987. – **47**, N 4. – S. 270–273.
87. Малюшко О. О. Особливості обміну плацентарного лактогену в системі мати – плід при ревматизмі // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 1983. – № 4. – С. 52–53.
88. Sussman H., Weintraub B., Rosen S. Relationship of ectopic placental alkaline phosphatase to ectopic chorionic gonadotropin and placental lactogen // Can. cer. – 1974. – **33**, N 3. – P. 820–823.
89. Ectopic production of human placental lactogen by human breast tumors / N. Sheth, J. Suraiya, A. Sheth et al. // Ibid. – 1977. – **39**, N 4. – P. 1693–1699.
90. Прокопенко П. Г., Борисенко С. А., Татаринов Ю. С. Иммунохимическая идентификация β₂-глобулина в метастазах овариальных опухолей // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1988. – №7. – С. 81–82.
91. Сидорович И. Г., Новиков В. И. Тканевая и функциональная гетерогенность клеток мононуклеарной фагоцитирующей системы // Проблемы и перспективы современной иммунологии. – Новосибирск: Наука, 1988. – С. 133–154.
92. Фидлер Р., Соколов А. В., Вербицкий М. Ш., Папазов И. П. Моноклональные антитела против β-субъединицы хорионического гонадотропина человека // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1988. – № 12. – С. 693–695.