

А.А. Ковалев, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой онкологии Запорожской медицинской академии последипломного образования

# Онкохирургия в постгеномную эру

**В 2008 г. в журналах *Coulman* опубликовал статью под несколько странным названием: «Лучшие места в мире, чтобы болеть раком». Основная идея этой публикации заключалась в том, что при одних и тех же онкологических проблемах на разных континентах существуют разные пути их решения.**

Исследование, проведенное под эгидой Международного агентства по изучению рака (МАИР), результаты которого были недавно опубликованы в Британском медицинском журнале (BMJ), показало значительные различия в показателях онкологической смертности, в частности от рака молочной железы, среди женщин — жительниц европейских стран. Отмечено, что на протяжении 1989-2006 гг. в большинстве государств Евросоюза зарегистрировано сокращение показателей онкологической смертности в среднем на 20%, в то время как в четырех странах (Греции, Эстонии, Латвии и Румынии) отмечается общий рост онкозаболеваемости за этот же период времени.

О подобных тенденциях свидетельствуют данные всемирного популяционного исследования CONCORD «Выживаемость на пяти континентах». Согласно опубликованным результатам, 5-летняя выживаемость при раке ободочной кишки в Алжире составляет 11%, в Польше — 28%, во Франции — 57%, в США — 61%.

Такие отличия в результатах лечения зависят не только от доступности специализированной медицинской помощи в разных странах, но также и от того, насколько быстро государственная система здравоохранения способна внедрять в повседневную клиническую практику достижения фундаментальной и прикладной науки. Практические врачи-онкологи сегодня, как никогда раньше, нуждаются в передовых медицинских технологиях. Недаром девиз последнего конгресса ASCO, прошедшего в июне в г. Чикаго, звучит следующим образом: *Advancing quality through innovation* — «Улучшая качество через инновации».

Влияние достижений фундаментальной онкологии на результаты и качество лечения онкологических больных стало отчетливо видно в течение последних 10 лет. Есть основания считать, что современная онкология получила шанс для своего развития благодаря биологической революции XXI в., в результате которой рак как болезнь стали рассматривать с позиций системной биологии. Появились новые научные дисциплины, тесно связанные с онкологией (биоинформатика, протеомика, метаболомика; транскриптомика, фармакогеномика); были созданы уникальные биотехнологии с высокой пропускной способностью. Генерация многочисленных научных данных на современном этапе хотя и приводит к некоторой информационной перегрузке, однако следствием этих процессов выступает изменение диагностических и лечебных парадигм, что способно улучшить результаты лечения при многих локализациях рака.

Революционные изменения в науке коснулись всех направлений онкологии, в том числе и онкохирургии. До середины XIX в. предпринимались единичные попытки хирургического удаления рака. До середины XX ст. разрабатывалась техника стандартных хирургических резекций. К 1960-м гг. была завершена разработка техники расширенных операций, и с тех пор технология хирургического вмешательства при раке изменилась незначительно. Последующие достижения онкохирургии были неразрывно связаны

с развитием всей онкологической науки: в 1980-2000 гг. было доказано, что мульти-модальная комбинированная терапия улучшает выживание даже при частичном сохранении органа, а с 2000 г. в соответствии с общепринятым мнением все хирургические методы лечения неразрывно связаны с молекулярной биологией опухоли.

## Колоректальный рак как онкологическая, а не хирургическая проблема

В XIV в. известный английский хирург J. Arderne (1307-1390) написал: «Я никогда не видел и не слышал, чтобы кто-нибудь лечил рак прямой кишки». Спустя 600 лет основоположники нескольких хирургических школ — Richard von Volkmann, Johann von Mickulicz, Henri Hartmann и др. — разработали и к началу XX в. внедрили технику большинства хирургических операций при раке прямой и ободочной кишки. Историческими вехами стали основополагающие работы в начале W.E. Miles (A method of performing abdominoperineal excision for carcinoma of the rectum and of the terminal portion of the pelvic colon, 1908), а затем R.J. Heald (The 'Holy Plane' of rectal surgery, 1982), которые окончательно сформулировали основные онкологические принципы операций, заключающиеся в соблюдении правил футлярности и анатомической зональности (применительно к раку прямой кишки это выражается в технике тотальной мезоректумэктомии).

Роль онкохирурга в лечении резектабельного рака прямой кишки остается ведущей. Без радикально и адекватно выполненной тотальной мезоректумэктомии надеяться на хорошие отдаленные результаты нельзя. Наиболее частые фатальные ошибки (оставление опухолевой ткани в краях резекции или разрыв мезоректальной фасции во время насильственной тракции прямой кишки с последующей диссеминацией раковых клеток) встречаются преимущественно у так называемых случайных хирургов. Этот термин является официальным и применяется в тех ситуациях, когда хирург выполняет менее 25-30 тотальных мезоректумэктомий в год, не имеет дополнительной специализации, не проходит постоянные ежегодные тренинги по онкохирургии с супервизией, а также не имеет опыта мультидисциплинарного подхода к профилактике, диагностике, лечению и реабилитации онкологических пациентов. (Такие требования сформулированы в Североамериканской программе подготовки онкохирургов — Society of Surgical Oncology Training Program Guidelines, 2004.) Если не решить проблему адекватного первичного хирургического лечения рака любой локализации на государственном уровне, обсуждать молекулярно-генетические аспекты онкологии не имеет смысла.

Поскольку основные онкологические требования к хирургическому вмешательству при колоректальном раке уже сформулированы, в настоящее время научные дискуссии ведутся вокруг способов улучшения качества жизни оперированных больных. Предметами споров являются увеличение количества сфинктерсохраняющих операций при

нижнеампулярных локализациях опухоли, интрасфинктерные резекции, техника «сбритой опухоли», преимущества низких наданальных резекций перед брюшно-анальными, преимущества аппаратного шва перед ручным или наоборот, способы формирования неоректума (J-образный резервуар или колонопластика), техника нервосберегающих операций и т. д. Изменилась и технология хирургических вмешательств. Методы миниинвазивных лапароскопических резекций и роботехирургия открыто конкурируют с традиционной хирургией.

Следует признать, что, хотя эти дискуссии и ведутся вокруг проблемы колоректального рака, прямого отношения к онкологии они не имеют. По всей видимости, улучшить результаты долгосрочной выживаемости этой группы больных только с помощью совершенствования технологии хирургического вмешательства не удастся.

## Системный биологический эффект онкохирургической операции

До сих пор в медицинских онкологических кругах было принято считать, что два метода — лучевая терапия и хирургическое вмешательство — обладают локальным, а цитотоксическая химиотерапия — системным противоопухолевыми эффектами. Существует много доказательств в пользу того, что это не совсем так.

Например, хорошо известен так называемый абскопальный эффект лучевой терапии, когда облучение одного опухолевого очага через сложный иммунный механизм угнетает рост раковых клеток, удаленных от зоны облучения.

Системным эффектом обладает и хирургическое вмешательство. Нужно отметить, что даже радикальная операция с полным удалением пораженных тканей не столько избавляет больного от рака, сколько модифицирует естественную историю опухоли. Клиницисты знают, что для одних больных хирургическое вмешательство принесет несомненную пользу (это пациенты группы низкого риска опухолевой прогрессии), а у других (группа высокого риска) удаление первичной опухоли спровоцирует бурный рост оккультных, дремлющих микрометастазов, и прооперированный больной погибнет от быстрой диссеминации.

Сегодня известно, что прогрессия после хирургического вмешательства будет реализована за счет многочисленных факторов роста — лигандов соответствующих рецепторов клеток (EGF, VEGF, HGF/SF, IGF, PDGF, TGF $\alpha$ , TGF $\beta$ , FGF и т. д.). Установлено, что факторы роста появляются как в кровотоке, так и в послеоперационной ране с первых минут после хирургического вмешательства, причем в тканях их концентрация намного превосходит таковую в сыворотке. Факторы роста необходимы для регенерации и заживления здоровых тканей, но они также играют центральную роль в канцерогенезе. Последняя заключается в активировании митогенных сигналов мембранных рецепторов и стимуляции пролиферации опухолевых клеток (как в пределах операционной раны, так и в отдаленных органах), угнетении апоптоза, увеличении способности к инвазии и метастазированию.

Исследования биологических жидкостей в раннем послеоперационном периоде показали, что сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) возрастал в сыворотке крови пациентов, перенесших операцию по поводу рака легких и рака желудка. В отделяемом из дренажей



А.А. Ковалев

после резекции рака молочной железы обнаруживали эпидермальный и эндотелиальный факторы роста (EGF и VEGF), эндостатин и другие неустановленные индукторы пролиферации в концентрациях значительно выше, чем соответствующие в сыворотке. Раневая жидкость стимулировала в пробирке рост HER2-экспрессирующих клеток молочной железы.

Эти исследования, а также многочисленные клинические наблюдения опровергают точку зрения, что удаление первичной опухоли является локальным явлением без других биологических последствий.

Поскольку количество факторов роста коррелирует со степенью и объемом повреждения тканей (чем менее травматичным было хирургическое вмешательство, тем меньше риск местного рецидива), в онкохирургии активно разрабатываются малоинвазивные методики удаления опухолей (радиочастотная термоабляция, микроволновая, лазерная абляция, необратимая электропорация и др.).

Рабочая гипотеза о том, что последствия хирургической операции проявляются в виде системного биологического эффекта, подтверждается теорией параллельного метастазирования, доказанным существованием циркулирующих опухолевых клеток, наличием минимальной остаточной опухолевой болезни, существованием стволовых клеток рака и современными представлениями о молекулярных механизмах канцерогенеза. Онкологи должны знать о биологических последствиях хирургического лечения и механизмах, посредством которых эти последствия реализуются.

## Теория раннего метастазирования, или теория параллельной прогрессии

Эта теория была недавно сформулирована и опубликована Christoph A. Klein в журнале *Nature Reviews Cancer* (2009). Основанная на экспериментальном, клиническом материале и на данных программированного моделирования процессов канцерогенеза *in silico*, она во многом совпадает с известной гипотезой В. Fisher об изначальном системном характере рака молочной железы.

Традиционная гипотеза линейной прогрессии (гипотеза поздней диссеминации), как известно, заключается в следующем. После активации онкогенов нормальная клетка приобретает свойства инициированной и активно пролиферирует. В дальнейшем в этих клетках происходят накопление мутаций и селекция злокачественных клонов, затем формируется клинически определяемая первичная опухоль, в которой в результате онкогенных мутаций некоторые особенно злокачественные клетки приобретают метастатический потенциал; именно они и формируют отдаленные метастазы. Согласно этой гипотезе метастазирование начинается на поздних стадиях рака; метастазировать только клетки, обладающие высоким злокачественным потенциалом; возможно развитие метастаза из метастаза.

Логичной лечебной стратегией, вытекающей из гипотезы поздней диссеминации, является как можно более раннее начало лечения (в том числе хирургическое); еще лучше, если опухоль была выявлена при скрининге.

Однако существует много противоречий, которые нельзя объяснить гипотезой поздней диссеминации. Например, почему нередко обнаруживаются отдаленные метастазы в начальных, а не в поздних клинических стадиях рака (категории T1M1, T2M1)? Как объяснить с помощью этой гипотезы происхождение метастазов рака без первичной выявленной локализации? Почему в диссеминированных в костном мозге опухолевых клетках часто находят меньшие генетические изменения по сравнению с клетками первичной опухоли, хотя традиционно считается, что нестабильность генома появляется при опухолевой прогрессии? Как объяснить тот факт, что мутации EGFR в 18-21 экзонах при первичном раке легкого в 75-80% отличаются в тканях первичной опухоли и в ее метастазах? Почему в костном мозге у больных раком молочной железы обнаруживаются ErbB2(+) клетки при отсутствии этого рецептора в клетках первичной опухоли? Наконец, как объяснить, что мутации KRAS в первичных опухолях прямой и ободочной кишки и в их метастазах отличаются в 50% случаев?

Согласно концепции ранней гематогенной диссеминации уже на стадии инициации эпителиальная клетка (строго говоря, еще не обладающая всеми морфологическими признаками злокачественности) приобретает наклонности к миграции, как у фибробласта. Отрицательная регуляция E-кадгерина приводит к снижению адгезии и началу инвазии. Доказано, что гиперплазированные клетки уже на начальных стадиях могут разрушить базальную мембрану и проникнуть в кровотоки (интравасация). При инвазии происходит феномен миграции эпителиального фенотипа в сторону мезенхимального — клетка постепенно теряет набор эпителиальных антигенов и приобретает мезенхимальные (эпителиально-мезенхимальный переход). Ускользая от иммунного надзора, эти клетки могут либо длительное время циркулировать в крови, либо оседать в виде непролиферирующих дремлющих метастазов в костном мозге, костной ткани или тканях висцеральных органов. Это своеобразное состояние «мирного сосуществования» опухоли и организма основоположник учения об ангиогенезе J. Folkman в 2004 г. описал в статье «Рак без болезни».

Параллельно этому процессу с участием онкогенов и генов-супрессоров происходят рост и формирование первичной опухоли, которая со временем начинает определяться клинически. Рост и клинические проявления отдаленных метастазов протекают по собственному сценарию, на который оказывают влияние многочисленные и пока до конца не изученные факторы, в том числе индукторы и ингибиторы ангиогенеза, выделяемые первичной опухолью, а также собственное микроокружение метастаза (опухолевый патогенез). Сегодня известно, что сдерживающее влияние первичной опухоли на пролиферативные процессы в метастазе реализуется через каскад медиаторов (лигандов) неоангиогенеза и васкулогенеза.

Патофизиологические взаимоотношения опухоли и метастазов давно и хорошо известны. В конце XIX — начале XX в. взаимоотношения регулируются «опухоль — метастаз» и «метастаз — метастаз» объясняли гипотезой атрепсии (athrepia hypothesis) — конкуренцией злокачественных клеток за кислород и питательные вещества. Конкурирующие взаимоотношения опухолевых клеток подтверждены в некоторых экспериментальных

работах. Так, если животному пересаживали одновременно не одну, а две опухоли, продолжительность его жизни не уменьшалась, а наоборот, увеличивалась, доказывая наивность предположения, что если одна пересадка убьет, то две убьют быстрее. Выводом из результатов этих экспериментов может быть гипотеза о том, что понятие «резекция опухоли» не всегда совпадает с понятием «лечение больного».

Гипотеза ранней диссеминации и параллельной прогрессии может иметь далеко идущие теоретические и практические выводы и тем самым изменить стереотипы диагностики и лечения в онкологии. Так, исходя из клонального разнообразия диссеминированных опухолевых клеток можно предположить, что первичная опухоль и метастазы развиваются не из одной гипотетической клетки, а из разных клонов, причем на ранние этапы канцерогенеза, по-видимому, огромное влияние оказывает микроокружение (стромы), в котором начинает развиваться опухоль. Не исключено, что развитие первичной опухоли и метастазов идет параллельно. При нестабильности генома в злокачественных клетках опухолевая прогрессия может развиваться по независимому сценарию в каждом метастазе (теория независимой прогрессии L. Foulds).

Клиническая практика, основанная на постулатах гипотезы линейной прогрессии, допускает, что все виды дальнейшего лечения могут быть основаны на анализе биологических характеристик удаленной первичной опухоли. Если же мы говорим об индивидуализации терапии исходя из гипотезы параллельной прогрессии, лечение должно быть основано на изучении биологических характеристик каждого метастаза, что резко усложняет выбор терапии.

Требования изучать биологические характеристики и опухоли, и ее метастазов на протяжении всего периода лечения, а не однократно, во время клинического дебюта заболевания, как было принято до последнего времени, настойчиво звучат на всех международных конференциях, посвященных индивидуализации лечения рака. Dr. Richardson на ASCO-2010 отметил: «Мы должны лечить ту опухоль, которая имеется у больного сейчас, а не ту, которая была выявлена у него несколько лет назад».

Можно допустить, что характеристика первичной опухоли (ее «исторический портрет») в целом может определять прогноз заболевания, однако характеристика первичной опухоли не может служить суррогатным маркером терапии на стадии опухолевой прогрессии. Для адекватного лечения больных как с синхронными, так и с метастатическими метастазами требуется получить как можно более полную гистологическую, иммуногистохимическую и молекулярно-генетическую информацию о биологических характеристиках всех маркерных очагов опухоли. В клинических условиях это может оказаться не всегда выполнимо. Выходом из ситуации является изучение молекулярных характеристик циркулирующих опухолевых клеток.

#### Циркулирующие опухолевые клетки и «виртуальная биопсия» опухоли

Теория циркулирующих опухолевых клеток не нова. Первый доклад о циркулирующих клетках рака был опубликован Ashworth в 1869 г. Концепция, в соответствии с которой присутствие раковых клеток в крови не обязательно приводит к формированию метастазов в отдаленных органах, была высказана Goldmann (1897). Проблема «метастатических странностей рака» начала обсуждаться после того, как James Paget опубликовал в журнале The Lancet (1889) свою знаменитую гипотезу «семян и почвы» (the seed

and the soil), которая рассматривала вопросы органспецифической колонизации злокачественных клеток (сейчас это называют эффектом homing). Присутствие опухолевых клеток в кровеносных сосудах рассматривали как метастазы в кровь (термин Мельникова, цитируется по Н.Н. Петрову).

Сейчас известно, что после интравасации большая часть опухолевых клеток подвергается апоптозу, а определенная часть покидает кровотоки в сосудистом русле отдаленных органов (экстравазация). Эти клетки могут оставаться в интестинии в виде диссеминированных «спящих» одиночных непролиферирующих клеток (dormancy), могут ограниченно пролиферировать, но без ангиогенного переключения (микрометастазы); некоторые клетки, наоборот, быстро пролиферируют, у них наблюдается реверсия мезенхимального фенотипа в эпителиальный с переходным типом метаболизма, запускается каскад неоангиогенеза, и формируется полноценный метастаз.

Механизм покоя некоторых злокачественных клеток до сих пор полностью не изучен. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что в супрессорные механизмы могут быть вовлечены пути внеклеточной регулируемой киназы и p38. Почему клетки, происходящие из одной и той же опухоли, прорывают разный путь эволюции, также еще предстоит выяснить.

Впервые термин «спящие раковые клетки» применил Hadfield в опубликованном докладе с примечательным названием The dormant cancer cell. Особый интерес представляет та фракция клеток, которая остается циркулировать в кровотоке. Циркулирующие клетки не вступают в клеточный цикл (находятся в фазе покоя — G0), не пролиферируют и потому не подвергаются апоптозу и действию цитотоксических агентов. Они могут циркулировать в виде единичных клеток или объединяться в кровотоке в циркулирующие опухолевые микроэмболы (феномен коллективной миграции). Последние имеют высокий пролиферирующий потенциал, устойчивы к апоптозу и обладают свойствами агрессивного метастазирования. Опухолевые микроэмболы не могут покинуть просвет сосуда экстравазацией, но вызывают опухолевую эмболию, пермеацию в сосуде, разрыв стенки капилляра с последующей пролиферацией в просвете сосуда и интестинии.

Циркулирующие опухолевые клетки при солидных опухолях были впервые обнаружены при раке молочной железы и раке предстательной железы. Сейчас стало ясно, что этот феномен носит общепатологический характер, поскольку длительно циркулирующие клетки обнаруживаются практически при всех локализациях (раке легкого, гастроинтестинальном раке и даже неэпителиальных опухолях). Специально для характеристики этого процесса предложен новый термин — высокодиссеминированная ангиогенная болезнь (HAD — highly angiogenic and disseminated). При метастатическом процессе опухолевые клетки обнаруживаются в периферической крови примерно у 70% больных, при местнораспространенном раке (N+) — у 35%, у больных «ранним» раком (N0) — в 30% случаев.

Количество циркулирующих опухолевых клеток резко возрастает во время хирургического вмешательства, при грубых манипуляциях опухолью без соблюдения принципов абластики. При операциях на толстом кишечнике по поводу колоректального рака, если не применяется техника no touch, в большом количестве циркулирующие опухолевые клетки выявляются в крови воротной вены (исследование Nayash, 1999).

Установлено, что солитарные эпителиальные клетки в периферической крови могут использоваться в виде динамического

онкомаркера как для прогноза течения заболевания и тем самым определять интенсивность адьювантной терапии, так и для мониторинга больных, получающих системное лечение.

Количество циркулирующих клеток изменяется в зависимости от эффективности проводимого лечения. Так, если после завершения адьювантной химиотерапии в крови больных определяются циркулирующие цитокератинпрезентирующие клетки (СК19+) — таких пациентов примерно 30%, — риск рецидива возрастает в 3,8 раза, а безрецидивный интервал оказывается короче. Ожидаемая частота рецидива у этих больных составляет 70%.

При многофакторном анализе было показано, что циркулирующие опухолевые клетки, высокая плотность сосудов в опухоли и гиперэкспрессия некоторых специфических белков (например, для рака молочной железы это erbB-2) являются независимыми прогностическими признаками раннего рецидива, а стандартные схемы химиотерапии у этих больных не улучшают прогноз. Сейчас появляется все больше доказательств того, что именно фенотип циркулирующих клеток должен определять схему и режим системной противоопухолевой терапии. Так, например, гиперэкспрессия HER2/neu в циркулирующих клетках является показанием к терапии трастузумабом даже в отсутствие HER2/neu в клетках первичной опухоли.

Сегодня получены убедительные доказательства того, что циркулирующие в крови опухолевые клетки являются независимым фактором риска прогрессии при различных солидных опухолях (в том числе и при колоректальном раке). Не только факт существования эпителиальных клеток в крови, о чем свидетельствует положительная реакция на цитокератины (СК19) и эпителиальный маркер адгезии (EpCAM), но и фенотип циркулирующих опухолевых клеток определяют как прогноз заболевания и выбор режима терапии, так и эффективность последней.

Поскольку необходимость определения в крови раковых клеток как динамического онкомаркера является доказанной клинической целесообразностью и отражена в рекомендациях ASCO и FDA, ведущие компании, производящие лабораторное оборудование, предлагают различные коммерческие варианты решения проблемы виртуальной биопсии. Все тесты удобны как для клиницистов, так и для больных, поскольку периферическая кровь в отличие от висцеральной опухоли всегда доступна для исследования.

В настоящее время в мире используют следующее оборудование для обнаружения циркулирующих опухолевых клеток: CellSearch (идентификация клеток по EpCAM, CK+, CD45-), Maintrac (EpCAM, CD45-), CellPoint (EpCAM, CK+, CD45-), Adnagen (EpCAM, MUC1, GA73.3, HER2), RT-PCR (СК19, HER). В Украине, к сожалению, подобного оборудования нет. В Запорожской молекулярно-генетической лаборатории, созданной при участии кафедры онкологии ЗМАПО, сейчас проводятся подготовительные мероприятия по апробации методов идентификации и фенотипирования циркулирующих опухолевых клеток с помощью метода RT-PCR.

#### Стволовые клетки рака

Хотя строение солидных опухолей сравнительно дезорганизовано, опухоли все же имеют иерархическую структуру. Сегодня ни у кого уже не вызывает сомнений тот факт, что солидная опухоль не однородна, а представлена различными типами клеток. В ней присутствует пул быстро пролиферирующих

Продолжение на стр. 28.

А.А. Ковалев, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой онкологии Запорожской медицинской академии последипломного образования

## Онкохирургия в постгеномную эру

Продолжение. Начало на стр. 26.

и метастазирующих стволовых клеток «убийц», пул медленно пролиферирующих злокачественных клеток, скорее всего не способных к метастазированию и представляющих несколько меньшую непосредственную угрозу для жизни индивида; опухоль контаминирована здоровыми клетками, в ней также имеются клетки стромы (сосуды и нервы) и клетки иммунной системы.

Принято считать, что опухоль представляет собой сложный комплекс, орган, а не беспорядочный набор независимых атипичных клеток. Эта идея впервые была высказана Prehn в 1993 г. (R.T. Prehn, Cancer Res 1993). Ее автор считал, что единственным существенным отличием между ростом органов и ростом опухоли является то, что органы не регенерируют после частичной резекции (исключением является печень). Сегодня эта гипотеза находит все больше аргументов, подтверждающих ее правоту.

В предыдущих моделях рака нерегулируемый рост опухолей и безудержную пролиферацию злокачественных клеток объясняли последовательным приобретением ими активирующих генетических событий. Когда же раковые клетки разного происхождения были проанализированы *in vitro* и *in vivo* на предмет их пролиферативного потенциала, оказалось, что различные клетки одной и той же опухоли обладают разной способностью к пролиферации. Было установлено, что небольшая популяция опухолевых клеток (менее 1% от общей массы опухоли) способны к самообновлению и именно эти клетки, названные стволовыми клетками рака, порождают все компоненты гетерогенной опухоли.

Гипотеза о существовании опухолевых стволовых клеток не нова. Она является продолжением и подтверждением дизонтогенетической теории ученика Р. Вирхова J.F. Cohnheim (теория опухолевых зачатков), который в конце XIX в. сформулировал основные положения: на ранних стадиях эмбрионального развития некоторые клетки продуцируются в большей степени, чем это необходимо для дальнейшего развития организма; на протяжении жизни человека они сохраняют свой эмбриональный характер и способность к пролиферации, а при определенных условиях могут дать начало росту опухоли.

Положение о стволовых клетках было сформулировано в 1909 г. знаменитым русским гистологом профессором А.А. Максимовым. Именно он впервые в мире ввел термин «стволовая клетка крови», а также высказал мнение о существовании клеток-предшественников для соединительных тканей, обозначив их как стволовые мезенхимальные клетки.

Существуют три вида стволовых клеток: эмбриональные (это дочерние клетки после первых делений оплодотворенной яйцеклетки), зародышевые (более поздние поколения клеток, которые постепенно теряют способность безудержно пролиферировать, делиться и приобретают способность к дифференциации) и соматические стволовые клетки взрослых.

Соматическая стволовая клетка исходит из конкретного органа, имеет долгосрочный репликативный потенциал и способность к дифференцировке в клеточные компоненты данного органа. Соматические стволовые клетки в основном находятся в состоянии покоя и вступают в клеточный цикл для того, чтобы разделиться только по мере физиологической

необходимости. Основными характеристиками нормальных стволовых клеток покоя являются асимметричное деление и мультипотентность. Феномен асимметричного деления заключается в том, что одна стволовая клетка производит одну дочернюю стволовую клетку и другую дочернюю клетку, которая начинает процесс дифференцировки. Эти процессы длятся всю жизнь.

Факт существования стволовых клеток в злокачественной опухоли и их центральное место в реализации процессов канцерогенеза считается доказанным. Модель опухолевого гистогенеза из одной стволовой клетки для рака толстого кишечника, включая миграцию этих клеток из крипты с последующим формированием отдаленных метастазов в печени, была доложена на ESMO-2009 (M.R. Alison).

Возможности современной молекулярной биологии позволяют идентифицировать стволовые клетки рака, которые создают все компоненты злокачественной опухоли как органа и отвечают за развитие рецидивов болезни даже после, казалось бы, успешного предварительного лечения (оперативного или системного). Рецидив болезни может наступить спустя несколько лет после завершения терапии.

Существуют специфические молекулярные маркеры стволовых клеток рака различных локализаций. Такими для рака молочной железы являются клетки CD44, CD133, ALDH1, ESA, B1; ободочной кишки – CD44, CD133, ALDH1, ESA и CD166; предстательной железы – CD44, CD133, ALDH1, B1; головы и шеи – CD44 и ALDH1; поджелудочной железы – CD44, CD24, CD133, ALDH1, ESA; легкого – CD133; печени – CD133; для меланомы – CD133.

Метаболизм стволовых клеток рака отличается от метаболизма других злокачественных клетки. Известно, что раковые стволовые клетки более устойчивы к обычной химиотерапии, чем другие, более дифференцированные клетки. Это объясняется тем, что стволовые клетки почти всегда находятся в химио- и радиорефрактерной фазе покоя (G0), в них имеется высокий уровень транспортеров ABC, очень высока способность репарации ДНК (что определяет феномен множественной лекарственной резистентности), а также высокий уровень антиапоптотических белков. Таким образом, стволовые клетки рака являются малоуязвимыми и практически не чувствительными к традиционной химиотерапии. Получается, что терапия, которая убивает быстропролиферирующие раковые клетки, может уменьшить размеры опухоли, но не вылечить больного.

Гипотеза о стволовых клетках может иметь фундаментальные и далеко идущие последствия для терапии рака.

Учитывая тот факт, что в клинике чаще встречаются большие с опухолевой прогрессией и большими объемами опухолевых масс, терапия в первую очередь должна быть направлена на быстропролиферирующие клетки, иначе организм погибнет (и здесь роль онкохирурга чаще всего бывает ведущей), а затем – на стволовые клетки рака (предотвращение рецидива).

В современной литературе обсуждаются два пути воздействия на стволовые клетки рака. Первый заключается в идентификации и последующей элиминации клеток с целью ликвидации минимальной остаточной опухолевой болезни и предотвращения рецидива. Второй путь направлен на идентификацию клеток и создание условий для

«додифференцировки» опухоли с целью превращения ее в доброкачественную.

Мишенями во всех случаях являются индивидуальные регулирующие сигнальные пути стволовых клеток, которые сейчас интенсивно изучаются: Oct-4, BMP (bone morphogenic protein), Janus family kinase, Notch, Sonic hedgehog (Shh), Wnt, mTOR, транспортеры ABC, малые молекулы (микронны и ингибиторы тирозинкиназы). Перспективным является использование методов генной терапии.

Изучение стволовых клеток рака тесно связано с новым направлением – регенеративной медициной – и может привести к созданию методов реконструкции тканей после онкохирургической абляции.

Гипотеза о стволовых клетках является лишь одним, но очень важным аспектом нынешнего понимания биологии рака и может привести к созданию новой парадигмы лечения в онкологии.

### Клиническая и молекулярная гетерогенность колоректального рака

Попытка рассматривать злокачественную опухоль как скопление большого количества злокачественных клеток в том или ином анатомическом органе не соответствует современным знаниям о механизмах индукции ранних стадий и динамичности поздних стадий канцерогенеза. Нам известно не только то, что опухоль является своеобразным органом, но и то, что не бывает абсолютно одинаковых опухолей. Часто опухоли демонстрируют эмбриональную, морфологическую и молекулярно-генетическую гетерогенность, причем различия в пределах одной нозологической единицы могут быть настолько значимыми, что мы имеем право говорить о различных онкологических заболеваниях с разным прогнозом и разными подходами к терапии.

Не является исключением и колоректальный рак, который демонстрирует эмбриональную и молекулярно-генетическую гетерогенность, что проявляется клиническим разнообразием течения заболевания.

Хотя традиционно рак ободочной и прямой кишки рассматривают как одну нозологическую единицу, клиницисты знают, что это как минимум две различные локализации. Даже в пределах одного органа (прямой кишки) наблюдаются филогенетические различия. Например, средне- и верхнеампулярные отделы прямой кишки развиваются из эндодермального аноректального синуса, а нижнеампулярные отделы – из эктодермальной анальной воронки, которые впоследствии соединяются друг с другом и формируют единый орган. О том, что «нижний» и «верхний» рак прямой кишки могут отличаться не только морфологически (плоскоклеточный вариант или аденокарцинома), но также прогнозом и методами лечения, хорошо известно.

Недавно было показано, что рак демонстрирует гетерогенность даже в пределах правой и левой половины ободочной кишки. Несмотря на то что весь толстый кишечник развивается из первичной задней эмбриональной кишки, в правой его половине часто встречается гиперметилирование MHL1 и коллапс теломер, в то время как в левой половине ободочной кишки эти специфические и важные молекулярные события канцерогенеза отсутствуют. Поскольку гиперметилирование MHL1 может определять чувствительность опухолевых клеток к химиотерапевтическим агентам, в частности к фторпиримидинам, это может оказать влияние на индивидуализацию лечения и эффективность терапии рака ободочной кишки.

Давно известно, что при одних и тех же клинических стадиях колоректального рака (Dukes, TNM) продолжительность жизни больных может существенно отличаться. Эти отличия обусловлены индивидуальностью различных опухолей. Пришло время создания новой классификации рака прямой и ободочной кишки, основанной на молекулярно-генетических характеристиках опухоли. Такие классификации, разделяющие опухоли на множество молекулярных субтипов, уже существуют применительно к раку молочной железы, раку яичника, раку легкого, первичному раку печени и т. д.

Молекулярно-генетическая гетерогенность эпителиальных опухолей толстого кишечника, являющаяся следствием нестабильности генома, также послужила поводом для разделения опухолей на молекулярные субтипы. Сейчас разделяют опухоли с хромосомной нестабильностью, микросателлитной нестабильностью и опухоли с гиперметилированием CpG-островков (CpG-динуклеотидов).

При соматическом раке с хромосомной нестабильностью в виде потери зиготности 18gLOH (80-85% всех случаев спорадического колоректального рака в зависимости от клинической стадии) в канцерогенез вовлекаются гены APC, TP53 и SMAD4. При гиперметилировании MLH1, как указано выше, процесс локализуется преимущественно в правой половине ободочной кишки, характеризуется низкой степенью дифференциации клеток и агрессивным течением. Метилирование CpG-островков с вовлечением генов MLH1, MINT1, MINT2, MINT3 (15% всех случаев рака) приводит к нарушению репарации ДНК, что может формировать феномен лекарственной резистентности.

При наследственном раке ободочной кишки (MYH-ассоциированный полипоз, наследственный неполипозный рак) в канцерогенез вовлекаются другие гены. При мутации MYH в слизистой кишечника обнаруживаются более 15 аденом с повышенным риском развития рака, мутации MLH1, MSH2, MSH6, MLH1, MSH2, MSH6 ассоциированы с развитием первично-множественного рака кишечника. У этих же больных повышен риск рака эндометрия, желудка, уретелия и часто наблюдается ускорение опухолевой прогрессии.

Часть описанных молекулярно-генетических тестов является прогностическими, часть – предиктивными. Все они уже сегодня учитываются (или должны учитываться) в повседневной онкологической практике, в том числе в практике онкохирурга.

Так, при мутации гена APC при семейном наследственном полипозе в 80-100% случаев развивается рак кишечника, что требует выполнения профилактической проктоколектотомии.

При мутации MLH1, MSH2, MSH6 в 40-80% случаев повышается вероятность развития злокачественной опухоли при неполипозном наследственном синдроме. У этих же больных повышен риск рака эндометрия. Практические рекомендации – регулярная колоноскопия, профилактическая колэктомия и гистерэктомия.

У больных с гиперметилированием MLH1 в результате микросателлитной нестабильности или потери опухолью MLH1-протеина (что, кстати, выявляется с помощью обычного иммуногистохимического, а не молекулярно-генетического исследования) можно ожидать индолентного течения заболевания. При II стадии рака ободочной кишки таким больным не проводят адьювантную химиотерапию, поскольку было показано, что она может уменьшить выживаемость.

Продолжение следует.