

С.П. Осинский, д.м.н., профессор, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

Микроокружение опухолевых клеток и опухолевая прогрессия

Несмотря на впечатляющие достижения молекулярной биологии, химии, физики, которые позволили расшифровать базовые механизмы возникновения злокачественных опухолей, создать ряд принципиально новых по механизму действия противоопухолевых препаратов, значительно улучшить возможности инструментальной диагностики, распространение онкологических заболеваний продолжает оставаться одной из наиболее серьезных проблем медицинского сообщества.

Несмотря на впечатляющие успехи молекулярной биологии, химии, физики, которые позволили расшифровать базовые механизмы возникновения злокачественных опухолей, создать ряд принципиально новых по механизму действия противоопухолевых препаратов, значительно улучшить возможности инструментальной диагностики, проблема онкологических заболеваний продолжает оставаться одной из самых серьезных проблем современности.

На одном из наиболее представительных научных форумов, посвященных исследованиям в области онкологии, конференции Американского общества клинической онкологии (ASCO), состоявшейся в 2011 году, рассматривалась проблема неудач онкологических исследований. В рамках специальной панельной дискуссии, посвященной этой проблеме, профессор L. Ellis (MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA), проанализировав причины сложившегося положения, предложил подходы к повышению эффективности исследований в области злокачественного роста. Было отмечено, что одной из первоначальных причин явился ошибочный выбор моделей опухолевого роста, в частности мышинных опухолей. Так как эти опухоли растут у мышей значительно быстрее, чем новообразования у человека, агенты, которые тестировались в качестве противоопухолевых, действовали на быстро делящиеся клетки и, естественно, оказывали положительный эффект на мышах, но не демонстрировали его в клинике. Объясняя это несоответствие, профессор L. Ellis заметил, что ученые, работающие с опухолями у экспериментальных животных, должны иметь дело с новообразованиями, которые растут медленно, так как в этих условиях формируется микроокружение опухолевых клеток, которое, как установлено в настоящее время, играет ключевую роль в росте опухоли и ее прогрессии.

Справедливости ради следует заметить, что подобная постановка вопроса не является новой. Еще в 1977 г. C.J. Masters писал, что классические концепции контроля клеточного метаболизма требуют перепроверки в свете реальности микроокружения клеток. В.С. Шапот и Г.И. Потапова (1986) писали о несоответствии исследований по биохимии опухолей in vitro реалиям in vivo. R.S. Kerbel (1995) высказал мнение, что молекулярные биологи, работающие в области онкологии, допускают несколько упрощенный подход к проблеме злокачественного роста. L. Xu и I.J. Fidler (2000) подчеркнули значение величины pH для поведения опухолевых клеток, что не учитывается в работах in vitro. O. Tredan и соавт. (2007) указали на наличие в опухоли значительных градиентов величин напряжения кислорода и pH, влияющих на чувствительность опухолевых клеток к противоопухолевым препаратам и приводящих к тому, что чувствительные к цитостатикам клетки в тканевой культуре оказываются резистентными к ним в условиях in vivo.

В целом можно констатировать, что несомненно существуют определенные условности при выполнении работ по изучению опухолей in vitro, так как при этом не учитываются характерные параметры микроокружения опухолевых клеток и гетерогенность опухолевой ткани. Имеет место также недооценка того, что опухоль развивается в целостном организме и находится с ним в сложных молекулярно-клеточных взаимоотношениях.

В 2005 г. в Бюллетене Британской ассоциации противораковых исследований была названа одна из причин этой недооценки — «концепция активного участия микроокружения опухоли в росте новообразования и в метастазировании находилась в тени почти исключительного фокусирования усилий исследователей в области онкологии на геноме опухолевой клетки».

В последнее время ситуация заметно изменилась. Положение о том, что микроокружение опухолевых клеток играет ведущую роль в развитии новообразования и опухолевой прогрессии активно воспринимается в среде онкологов-исследователей. Примечательна в этом плане публикация D. Hanahan и L. Coussens (2012), в которой развивается концепция микроокружения опухоли. Авторы делают акцент на том, что одни лишь опухолевые клетки не манифестируют онкологическое заболевание, они «заставляют» нормальные клетки организма, как находившиеся в органе, в котором формируется опухоль, так и клетки других органов и тканей «работать» на себя, создавая своеобразное сообщество клеток, оказывающееся вне законов организма.

Сегодня наблюдается увеличение числа работ, в которых изучается микроокружение опухоли, что указывает на важность понимания незаменимости исследований в области онкологии на патофизиологических принципах. Примечательно, что основы таких исследований были заложены в конце 19-го и начале-середине 20-го веков выдающимися патологами и патофизиологами, в частности K. Thiersch, P. Virchow, M. Borst, E.B. Пеликаном, А.А. Богомольцем, Р.Е. Кавецким, идеи которых о роли взаимодействия опухоли и организма в развитии опухолевой болезни были позднее поддержаны J. Greenstein, R.W. Beggs, B.C. Шапотом.

Что такое микроокружение опухолевых клеток?

Нужно четко уяснить, что опухоль представляет собой сложную биологическую систему, тесно связанную с организмом, в котором она возникла и развивается. Принципиально важно учитывать, что опухолевые клетки находятся в окружении различных по своей природе факторов, которые и формируют микроокружение опухоли или, более правильно, микроокружение опухолевых клеток. К факторам микроокружения опухоли относятся различные клетки и структуры, простые химические вещества и сложные макромолекулы. В результате анализа многочисленных новых публикаций, которые появляются практически каждую неделю, предлагается рассматривать четыре вида микроокружения опухолевых клеток (S. Osinsky, A. Sica, P. Vaupel, 2012).

1. Патофизиологическое микроокружение опухоли: ангиогенез, перфузия и микроциркуляция, сосудистая проницаемость; лимфатическая система (сосуды); интерстициальное пространство, давление интерстициальной жидкости (осмотическое и онкотическое).

2. Метаболическое микроокружение (метаболическая микросреда) опухоли: оксигенация (гипоксия); гликолиз (лактат); ограничение питания; внеклеточный ацидоз vs внутриклеточной щелочности; биоэнергетический статус; редокс-статус.

3. Стромальное микроокружение опухоли: неопухолевые клетки — эндотелиальные,

перициты, гладкомышечные, фибробласты, миофибробласты; внеклеточные молекулы (неклассические элементы стромы): молекулы адгезии, факторы роста, гормоны, протеазы и другие ферменты, метаболиты; внеклеточный матрикс (ВКМ) (элементы соединительной ткани, например волокна); взаимодействие между опухолевыми клетками и клетками ВКМ.

4. Иммунологическое микроокружение (активные элементы) опухоли: клетки — макрофаги, дендритные клетки, тучные клетки, ЕК-клетки, наивные лимфоциты и лимфоциты памяти, В-клетки, эффекторные Т-клетки (лимфоциты-хелперы, регуляторные Т-клетки, цитотоксические Т-клетки), эозинофилы, зрелые миелоидные клетки; молекулы — цитокины, хемокины; воспаление и его составляющие.

Естественно, данная классификация не претендует на окончательность, в нее могут вноситься коррективы. Основной причиной, которая побудила авторов выделить именно эти виды микроокружения опухоли, стала легкость употребления данного термина в различных публикациях, что в определенной степени упрощает положение вещей. В понятие микроокружения опухоли практически всегда включают стромальные элементы и, в последнее время, иммунокомпетентные клетки. В то же время опухолевые клетки находятся не только среди других клеток или молекул, производимых этими клетками, но и в своеобразной физико-химической среде, которая во многом предопределяет их поведение. Несомненно, что факторы всех видов микроокружения находятся в тесном взаимодействии, являясь основой формирования взаимоотношений между опухолью и организмом, которое «контролирует» развитие и течение опухолевой болезни, о чем писал в свое время Р.Е. Кавецкий (1937, 1950, 1962). Вопросы взаимодействия опухоли и организма в настоящее время становятся одной из топ-проблем современной онкологии.

В представляемой читателю статье рассмотрены основные факторы двух видов микроокружения — патофизиологического и метаболического, являющиеся направляющими в формировании и функционировании элементов стромального и иммунологического микроокружения. Эти аспекты проблемы будут обсуждаться в следующей публикации.

Патофизиологическое микроокружение опухоли — ангиогенез, перфузия, проницаемость сосудов и давление интерстициальной жидкости

Основные характеристики внутренней среды злокачественных опухолей, по которым они существенно отличаются от нормальных тканей, во многом предопределяются особенностями строения и функционирования их сосудистой сети (табл.). Она

Таблица. Показатели патофизиологического микроокружения опухолевых клеток в новообразованиях человека		
Показатель	Опухоль	Нормальная ткань
Скорость кровотока (мл/100 г ткани в мин)	39 (1-180)	98 (2,5-500)
pO ₂ , мм Hg	14,6 (5-28)	42,7 (24-66)
Гипоксическая фракция клеток (pO ₂ <5 мм Hg), %	33,7 (1-64)	0,5 (0-1)
pH внеклеточный, ед	6,90 (6,25-7,23)	7,40 (7,06-7,63)
pH внутриклеточный, ед	7,33 (7,11-7,96)	7,13 (7,0-7,25)
Давление интерстициальной жидкости, мм Hg	20 (5-40)	1 (-3 - +3)
Примечание: приведены средние значения (в скобках — разброс значений); данные из работ P. Vaupel (1995, 1999).		



С.П. Осинский

формируется из двух типов сосудов: предсуществующих, то есть тех, что были в нормальной ткани, в которой опухоль появилась, и новых сосудов, которые являются результатом неоваскуляризации благодаря активной продукции проангиогенных факторов как опухолевыми клетками, так и клетками стромы. Оба типа сосудов развиваются аномально в структурном и функциональном отношении, формируя уникальную микрососудистую сеть опухоли.

Внутриопухолевый кровоток характеризуется прежде всего заметной гетерогенностью и часто небольшой скоростью. Специальные методики позволили установить, что сосудистая сеть солидных опухолей отличается неупорядоченной архитектоникой, которая характеризуется расширенными и извилистыми сосудами, наличием артериовенозных шунтов, слепых концов, сдавленных сосудов, выпячиванием сосудистой стенки, извилистых синусоидов, отсутствием гладкомышечной компоненты и иннервации, а также наличием неполной эндотелиальной выстилки и дефектов базальной мембраны, что делает сосуды «дырявыми». Сосуды опухоли часто развиваются из посткапиллярных венул, что приводит к появлению выраженных продольных градиентов pO₂ внутри самих сосудов. Такие аномалии вызывают нарушения кровоснабжения, что ведет к временному «выключению» сосудов, появлению градиента концентраций кислорода и питательных веществ вдоль сосудов как в поперечном, так и в продольном направлениях, и даже реверсии кровотока.

Результат перечисленных изменений сосудистой сети опухоли есть замедление кровотока и ухудшение снабжения опухоли кислородом и питательными веществами. Внутриопухолевая сосудистая сеть может значительно различаться в опухолях одной и той же локализации, гистологического строения и даже степени дифференцировки. Важно также отметить, что сосудистое ложе опухоли является не только системой, снабжающей новообразование всем необходимым для жизнедеятельности, но и транзитным путем для опухолевых клеток, которые выходят из первичного опухолевого узла и дают начало формированию регионарных и отдаленных метастазов. Характеристики сосудистой сети давно привлекают к себе внимание как маркеры прогноза опухолевой прогрессии, а также суррогатные маркеры гипоксии. Высказывается мнение, что высокий уровень васкуляризации может определять агрессивный и метастатический потенциал опухоли. Вместе с тем достаточно хорошее кровоснабжение обеспечивает лучший транспорт кислорода и лекарственных средств в опухоль, что положительно влияет на результаты лучевой и химиотерапии. Уровень ангиогенеза в опухоли в широком смысле этого понятия оценивается с помощью ряда методов, из которых наибольшее

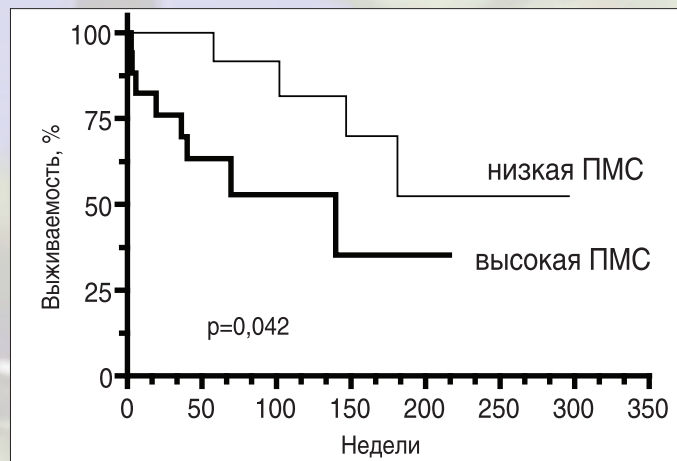


Рис. 1

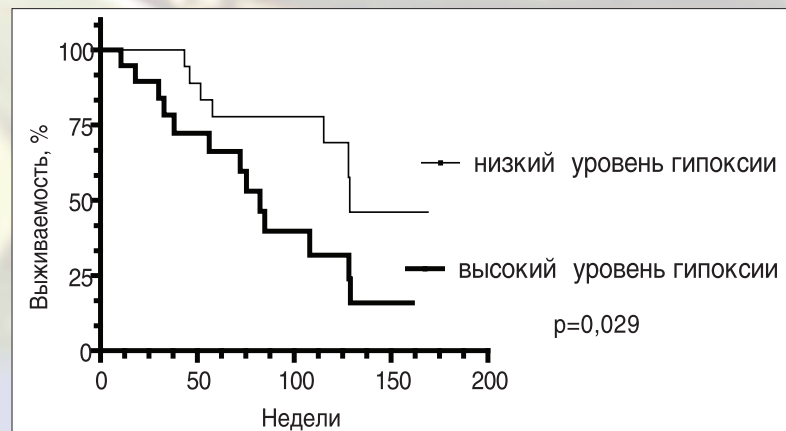


Рис. 2

применение в клинике получил иммуногистохимический, базирующийся на идентификации в гистологических срезах опухолевой ткани наиболее интенсивно васкуляризованных участков, обозначаемых как «горячие точки», и подсчета в этих точках так называемой «плотности микрососудов» (ПМС) или, как принято в англоязычной литературе, microvessel density (MVD), а также на определении количества клеток, экспрессирующих фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF). Для идентификации микрососудов применяются иммуногистохимические методы выявления эндотелиальных клеток с помощью моноклональных антител к фактору von Willebrandta (VWF), который экспрессируется клетками зрелого эндотелия, к антигенам CD31, CD34 и CD105 (эндотелин, рецептор трансформирующего фактора роста- β), характерным для клеток микрососудов, которые активно растут, что позволяет оценивать уровень неоваскулогенеза или неоваскулогенеза. Высокий уровень ангиогенеза в опухоли является фактором неблагоприятного прогноза заболевания (рис. 1).

Рассматривая наиболее значимые особенности кровотока в опухолях, следует выделить его общие характеристики:

I — *скорость кровотока*, которая характеризует объем крови, приходящий через определенный объем ткани в единицу времени.

II — *проницаемость сосудов*, которая характеризует интенсивность перехода кислорода, регуляторных молекул, питательных веществ из сосудов в интерстициальное пространство и в противоположном направлении. Следует при этом заметить, что проницаемость сосудов опухоли в среднем в 3–10 раз выше, чем в исходных нормальных тканях или неопухолевых тканях организма, пораженного новообразованием. В этих условиях естественно было ожидать лучшего проникновения лекарственных средств из внутрисосудистого в интерстициальное пространство опухоли. В реальных же условиях это практически не происходит из-за наличия в опухоли сосудов с разной степенью проницаемости, иными словами «гетерогенности» самой сосудистой проницаемости.

III — *эффективность перфузии*, которая дает представление о том, насколько эффективно разносится кровь к разным участкам опухоли в зависимости от структуры сосудов, колебаний осмотического давления, наличия некрозов и тому подобное.

Исследования опухолей человека позволяют представить следующие наиболее характерные черты кровотока в злокачественных новообразованиях: 1) скорость внутриопухолевого кровотока значительно варьирует в опухолях даже одного гистологического строения и локализации и составляет 0,01–2,9 мл/г/мин; 2) скорость кровотока в опухолях человека может быть выше или ниже, чем в ткани, в которой эта опухоль появилась, в зависимости от ее функционального состояния (например, средний кровоток в ткани рака молочной железы существенно выше, чем в молочной железе в период постменопаузы, и значительно ниже, чем в молочной железе в период лактации); 3) средняя скорость кровотока в карциномах не отличается существенно от такой в саркомах мягких тканей; 4) поступление крови к участкам метастазов практически не отличается от такого к первичной

опухолью, за исключением метастазов в печени, к которым кровь поступает главным образом через порталную систему; 5) перфузия в некоторых опухолях на периферии значительно выше, чем в центре, тогда как в других новообразованиях она значительно выше в центральной части опухоли по сравнению с ее краевой зоной; 6) внутриопухолевый кровоток демонстрирует заметную гетерогенность, в том числе и временную; 7) не обнаружена корреляция между размером опухоли и скоростью кровотока во многих видах новообразований; 8) кровоток в опухоли не регулируется в соответствии с потребностями метаболизма, как это происходит в нормальных тканях.

Следует также отметить, что для интерстициального пространства злокачественных опухолей характерным является: 1) увеличение объема в 3–5 раз по сравнению с объемом большинства нормальных тканей; 2) высокая интерстициальная гидравлическая проводимость и диффузия; 3) относительно большое количество подвижной жидкости, в частности свободно подвижной жидкости, в противоположность нормальным тканям, в которых почти вся жидкость находится в тельевой фазе; 4) быстрым распространением водорастворимых агентов (например, контрастных веществ) благодаря значительной внесосудистой конвекции.

Ранее упоминалось, что растущая опухоль продуцирует новые, часто аномальные, «дырявые» (сверхпроницаемые) микрососуды, но она не в состоянии формировать «собственные» лимфатические сосуды, которые были бы функционально значимыми. В результате этого образуется значительный поток трех жидкостей в интерстициальном пространстве. При этом в нормальной ткани конвекционные потоки в интерстициальном пространстве оцениваются приблизительно 0,5–1% потока плазмы, тогда как в опухолях человека выход воды из сосудов в интерстициальное пространство может достигать 15% соответствующего потока плазмы сосудами крови. После такого обильного выхода из сверхпроницаемых микрососудов опухоли достигается равновесие, благодаря которому гидростатическое и онкотическое давление в микрососудах и, соответственно, в интерстициальном пространстве становится одинаковым, при этом жидкость аккумулируется во внеклеточном матриксе опухоли, создавая высокое давление интерстициальной жидкости (ДИЖ), столь характерное для солидных опухолей. Сверхпроницаемость сосудов, потеря функциональных способностей лимфатических сосудов, приводящая к низкому лимфатическому дренажу, плохая внутриопухолевая перфузия, высокая плотность опухолевых клеток вокруг кровеносных сосудов, интерстициальный фиброз и уменьшение интерстициального пространства, что опосредуется стромальными фибробластами, способствуют развитию интерстициальной гипертензии. Установлено, что в опухолях значения ДИЖ могут достигать 40–60 мм рт. ст., что создает «физиологический» барьер для доставки «терапевтических» макромолекул к опухолевым клеткам. ДИЖ однородно во всем центре опухоли и резко падает на периферии. Жидкость выдавливается из участков с высоким давлением в участки с низким давлением на границе опухоль/нормальная ткань, выводя наружу противоопухолевые препараты. Следует заметить, что не все микрососуды

опухоли «дырявые». Сосудистая проницаемость варьирует от опухоли к опухоли и показывает как пространственную, так и временную гетерогенность в одной и той же самой опухоли в зависимости от фазы ее роста или регрессии. Более того, ДИЖ в опухолях колеблется в соответствии с изменениями микрососудистого давления. Трансмуральная связь ДИЖ с микрососудистым давлением за счет высокой проницаемости микрососудов опухоли может ликвидировать различия в перфузионном давлении между теми кровеносными сосудами, которые приносят кровь, и теми, которые ее выносят, приводя к стазу кровотока в опухолях без «физической» закупорки (компрессии) сосудов. Равновесие гидростатического давления между интерстициальным и микрососудистым компартментами сопровождается подобным равновесием онкотического давления в обоих пространствах (20,0 мм рт. ст. в плазме против 20,5 мм рт. ст. в солидных опухолях).

Приведенные данные убедительно демонстрируют всю сложность функционального строения опухоли, которое невозможно учесть в опытах *in vitro*, результаты которых должны переноситься на опухоли *in vivo* и тем более на опухоли человека с очень большой осторожностью.

Метаболическое микроокружение: оксигенация (гипоксия); гликолиз (лактат); внеклеточный ацидоз vs внутриклеточной щелочности Гипоксия опухоли

Преобладающее большинство солидных опухолей характеризуется состоянием гипоксии, иными словами, сниженной величиной парциального напряжения кислорода (pO_2). Принято считать оксигенацию, при которой в ткани содержится более 10% кислорода, физиологической, около 0,5% — умеренной и около 0,1% — плохой, что соответствует сильно выраженной или тяжелой гипоксии. При концентрации кислорода 0,5–2,5% клетки находятся в состоянии промежуточной гипоксии. Существует также состояние аноксии, когда величина pO_2 равна 0.

Как правило, причиной тканевой гипоксии является неадекватное снабжение кислородом, уровень которого не обеспечивает потребности клетки. Гипоксия может быть вызвана рядом факторов, среди которых низкая величина pO_2 артериальной крови (гипоксемическая гипоксия), сниженная способность крови переносить кислород («анемическая» гипоксия), уменьшенная общая и местная тканевая перфузия (циркуляторная или ишемическая гипоксия), увеличенное расстояние диффузии кислорода от микрососудов (диффузионная гипоксия), неспособность клеток усваивать кислород из-за интоксикации (гисто- или цитотоксическая гипоксия).

В 1955 году R.H. Tomlinson и L.H. Gray наблюдали некроз опухолевых клеток, которые находились на расстоянии более 150 μ м от кровеносных сосудов, то есть приблизительно на дистанции диффузии кислорода. Было показано, что в частях опухоли с радиусом более 200 μ м всегда присутствует кислород. При изучении гистологических срезов опухолей человека было установлено, что постоянное расстояние между кровеносными сосудами и участками некроза составляет обычно 100–150 μ м. R.H. Tomlinson и L.H. Gray предположили

наличие диффузионного градиента напряжения кислорода между хорошо оксигенированными клетками, которые прилегают к кровеносным сосудам, и участками некроза. Они также допустили, что гипоксические, но живые клетки могут быть в зонах, которые непосредственно прилегают к очагам некроза. Эта теория выдержала проверку временем и получила интенсивное развитие, представляя сегодня одно из важнейших направлений работ в онкологии.

Выделяют два основных вида гипоксии в опухоли: хроническую, или лимитированную диффузией, и острую, лимитированную перфузией. Диффузионно-лимитированная гипоксия возникает вследствие размещения опухолевых клеток слишком далеко от капилляров, приносящих кислород, чтобы последний мог свободно диффундировать и достигать клеток. Считается, что это расстояние составляет 100–150 μ м, как и показали в свое время R.H. Tomlinson и L.H. Gray. При острой (интермитированной) гипоксии клетки становятся гипоксическими в различные отрезки времени. Интермитированный тип гипоксии может возникать благодаря «аномалиям» сосудистой сети опухоли, таким как мешковидные выпячивания сосудистой стенки, сдавливание сосудов, артериовенозная мальформация и извилистость синусоидов, что приводит к нарушениям кровотока. Кровоток во временно сдавленных сосудах может затем восстанавливаться, обуславливая эффекты реперфузии, среди которых — увеличение концентрации свободных радикалов, разрушение ткани и активация стресс-зависимых генов. Следует заметить, что рассмотрение только двух типов внутриопухолевой гипоксии несколько упрощает проблему. Показано, например, что гипоксия может развиваться в участках опухоли с высоким интерстициальным давлением, характерным, как отмечалось выше, для злокачественных новообразований.

Ряд исследований, в которых использовались гипоксиязависимые маркеры, в частности пимонидазол, четко показал наличие в опухолях человека клеток с признаками хронической гипоксии. Острая гипоксия не может быть непосредственно выявлена в опухолях человека, но изучение внутриопухолевого кровотока с применением доплерографической лазерной методики показал, что флуктуирующий кровоток имеет место в опухолях человека, свидетельствуя о наличии острой гипоксии.

Наличие гипоксии обнаружено в тканях рака шейки матки, молочной железы, предстательной железы, поджелудочной железы, желудка, плоскоклеточного рака головы и шеи, меланомы. Величины напряжения кислорода обычно очень гетерогенны как в различных опухолях одного и того же вида, так и в отдельно взятой опухоли. Уровень оксигенации измеряется полярографическими электродами, которые весьма широко используются в клинических исследованиях и служат «золотым стандартом» определения уровня оксигенации ткани. К сожалению, применение электродов позволяет выявить лишь радиобиологическую фракцию опухолевых клеток без получения данных об их важных биологических характеристиках. Кроме того, электродная техника может быть реально применена лишь для опухолей, доступных для введения электродов без классического оперативного вмешательства (опухоли шейки матки, молочной железы, головы и шеи, саркомы мягких тканей). Альтернативным методом определения уровня оксигенации является метод иммуногистохимического обнаружения экспрессии экзогенных и эндогенных маркеров гипоксии, который дает информацию о пространственном распределении гипоксических участков в опухолевой ткани.

Гипоксия и опухолевая прогрессия

В ряде работ были получены доказательства того, что гипоксия, вызванная в результате мутации гена *P53* и последующей его селекции, может способствовать формированию в опухоли более агрессивного фенотипа. Установлено также, что гипоксия опухоли активирует злокачественную прогрессию благодаря промоции ангиогенеза, индуцируя

Продолжение на стр. 36.

С.П. Осинский, д.м.н., профессор, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

Микроокружение опухолевых клеток и опухолевая прогрессия

Продолжение. Начало на стр. 34.

экспрессию проангиогенных белков, в частности VEGF. Клинические данные подтверждают вывод об участии гипоксии в формировании агрессивности новообразования. В частности, было показано, что в саркомах мягких тканей и карциномах шейки матки гипоксия является независимым и высокоинформативным прогностическим фактором склонности опухоли к метастазированию (рис. 2).

Прогрессия трансформированных клеток требует аккумуляции изменений в онкогенах, стимулирующих рост, и угнетения генов-супрессоров опухоли, которые тормозят рост. A. Giaccia (1999) предложил модель эволюции агрессивных опухолей, в которых гипоксия обеспечивает физиологическое селективное давление, приводящее к экспансии трансформированных клеток, которые потеряли апоптотический потенциал. Такие клетки, у которых отсутствует апоптотическая программа, могут иметь преимущества в способности выживать перед другими клетками, когда они подвергаются эндогенному стрессу (в частности, слабая оксигенация) или экзогенному стрессу, индуцированному различными агентами, например ионизирующей радиацией. Подобные преимущества в способности выживания раковых клеток при неблагоприятных условиях могут быть важной детерминантой усиления опухолевой прогрессии путем стимуляции экспрессии проангиогенных факторов роста или усиления метастатического потенциала злокачественных клеток. Кроме того, изменения оксигенации опухоли могут вызывать не только временные фенотипические изменения, приводящие к резистентности к противоопухолевым средствам, но также изменения в генотипе опухолевых клеток, что усиливает опухолевую прогрессию. Высказано предположение, что основой опухолевой прогрессии есть «нестабильность генома, проявления которой модулируются микроокружением опухолевых клеток» (T.Y. Reynolds и соавт., 1996).

Гликолиз опухоли

В 1924 г. O. Warburg удалось обнаружить, что срезы различных опухолевых тканей продуцируют больше молочной кислоты, чем срезы нормальных, причем как в анаэробных, так и в аэробных условиях. В многочисленных работах было показано, что опухолевые ткани способны утилизировать и превращать в лактат значительно больше глюкозы, чем нормальные. Это, пожалуй, наиболее характерное свойство злокачественных опухолей, которое стимулировало появление многих работ фундаментального и прикладного характера. Удалось четко доказать, что существует прямая связь между скоростью роста экспериментальных опухолей, степенью их злокачественности и величиной анаэробного гликолиза. В работах с опухолями человека были получены аналогичные результаты, которые подтвердили мысль о том, что значительное усиление анаэробного гликолиза является постоянным признаком неопластической трансформации.

Следует отметить, что довольно интенсивный гликолиз, в частности аэробный, наблюдается и в клетках нормальных тканей, таких как лимфатические узлы, эмбриональные ткани, слизистая оболочка кишечника, сетчатка глаза, сперматозоиды, гранулоциты крови. В отличие же от этих объектов опухолевые клетки утилизируют глюкозу со значительно большей скоростью, даже в аэробных условиях. При этом отмечается подавление потребления кислорода гликолизом (эффект Кребтри). Неэффективность анаэробного пути для продукции клетками энергии компенсируется увеличением количества и повышением скорости потребления глюкозы, что способствует развитию гипогликемии в организме с опухолью и позволяет характеризовать опухоль как своеобразную «ловушку» глюкозы (B.C. Шапот, 1975).

Феномен, который впервые описал O. Warburg более 80 лет назад, был подтвержден в экспериментальных и, главное, в клинических исследованиях последних лет и называется в современной научной литературе «эффект Варбурга» (E. Racker, 1972 г.). Примечательно, что необычно высокое усвоение глюкозы клетками солидных опухолей различной локализации (причем и в аэробных условиях) лежит в основе метода позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) с использованием ^{18}F fluorodeoxyglucose (FDG) в качестве метки. ПЭТ получила развитие и теперь весьма интенсивно применяется с диагностическими целями, позволяя обнаружить даже микроскопические скопления опухолевых клеток.

Усиленный аэробный гликолиз представляет собой уникальное явление для опухолей и наблюдается почти во всех злокачественных новообразованиях. Причины и механизмы аэробного гликолиза в опухолях продолжают оставаться не вполне понятными. Некоторые исследователи считают, что он появляется первично как эволюционная адаптация к локальной гипоксии опухоли, тогда как другие придерживаются гипотезы, согласно которой гликолитический фенотип возникает благодаря клеточному подщелачиванию, которое развивается очень рано при неопластической трансформации. Несмотря на различия во взглядах, мнения исследователей сходятся в одном — гликолитический фенотип является практически универсальным феноменом опухолей человека.

При таком интенсивном гликолизе естественно ожидать образования в опухоли большого количества лактата, который будет задерживаться в ее ткани или выходить в кровотоки. Повышение уровня лактатами у онкологических больных и у экспериментальных животных с различными опухолями указывает на выход лактата из опухоли в кровь. Вместе с тем известно, что сосудистое пространство опухоли втрое меньше, чем печени, и в различных опухолях скорость кровотока снижена во много раз по сравнению с нормальными тканями. Благодаря этому при очень интенсивном гликолизе с образованием большого количества лактата и плохого внутриопухолевого кровотока следовало ожидать задержки в опухоли определенного количества лактата. Подтверждение гипотезы было получено в работах C.F. Cori и G.F. Cori (1925), M. Reiss и A. Hochwald (1932), впервые обнаруживших, что в злокачественных новообразованиях в большом количестве накапливается лактат, что приводит в свою очередь к снижению внеклеточного pH, то есть подкислению опухоли.

В большом числе работ с помощью микроэлектродов было установлено, что в опухолях величина pH ниже, чем в исходных нормальных или в неопухолевых тканях организма-опухоленосителя. Это различие составляет приблизительно 0,4–0,5 ед. и регистрируется в экспериментальных опухолях и в новообразованиях человека.

Важно отметить, что оптимальные для роста опухолевых клеток значения pH, как оказалось, смещены в «кислую» сторону: для роста нормальных тканей оптимальный pH 7,5–7,9 ед., для опухолевых — 7,0–7,2. Вместе с тем снижение pH ниже 6,8–6,5 ед. оказывает тормозящее действие на жизнедеятельность опухолевых клеток, хотя в целом они менее чувствительны к ингибирующему эффекту низкого pH, чем нормальные.

Следует также заметить, что приведенные данные, полученные с помощью микроэлектродной техники, относятся к внеклеточному, иными словами, интерстициальному pH. Использование же ^{31}P ЯМР спектроскопии показало, что внутриклеточный pH опухолевых и нормальных тканей практически одинаков, отличаясь один от другого не более чем на 0,1–0,3 ед. Иными словами, внутриклеточный pH не находится в диапазоне «кислых» значений. Полученные

данные позволили считать, что «внутриклеточный алкалоз» является одной из специфических черт злокачественного статуса опухолевых клеток.

Своеобразный гомеостаз опухолевых клеток обусловлен глубокими нарушениями внутриклеточной динамики ионов водорода, что вызвано реакциями на различные факторы роста и канцерогенные стимулы. Этот феномен, индуцированный выходом из клетки протонов, создает ситуацию, которая поддерживается опухолевыми клетками даже в кислом внеклеточном и интерстициальном окружении. Это достигается путем гиперстимуляции разнородных мембранно-связанных H^+ -транспортеров — таких как Na^+/H^+ -обменник (антипорт), Na^+/K^+ -АТФазный насос, H^+ -АТФаза вакуолей, H^+/Cl^- -обменник (симпорт) и монокарбоксилатные транспортеры [(MCTs или лактат-водородные обменники (симпорт)], призванные защищать клетку от вредного влияния ионов водорода. Таким образом, в опухоли создается оригинальная метаболическая ситуация, при которой опухолевые клетки с внутриклеточной «щелочностью» находятся в кислом микроокружении (внеклеточная среда), причем в этой же кислой среде находятся и стромальные, и иммунокомпетентные клетки.

Следует отметить, что величина pH опухолевой ткани играет большую роль в реализации цитостатического эффекта противоопухолевых препаратов, что необходимо учитывать при проведении химиотерапии. Известно, что пассивная диффузия препаратов в клетку происходит тогда, когда молекула препарата не заряжена. Это приводит к тому, что усвоение клеткой лекарств с кислыми или щелочными свойствами зависит от внеклеточного pH, тогда как их захват в заряженной форме в самой клетке — от внутриклеточного pH. Препараты со щелочными свойствами (доксорубицин, митоксантрон, винбластин) снижают свой цитотоксический эффект при низком внеклеточном pH благодаря уменьшению накопления их клеткой. В противовес этому пассивное накопление в клетках препаратов с кислыми свойствами (хлорамбуцил и мелфалан) возрастает со снижением внеклеточного pH. В то же время низкий внеклеточный pH может также ослаблять энергетически зависимое накопление в клетке препаратов с кислыми свойствами, например метотрексата.

Помимо использования феномена интенсивного гликолиза опухоли для ПЭТ-диагностики и необходимости учитывать влияние кислого pH опухоли на действие ряда противоопухолевых препаратов, получает развитие метод оценки агрессивности опухоли и прогноза течения заболевания на основе определения концентрации лактата в опухоли (рис. 3). Получены данные, что высокое содержание лактата в новообразованиях является фактором неблагоприятного прогноза у больных с опухолями головы и шеи, колоректальной карциномой, раком шейки матки. Высказано предположение, что концентрация лактата в первичной опухоли может стать основой новой метаболической классификации опухолей, способствующая повышению эффективности лечения больных.

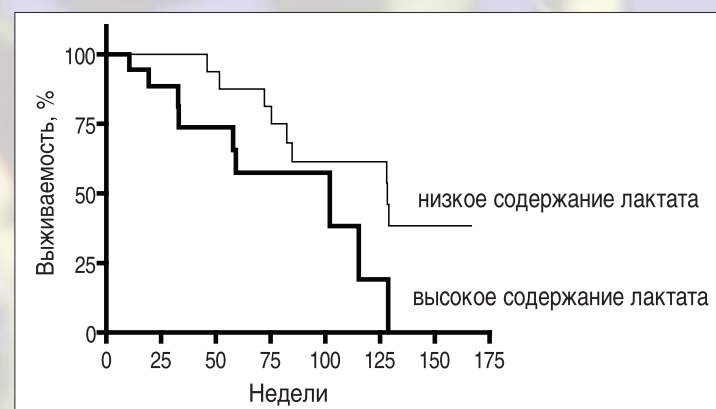


Рис. 3

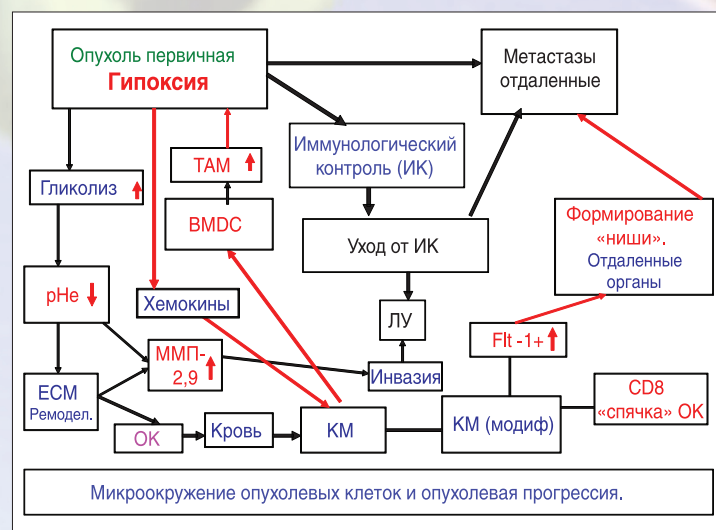


Рис. 4

Заключение: важность понимания и необходимость изучения

Компоненты патологического и метаболического микроокружения опухолевых клеток, упомянутые выше, тесно взаимодействуют между собой и оказывают влияние на факторы стромального и иммунологического микроокружения (рис. 4). Понимание динамики микроокружения и введение в клиническую практику методов качественного и количественного определения элементов функционального микроокружения опухоли позволит осуществлять отбор больных для применения новых видов лечения, а также для индивидуализации терапии, о которой столь много говорят в настоящее время.

S. Mohla и I.P. Witz (2010), известные своими работами в области микроокружения опухоли, предложили придать таким работам статус высокой приоритетности и сконцентрировать усилия на создании функционального атласа микроокружения опухолей различных органов и определении ключевых механизмов, способствующих органно-специфическому метастазированию, а также на развитии стратегии использования микроокружения опухоли в качестве своеобразной мишени.

В последнее время проводится все больше исследований, посвященных микроокружению опухоли, результаты которых публикуются в ведущих научных журналах медицины-биологического профиля и монографиях. Помимо тематических конференций, в названиях которых прямо упоминается слово «микроокружение», эта проблема обсуждается на крупнейших онкологических научных форумах. Необходимо отметить, что основное внимание уделяется стромальному и иммунологическому типам микроокружения, тогда как факторы патофизиологического и метаболического типов микроокружения остаются на втором плане. В то же время влияние последних на строму и рекрутированные в опухоль клетки иммунной системы трудно переоценить. В подготавливаемой нами следующей публикации мы рассмотрим стромальные и иммунологические факторы микроокружения, уделив особое внимание их взаимодействию с факторами микрофизиологии опухоли.