

# Метастатический каскад как терапевтическая и хирургическая мишень

Мы были введены в заблуждение в течение десятилетий, считая, что метастатические раковые клетки ведут себя так же, как клетки первичной опухоли

L.A. Mina, G.W. Sledge Jr.

**Изучение первичной опухоли было всегда доминирующим при планировании фундаментальных и клинических исследований в онкологии. В последние годы наблюдается отчетливое смещение научных интересов в сторону изучения метастатических свойств раковой клетки. На первый взгляд, с точки зрения биологии процесс неэффективный (только 0,01% циркулирующих опухолевых клеток способны формировать метастатические очаги в отдаленных органах), но именно метастатический каскад определяет прогрессию рака и в конечном итоге смерть онкологического больного.**

Процесс метастазирования не хаотичен, как представлялось раньше, а подчиняется строго регулируемым биологическим механизмам. Этот процесс волнообразен и дискретен, имеет множество промежуточных стадий и может характеризоваться как ускоренным, так и замедленным течением. Каждая ступень метастатического каскада может быть мишенью и объектом противоопухолевой терапии.

Помимо хорошо известных антимитотических препаратов (практически все группы цитостатиков), все большее значение в онкологии приобретают новые, так называемые антиметастатические препараты, блокирующие различные ступени метастатического каскада и воздействующие не только на пролиферирующую раковую клетку, но и на ее тканевое микроокружение. В практической онкологии также прочно утвердились методы хирургического лечения олигометастазов.

В статье анализируются теоретические и практические вопросы современной онкологии, связанные с одним из наиболее интересных и загадочных проявлений канцерогенеза — метастатическим каскадом.

## История изучения метастазирования

О том, что злокачественные опухоли метастазируют с помощью клеток, было известно не всегда. Даже великий Рудольф Вирхов, находясь под влиянием гуморальной теории Галена, ошибался, считая, что опухоли метастазируют «клеточными ядами». Возможно, первым, кто обнаружил инвазию раковыми клетками вен и лимфатических сосудов, был Карл Тирш (1865 г.). Впоследствии циркулирующие в крови опухолевые клетки («метастазы в кровь», как считал Н.Н. Петров) были объектом пристального изучения как теоретической, так и клинической онкологии.

Предположение, что раковая опухоль метастазирует не хаотично, а строго в соответствии с определенными биологическими законами, впервые было высказано английским врачом Стивеном Педжетом, лордом, баронетом. В 1889 г. в журнале *Lancet* он описал «метастатические странности рака» и опубликовал свою знаменитую гипотезу органспецифической колонизации. Согласно теории, названной Педжетом *seed and soil* (гипотеза «зерна и почва»), ведущую роль в процессе метастазирования играют не только злокачественные клетки («зерна»), но и их тканевое микроокружение («почва»). Именно Педжетом впервые было высказано предположение о существовании так называемой «преметастатической ниши» (термин появился только спустя 100 лет).

В 1920-х гг. Джеймс Юинг, «шеф американских патоморфологов», оспаривал теорию Педжета, считая, что развитие

метастазов в отдаленных органах обусловлено, в основном, анатомическими и механическими факторами. Юинг предполагал, что опухолевые клетки попадают в ловушку капиллярной сети, где и происходит их экстравазация с последующим формированием метастатических очагов. Согласно «механической» сосудистой теории метастазирования Юинга вероятность развития метастазов в отдаленном органе зависит от плотности сосудов и интенсивности кровообращения в нем. Подобные мнения существовали в практической онкологии вплоть до 1980-х гг.

Первая научная гипотеза — теория предсказуемости метастазирования — принадлежит Уильяму Холстеду. Таким образом, фактически до 1960-х гг. считалось, что раковые клетки из первичной опухоли молочной железы вначале должны попасть в подмышечные лимфатические узлы, а затем гематогенным путем в отдаленные висцеральные органы. Из гипотезы линейной прогрессии следует, что метастазируют только клетки, обладающие высоким злокачественным потенциалом, метастазирование начинается на поздних стадиях рака и возможно развитие метастаза из метастаза.

Концепция Холстеда лежала в основе хирургического лечения рака молочной железы еще до недавнего времени. Действительно, так называемые радикальные мастэктомии по Холстеду лечивали некоторых больных, но не могли предупредить формирования в будущем отдаленных метастазов у большинства пациенток. Прогрессирование часто наблюдалось и на ранних клинических стадиях рака. Кроме того, нередко у больных раком молочной железы регистрировались отдаленные гематогенные метастазы при отсутствии таковых в регионарных лимфатических узлах, что явно противоречило линейной теории метастазирования.

Это обстоятельство позволило Бернарду Фишеру сформулировать альтернативную теорию метастазирования, в которой он приравнивал канцерогенез в солидных опухолях к канцерогенезу при гемобластозах. Например, рак молочной железы ученый рассматривал как изначально системное заболевание. Эта концепция объясняла появление метастазов после, казалось бы, «радикального» лечения первичной опухоли и привела к возникновению теории адьювантной терапии.

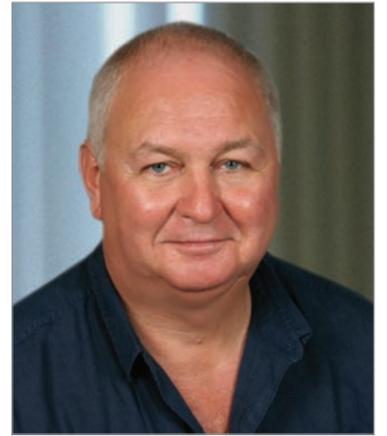
Логическим продолжением теории ранней диссеминации опухолевых клеток стала гипотеза параллельной прогрессии, предложенная недавно Кристофером Кляйном (*Nature Reviews Cancer*, April 2009). Согласно этой гипотезе процесс метастазирования начинается на самых ранних стадиях канцерогенеза, сразу после активации в клетке

протоонкогенов, а не в результате длительного накопления онкогенных мутаций отдельными клеточными клонами в первичной опухоли. Установлено, что эпителиальная клетка уже после фазы инициации способна активировать скрытые эмбриональные программы эпителиально-мезенхимального перехода, приобретать нехарактерную для нее патологическую подвижность, разрушать базальную мембрану, проникать в системный кровоток, достигать пре-метастатической ниши в тканях отдаленного органа и формировать метастаз. Таким образом, исходя из теории ранней диссеминации, основные положения которой сформулированы К. Кляйном *in silico*, формирование метастаза происходит независимо и параллельно с ростом первичной опухоли. Эта концепция позволяет объяснить наличие метастазов опухоли без выявленной первичной локализации и отдаленных метастазов при ранних клинических стадиях рака (T1-2N0M1), а также частые различия в рецепторных и генетических характеристиках первичной опухоли и ее метастазов.

К сожалению, ни одна из приведенных выше теорий не смогла до конца объяснить кинетику роста опухоли, которую описывает экспоненциальная кривая Гомпертца. Результаты последних исследований дают ответ и на эти вопросы, касающиеся особенностей «естественной истории злокачественной опухоли».

Долгое время считалось, что метастатический каскад является однонаправленным процессом. После того, как Лари Нортон сформулировал гипотезу *self-seeding* (самозасева), были раскрыты некоторые тайны метастазирования и биологии опухолевого роста. Из этой гипотезы следует, что процесс метастазирования является двунаправленным и допускает существование рециркуляции, реинфильтрации и колонизации циркулирующими клетками самой первичной опухоли, где для них уже подготовлена преемственная ниша. Выжившая в кровотоке опухолевая клетка, по мнению Л. Нортон, ожидают три варианта развития событий. Циркулирующие опухолевые клетки могут не только колонизировать отдаленные органы, но и сразу же после первичной интравазации возвращаться из кровотока в строму первичной опухоли, колонизируя саму первичную опухоль. Более того, после формирования метастазов в отдаленных органах клетки снова могут проникать в системный кровоток (повторная интравазация) и гематогенно метастазировать в первичную опухоль («метастазы в себя»). Описаны даже наблюдения метастазирования одной опухолью во вторую, синхронную опухоль.

Биологическое значение процесса *self-seeding* заключается в том, что



А.А. Ковалев

агрессивные циркулирующие опухолевые клетки, экспрессирующие металлопротеиназы, коллагеназу-1, компонент цитоскелета фасцин-1, возвращаясь в строму, изменяют и модифицируют микроокружение первичной опухоли. При этом строма получает провоспалительные цитокины (IL-6 и IL-8), а также набор миелиодных клеток-предшественников, которые способствуют ангиогенезу и росту самой первичной опухоли.

Таким образом, гипотеза Л. Нортон рассматривает процесс метастазирования как необходимое условие не только для формирования опухолей в отдаленных органах, но и для роста первичной опухоли.

## Эволюционные механизмы метастазирования

На первый взгляд может показаться, что метастазирование является неэффективным и энергетически затратным биологическим процессом, при котором конечная цель достигается слишком высокой ценой. Действительно, только ничтожно малая часть из миллионов клеток, покидающих первичную опухоль, реализуется в виде отдаленных метастазов. Абсолютно большая часть клеток погибает в системном кровотоке, а многим так и не удается выжить во враждебном микроокружении после экстравазации.

Кажущаяся неэффективность метастатического каскада может найти свое объяснение с точки зрения теории эволюции.

Для клеток злокачественной опухоли характерны три главных фактора биологической эволюции: наследственность, изменчивость, естественный отбор. Сама опухоль развивается в организме человека, который является в данном случае единой экосистемой.

Именно потому, что в основе источника эволюционных процессов лежит принцип гетерогенности, злокачественная опухоль представлена неоднородной популяцией клеток с разнообразным и многочисленным набором мутаций ДНК, нестабильностью генома, хромосомными перестройками и эпигенетическими изменениями. Как известно, сохранение генетического разнообразия — самый надежный, миллионы лет проверенный путь сохранения вида. Сейчас известно, что изменения в геномной ДНК не являются эксклюзивной чертой поздних стадий

рака, а появляются после инициации клетки на самых ранних стадиях развития опухоли и затем усиливаются во время прогрессии.

В высоразвитых организмах гомеостаз поддерживается на уровне тканей. Тканевое микроокружение является эволюционно консервативным и не склонным к морфологическим и функциональным изменениям. Это позволяет обеспечить постоянство нормальной структуры и метаболизма тканей, а также сформировать внешние тканевые барьеры и границы. Они по своей природе могут быть химическими, физическими и биологическими. Среда накладывает жесткие внутренние правила поведения для клеточной популяции и обеспечивает процесс межклеточного взаимодействия.

Однако, как всегда, когда действуют законы эволюции, имеет место противоречие между нестабильностью системы и попыткой сохранить ее целостность.

Раковым клеткам присущи следующие отличительные черты: полное игнорирование процессов межклеточного взаимодействия, ускользание от влияния ростовых факторов и автономия роста. Следствием этого являются преодоление опухолевыми клетками лимита Хейфлика, нелимитированный потенциал репликации и безудержная пролиферация. В основе пролиферативных преимуществ раковой клетки лежит ее приобретенная геномная и эпигеномная неустойчивость, позволяющая клетке динамично изменяться под воздействием факторов ее микроокружения.

Раковая опухоль прогрессирует и развивается, оказывая при этом последовательное давление на окружающую среду. В то же время тканевое микроокружение, пытаясь сохранить свою анатомическую и функциональную целостность, оказывает внешнее давление на раковые клетки, пытаясь остановить их неконтролируемую пролиферацию. Факторы микроокружения опухоли, которые ограничивают ее прогрессирование, включают компоненты внеклеточного матрикса и базальную мембрану, повышение интерстициального давления, ограничение доступности питательных веществ и кислорода с формированием гипоксических зон, продукцию активных форм кислорода, атаку иммунной системы. Поскольку опухоль представлена гетерогенными клетками, различные ее клоны по-разному реагируют на такое давление.

Некоторые клетки, имеющие ограниченные пролиферативные способности, могут оказаться не в силах преодолеть давление окружающей среды и в результате спонтанно регрессируют или же сосуществуют в ней в состоянии равновесия. Другие клетки, имеющие высокую степень гетерогенности и агрессивный фенотип, сопротивляются давлению микроокружения. Чтобы выжить, они преодолевают анатомические и функциональные барьеры, которые сформировались на протяжении миллионов лет эволюции, и драматическим образом приобретают способность к метастатической прогрессии, т. е. попросту покидают неблагоприятное и опасное для них микроокружение.

Налицо подтверждение законов биологической эволюции. При утрате генетических программ слежения за контролем над пролиферацией прогрессивно увеличивается количество злокачественных клеток, что приводит к критическому превышению биологической емкости среды. Экосистема (человеческий организм) пытается регулировать численность клеточного состава уже

не с помощью сигналов роста и утраченных генетических программ слежения за пролиферацией, а с помощью прямых и беспощадных «ультимативных биологических факторов»: ограничения поступления в опухоль кислорода и питательных веществ. В этих условиях в опухоли резко обостряются «внутривидовая» борьба и естественный отбор, вследствие чего формируются особо устойчивые к гипоксии клеточные клоны с изменившимся на анаэробный типом метаболизма (эффект Варбурга), т. е. происходит процесс метаболического перепрограммирования раковой клетки.

Можно предположить, что утрата территориальности, инвазия, миграция и метастазирование миллионов клеток являются естественным вынужденным процессом, во время которого первичная опухоль освобождается от лишних клеток, претендующих на дефицитный кислород и глюкозу, заведомо обрекая большинство из них на гибель в неблагоприятных условиях (в кровотоке и тканях преметастатической ниши). Кстати, ничего необычного в этом феномене нет. В природе существуют доказательства, когда для сохранения целостности популяции при превышении ее плотности рождается так называемое походное потомство, реализующее свою альтернативную программу за счет метастазирования и запланированной гибели вне пределов родившей их системы (В.Р. Дольник). Не исключено, что «метрополия» (первичная опухоль), озабоченная в первую очередь собственным выживанием, изначально и не «планирует» колонизации отдаленных органов. Здесь не лишне напомнить, что в данном случае биологические законы действуют на уровне всей популяции, и «пассионарная» роль одной раковой клетки подчинена задаче выживания всего сообщества.

Таким образом, метастазирование можно представить как эволюционный процесс в пределах экосистемы организма, являющийся следствием жесткого селективного давления тканевых факторов окружающей среды на генетически разнообразные раковые клетки, потерявшие контроль над целостностью генома и использующие для выживания свои приобретенные функциональные преимущества перед другими клетками экосистемы. Метастаз же, несомненно, является конечным результатом эволюции злокачественной опухоли.

В сущности, теория эволюции и естественный отбор объясняют, почему миллионы клеток из первичной опухоли попадают ежедневно в системный кровоток, но только незначительное их количество с приобретенными уникальными генотипическими и фенотипическими характеристиками способны колонизировать отдаленные органы. Еще Ч. Дарвин писал, что «выживает не самый сильный и не самый умный, а тот, кто умеет изменяться и приспособливаться».

Эволюционный подход к изучению процессов канцерогенеза не является пессимистичным. Наоборот, сегодня мы не только начинаем понимать, как происходит развитие опухоли и ее метастазирование, но и почему это происходит. Законы эволюционного развития уже находят применение в экспериментальной онкологии. В 2009 г. в *British Journal of Cancer* David Dingli опубликовал статью, где на основании метода эволюционной теории игр предложил принципиально новый подход к терапии рака. Мишенью воздействия при проведении терапии, по мнению ученого, должна быть не сама раковая клетка,

а клетки микроокружения, в котором она развивается. Создание определенных морфофункциональных преимуществ для нормальных клеток экосистемы человека должно привести к естественному угнетению злокачественного клона. Эволюционная теория игр Dingli, управляя межклеточным взаимодействием в рамках знаменитого порочного круга деградации кости (остеокласт — остеобласт — злокачественная клетка), легла в основу экспериментального метода лечения миеломы. Этот подход, несомненно, окажется прогрессивным при планировании в будущем клинических методов лечения опухолей и других локализаций.

#### «Геометрия» опухоли и процесс метастазирования

Общеизвестно, что солидная опухоль, которую многие исследователи приравнивают к отдельному органу, состоит не только из гетерогенных злокачественных клеток («иерархия клеток»), но также представлена клетками стромы; в состав последней входят предсуществующие и вновь образованные сосуды, нервы, соединительная ткань. Ложе необходимо как для кровоснабжения и метаболизма клеток опухоли, так и для реализации их метастатической функции.

В клинической онкологии принципиальное значение приобретают понятия «поверхность» опухоли, «передний край» или, как его называют в западных научных изданиях, «инвазивный фронт» новообразования. Поскольку злокачественные клетки покидают первичную опухоль и попадают в кровоток именно с поверхности, с ее переднего края, очень важно знать, где же он расположен. Нередко клиницисты, особенно хирурги, за передний край опухоли принимают ее границу с «нормальными» тканями, которые ее окружают. Из этого вытекает один из главных клинических принципов онкохирургии — соблюдение «гистологически чистого края резекции», что в целом является вполне оправданным.

Следует, однако, подчеркнуть, что анатомическая поверхность опухоли и ее передний край не являются эквивалентными понятиями. Передний край находится в глубине, в строме опухоли. Именно на переднем крае раковые клетки превращаются из эпителиальных в мезенхимальные. Здесь они взаимодействуют с макрофагами, эндотелиальными клетками, опухоль-ассоциированными фибробластами. Ростовая фракция клеток находится в строме опухоли, а не на ее анатомической поверхности. На границе опухоли и стромы особенно активен ангиогенез.

Таким образом, поверхность и граница опухоли с биологической, а не с анатомической точки зрения находится в строме, что имеет решающее значение для понимания процессов метастазирования и прогрессии рака. Именно поэтому для онколога важен не формально чистый «гистологический», а еще и «молекулярно чистый край» опухоли, учитывающий молекулярное и функциональное состояние тканей, расположенных вокруг злокачественной клетки.

#### Ступени метастатического каскада

Принято различать такие ступени метастатического каскада, как потеря клеточной адгезии, аномальная подвижность, инвазия, интравасация, выживание в циркуляции, экстравазация, метастатическая колонизация, реализация клинически определяемого метастаза.

#### Инвазия

Тело человека состоит из неподвижных (эпителиальных) и подвижных (мезенхимальных) клеток. Гетеротипические взаимодействия эпителиальных и мезенхимальных клеток необходимы для обеспечения нормального морфогенеза во время развития эмбриона. Во время канцерогенеза подобные взаимодействия обеспечивают повышение злокачественного фенотипа раковых клеток.

Кардинальной особенностью эпителиальной раковой клетки является ее ненормальная подвижность (как у фибробластов) и способность к инвазии. По сравнению с нормальным эпителием, клетки карциномы характеризуются прогрессирующим уменьшением межклеточной адгезии и повышением миграционных способностей. Это позволяет раковым клеткам не только не подчиняться правилам архитектуры окружающих тканей, но и преодолевать барьеры внеклеточного матрикса, стромы, состоящей из коллагена и фибронектина, а также базальную мембрану, лежащую между эпителиальными и эндотелиальными клеточными слоями. Базальная мембрана, состоящая из гликопротеинов и протеогликанов (IV тип коллагена, ламинин) является неотъемлемой частью эпителиальных структур, обеспечивая их морфологические границы. Установлено, что уже инициированная клетка на ранних стадиях может разрушить базальную мембрану и проникнуть в кровоток.

В этом процессе принимают участие матрицы протеиназ, стимуляторы ангиогенеза, молекулы клеточной адгезии, модуляторы формы и пространственной ориентации клетки, другие молекулы и цитокины. Отрицательная регуляция E-кадгерина приводит к снижению адгезии и началу инвазии.

Раскрыты молекулярные механизмы этих процессов, которые в первую очередь связаны с феноменом «эпителиально-мезенхимальной трансформации».

Этот биологический феномен впервые описала Элизабет Хей в 1995 г. (E.D. Hay An overview of epithelio-mesenchymal transformation. *Acta Anat.* (Basel). 1995. 154: 8-20). Она же впервые применила и термин, который вскоре был заменен на более точный: «эпителиально-мезенхимальный переход», что отчасти отображает обратимость процесса.

Существуют три типа эпителиально-мезенхимального перехода (по классификации R. Weinberg): 1-й тип характерен для эмбрионального морфогенеза; 2-й наблюдают при различных видах воспаления, регенерации тканей и при формировании фиброза; 3-й является неотъемлемой частью канцерогенеза.

После активации протоонкогенов и фазы инициации эпителиальные клетки инициируют скрытые эмбриональные программы эпителиально-мезенхимальной трансформации — клетка постепенно теряет набор эпителиальных антигенов и приобретает мезенхимальные антигены (эпителиально-мезенхимальный переход). Несколько сигнальных путей участвуют в этом процессе: peptide growth factors, Src, Ras, Ets, integrin, Wnt/beta-catenin, Notch. Феномен эпителиально-мезенхимальной трансформации представляет собой пример фенотипической пластичности эпителия. Наиболее часто это явление регистрируется в недифференцированных карциномах и включает морфологические изменения размера

Продолжение на стр. 28.

# Метастатический каскад как терапевтическая и хирургическая мишень

Продолжение. Начало на стр. 26.

и формы, плеоморфизм клеток и ядер, гиперхромазию и гиперплоидность, а также увеличение митотической активности.

По всей видимости, феномен эпителиально-мезенхимальной трансформации раковой клетки имеет двойное значение для злокачественной опухоли. С одной стороны, эпителиальные клетки, получившие возможность трансформироваться в миофибробласты, теряют злокачественный фенотип и представляют собой основу для формирования собственной фиброзной стромы опухоли, что дает дополнительные преимущества для выживания клеток, ее составляющих.

С другой стороны, по последним данным R. Weinberg (2010), клетки в состоянии эпителиально-мезенхимального перехода приобретают свойства стволовых клеток рака с реализацией основных своих функций — метастазирования, колонизации и пролиферации в отдаленных органах, а также колонизации первичной опухоли и стимуляции ее роста (гипотеза self-seeding).

Этот процесс обратим. После колонизации органа клетки могут подвергаться эпителиально-мезенхимальному переходу. С феноменом эпителиально-мезенхимальной трансформации связывают многие процессы биологии опухолевого роста и метастазирования, случаи лекарственной резистентности и рецидивы после терапии. Сегодня идет активная разработка нового поколения лекарственных препаратов — специфических ингибиторов протеаз, способных блокировать процессы трансформации фенотипа злокачественных клеток.

## Интравазация

Практически все злокачественные эпителиальные клетки в кровотоке погибают и превращаются в апоптотические тельца. Налицо неэффективный и затратный с точки зрения биологии, но не эволюции процесс, о чем сказано выше. Выживание раковой клетки в кровотоке является скорее исключением, чем правилом, хотя в результате естественного отбора ткани отдаленных органов колонизируют клетки с наиболее агрессивным фенотипом, что обуславливает их функциональные преимущества.

Интравазация и циркуляция клеток в кровотоке еще не являются свидетельством того, что имеет место развитие гематогенных метастазов. Косвенным доказательством тому является известная операция перитонеовенозного шунтирования у больных с рефрактерным злокачественным асцитом (карциномой яичника или мезотелиомой). При создании перитонеовенозного шунта (обычно применяется LeeVeen) миллионы раковых клеток поступают непосредственно из брюшной полости в систему верхней полой вены в течение оставшейся части жизни больных (нередко более 20 мес). Удивительно, но во всех наблюдениях при этом не регистрируются новые гематогенные висцеральные метастазы.

По той же причине, по-видимому, можно безопасно использовать аппарат Cell-Save с реинфузией собственной эритроцитарной массы больному во время обширных онкохирургических операций, сопровождаемых массивной

кровопотерей (например, при трансплантации печени).

В кровотоке опухолевые клетки переживают гемодинамический стресс, а также стресс от взаимодействия с клетками иммунной системы, выполняющей иммунный надзор. Выживанию клеток во многом способствует их кооптация с тромбоцитами, которые, с одной стороны, выполняют роль своеобразного щита для циркулирующих опухолевых микроэмболов, а с другой — приводят к состоянию гиперкоагуляции и формированию сосудистых тромбов, характерных для стадии гематогенного метастазирования.

Время циркуляции выживших раковых клеток в кровотоке может составлять от нескольких минут до нескольких лет. В первом случае клетки попадают в так называемую капиллярную ловушку микроциркуляторного русла отдаленного органа практически сразу после интравазации, во втором — меняют свои гемодинамические и метаболические свойства и обнаруживаются в кровотоке спустя длительное время после завершения лечения по поводу первичной опухоли.

После интравазации меньшая часть клеток распространяется в кровотоке в виде единичных циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК). Данное состояние называется высокодиссемированной ангиогенной болезнью (highly angiogenic and disseminated). Эти клетки, биология которых очень похожа на соответствующие процессы в стволовых клетках, не вступают в клеточный цикл (находятся в фазе покоя G0) и не пролиферируют.

Циркулирующим опухолевым клеткам в настоящее время уделяется большое внимание, поскольку их количество строго коррелирует со стадией и прогнозом заболевания, а также является независимым прогностическим признаком раннего рецидива. Кроме того, солитарные эпителиальные клетки в периферической крови могут использоваться для мониторинга больных, получающих системную химио-, гормоно- или таргетную терапию. Для идентификации циркулирующих опухолевых клеток используют микроскопическую флуоресценцию, проточную флуоцитометрию, а также методы молекулярного анализа и визуализации (CellSearch, Maintrac, CellPoint, Adnagen, RT-PCR).

Циркулирующие опухолевые клетки могут объединяться в кровотоке в циркулирующие опухолевые микроэмболы и демонстрировать таким образом феномен «коллективной миграции». Микроэмболы имеют высокий пролиферирующий потенциал, устойчивы к апоптозу и обладают свойством агрессивного метастазирования. Опухолевые микроэмболы не могут покинуть просвет сосуда экстравазацией, но они приводят к опухолевой эмболии, пермеации клеток в просвете сосуда, разрыву стенки капилляра и пролиферации в интерстиции.

В микроциркуляторном русле раковые клетки взаимодействуют с эндотелием сосудистой или лимфатической систем, активируя его. Активированный эндотелий вместе с опухолевой клеткой привлекают к себе различные клетки — эндотелиальные, иммунной системы, стромальные; опухольассоциированные фибробласты, которые

содействуют инвазии, экстравазации, росту опухолевых клеток и участвуют в формировании метастатических узлов. Именно эти стромальные клетки, циркулирующие совместно с опухолевыми клетками, обеспечивают выживание, пролиферативные преимущества и скорейшую колонизацию тканей отдаленных органов.

Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе взаимодействия циркулирующих опухолевых клеток с тромбоцитами и с другими клетками сосудистой системы (эндотелиоцитами, дендритными клетками, макрофагами), позволит создать «антиметастатические» лекарственные препараты селективного ингибирования адгезии раковых клеток в кровотоке без нарушения целостного физиологического гемостаза.

В процессе колонизации участвуют не только раковые клетки, но и клетки стромы отдаленного органа, тканевое микроокружение, структура и метаболизм которого резко меняются задолго до начала процесса колонизации. Такое тканевое микроокружение, способствующее росту метастатических клеток либо подавляющее его, называется преметастатической нишей.

## Преметастатическая ниша

Предположение, что опухолевые клетки обладают тканеспецифическим тропизмом, появилось еще в конце XIX века. Сегодня клиницистам хорошо известно, что опухоли различных локализаций проявляют избирательность метастазирования. Например, диссеминированный рак молочной железы метастазирует в кости, легкие, печень и головной мозг, что невозможно объяснить наличием прямой анатомической связи между кровообращением этих органов, злокачественная опухоль предстательной железы — преимущественно в кости, в то время как распространение метастазов на висцеральные органы (печень, легкие) происходит крайне редко. Увеличенная меланома с удивительной специфичностью метастазирует в печень, а саркомы мягких тканей — в легкие.

С современных позиций на этот тропизм влияют в первую очередь не интенсивность кровоснабжения в отдаленном органе и наличие так называемой капиллярной ловушки, а как минимум два фактора: генетические/фенотипические характеристики самой раковой клетки и наличие тканевого микроокружения, формирующего особые условия для ее морфологического и метаболического функционирования. Таким образом, основы органной специфичности метастазирования лежат в плоскости молекулярных событий. При этом роль локальных изменений в тканях признается критически важным компонентом для развития тканеспецифических гематогенных метастазов.

Известно, что опухоль привлекает в свое ложе провоспалительные иммунные клетки и клетки стромы, активируя их, для чего продуцирует разнообразные факторы роста, цитокины и хемокины. К рекрутированным в опухоль клеткам относятся нейтрофилы, эозинофилы, лимфоциты, тучные и дендритные клетки, а также макрофаги и так называемые опухольассоциированные фибробласты, демонстрирующие совместно с раковыми клетками системный биологический эффект, или эффект сообщества. Кроме того, активные

формы азота и кислорода, которые образуются при взаимодействии провоспалительных и пролиферирующих раковых клеток, усугубляют нестабильность генома последних и приводят к гиперэкспрессии генов, ответственных за метастазирование.

В результате сотрудничества различных поколений раковых клеток и ассоциированных с ними иммунных и стромальных клеток последовательно и волнообразно продуцируют огромное количество цитокинов, вызывающих прогрессивные изменения в тканях отдаленных органов, проявляющиеся стойкими воспалительными реакциями и увеличением в них биологических онкогенных молекул. Этот «цитокиновый шторм», вызванный первичной опухолью, позволяет по-новому взглянуть на «ошибку» великого Рудольфа Вирхова, который считал, что «опухоль метастазирует клеточными ядами».

Практически все злокачественные опухоли выделяют большое количество факторов роста, в первую очередь, эндотелиальный (VEGF) и плацентарный (PlGF), которые являются лигандами рецептора VEGFR1. Эти факторы роста мобилизуют из костного мозга ангиопозитивные клетки-предшественники, экспрессирующие VEGFR1, и обуславливают их хемотаксис в ткани периферического органа. Именно посредством таких специфических биохимических сигналов опухоль управляет формированием преметастатической ниши и диктует тканеспецифический сценарий метастазирования, реализуя эффект эктопического хоуминга.

Динамика клеточно-молекулярных событий и миграция раковых клеток в преметастатическую нишу представляют собой сложную цепь биологических реакций. Следует еще раз подчеркнуть, что этап формирования преметастатической ниши не зависит от присутствия в ней опухолевых клеток.

Вначале процессу метастазирования предшествует повышенная экспрессия факторов хемотаксиса стромальными клетками будущей ниши. Лигандами для клеток стромы преметастатической ниши являются E-(P)-selectin, фибронектин, SDF-1, N-cadherin, B-catenin, Kit ligand, osteopontin и некоторые другие. Ведущая роль в этом процессе отводится опухольассоциированным фибробластам.

В последующем происходит миграция в ткани ниши клеток костномозгового кровотока, экспрессирующих VEGFR-1, VEGFR-2, CD-31, и только потом на подготовленные морфологически и функционально ткани микроциркуляторного русла в нишу мигрируют циркулирующие опухолевые клетки, имеющие уникальный генетический профиль.

Подобные преметастатические ниши могут формироваться в микроциркуляторном русле периферических висцеральных органов, в костном мозге, в лимфатических узлах, а также в стро-ме самой первичной опухоли.

Достигнув преметастатической ниши, опухолевые клетки не обязательно сразу начинают пролиферировать. Обычно образованию клинически выявляемого метастаза предшествует уникальный период, который называют состоянием покоя, или дремлющих метастазов.

Продолжение следует.