

В.Ф. Чехун

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: злоякісні пухлини, молекулярні маркери, мікрооточення пухлин, ангиогенез, хронічне запалення, протипухлинний імунітет, медикаментозна лікування.

СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ФУНДАМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТА КЛІНІЧНІЙ ОНКОЛОГІЇ

Резюме. Проаналізовано сучасні відомості про молекулярні механізми злоякісної трансформації, молекулярну сертифікацію пухлинних клітин для індивідуалізації терапії; про роль та зв'язок з різними стадіями канцерогенезу процесів хронічного запалення, ангиогенезу, а також стрими пухлин і їх мікрооточення; про імунологічні аспекти пухлинного росту. Сформульовано основи нових стратегій медикаментозної терапії при злоякісних новоутвореннях.

Історія формування уявлень про природу злоякісних пухлин тісно пов'язана з рівнем розвитку фундаментальних наук. Накопичення окремих фактів, їх деталізація, осмислення та інтеграція, з одного боку, забезпечують розвиток такої складної медико-біологічної науки, як онкологія, з іншого боку, — дозволяють впроваджувати сучасні технології та нові стандарти лікування, підвищувати якість діагностики злоякісних новоутворень. Однак, незважаючи на оптимістичні прогнози, залишається велика кількість нез'ясованих явищ, а також з'являються нові невідкладні питання на шляху вирішення сучасних проблем онкології. Поступ вперед завжди вимагає концентрації нових зусиль, а для цього необхідно провести аналіз не лише досягнутого, але й причин невдач.

МОЛЕКУЛЯРНІ МІШЕНІ — ОСНОВА ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЇ ЛІКУВАННЯ

Арсенал молекулярних маркерів (ММ) пухлинного росту стрімко поповнюється завдяки сучасним досягненням фундаментальних досліджень, зокрема протеоміки та геноміки. На сьогодні відомо понад 200 ММ пухлин, але у клінічній практиці активно використовуються лише близько двох десятків. Поява нових технологій (ПЛР-аналізу, мас-спектроскопії, проточної цитофлуориметрії, хроматографії тощо) значно розширює можливості систематизації молекулярного профілю злоякісної клітини та розробки нової класифікації пухлинних процесів на хромосомному, геномному, мРНК та протеомному рівнях, що дозволить підвищити якість діагностики та наблизити індивідуальний підхід при виборі методів лікування.

Значний прогрес у розумінні природи злоякісних пухлин пов'язаний із відкриттям ролі продуктів онкогенів, супресорних та мутаторних генів у клітинній проліферації, диференціації, а також у процесах загибелі клітин. Мутації або зміна активності зазначених генів різко збільшують вірогідність злоякісної трансформації клітин, а утворення пухлинного вогнища стає лише справою часу. На сьогодні уже відомо близько сотні потенційних онкогенів, два десятки пухлинних супресорів та в багато разів більше пухлиноасоційованих генів, які включаються у розвиток раку. Однак тривалий час роль кожного із ключових чинників у процесі онкогенезу розглядалася автономно, що значно ускладнювало сприйняття синхронності внутрішньоклітинних подій. В останні роки залучаються усі наявні можливості для систематизації даних, з яких випливає картина взаємозв'язку функцій відомих онко- та протоонкогенів, супресорних і мутаторних генів, продукти яких є компонентами спільних сигнальних систем, що забезпечують входження клітини до проліферативного процесу, морфогенетичні реакції, диференціювання, запуск апоптозу.

Порушення в регуляції клітинного циклу є невід'ємною і однією з провідних ознак неопластичної клітини. Послідовна експресія й активація циклінів і циклінозалежних кіназ (ЦЗК), утворення їх комплексів, почергова активація та інгібіція ЦЗК забезпечують перехід від однієї фази клітинного циклу до наступної. З'ясувалося, що активність значної частини білкових продуктів протоонкогенів і пухлинних супресорів спрямована на регуляцію тих чи інших комплексів ЦЗК. В той же час продукти ряду протоонкогенів є безпосередніми компонентами регуляторної петлі транскрипційних факторів та сигнальних шляхів.

Головним залишається питання про активацію протоонкогенів в онкогени і механізми реалізації активності останніх у процесі набуття клітинами злоякісного фенотипу. Протоонкогени — це нормальні клітинні гени, які беруть участь у ключових процесах забезпечення життєдіяльності клітини: регуляція транскрипції, проліферації, клітинного циклу, сигнальної трансдукції тощо. У результаті їх мутацій, ампліфікацій або хромосомних транслокацій порушується контроль клітинного поділу і диференціації, що й призводить до трансформації клітини. Найбільш дослідженими представниками цієї групи є гени родини *RAS*, активуюча точкова мутація яких є складовою механізму трансформації клітин під впливом багатьох хімічних канцерогенів різних груп, онкогенних вірусів, а також визначається в широкому спектрі спонтанних пухлин, в тому числі і людини. *RAS*-білки відіграють ключову роль в передачі сигналів від рецепторів низки ростових факторів (мітогенів), інтегринів, цитокінів, мотогенів, в диференціюванні клітин, а також непрямо стимулюють механізми запобігання апоптозу. Достатньо досліджений також ще один представник групи онкогенів — *BCL-2*, продукт якого діє як негативний регулятор апоптозу.

Супресори пухлинного росту (антионкогени) — це гени, інактивація яких різко збільшує ймовірність виникнення та прогресії новоутворень. Більшість із них бере участь у регуляції клітинного циклу (гальмуючи його), репарації ДНК, апоптозі, запобігаючи, таким чином, накопиченню генетичних і/або інших аномалій. Одним із найбільш вивчених генів цієї групи є супресор *TP53*, активація якого при стресових впливах супроводжується зупинкою клітинного циклу, що створює сприятливі умови для повноцінної репарації ДНК, а за відсутності (неможливості) останньої включає механізми активації обох шляхів апоптозу: мітохондріально-го та індукованого через «рецептори смерті».

Природно, що мутації генів *TP53* та *BCL-2* порушують захисні механізми геному нормальної клітини, призводячи до генетичної нестабільності, та різко збільшують вірогідність появи постійно проліферуючого патологічного клітинного клону. Накопичення мутацій, генетична нестабільність

ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

або аномалії системи генетичного контролю призводять до активації так званого функціонального онкогену.

Мутаторні гени — гени, порушення функції яких прискорює темп виникнення мутацій або інших генетичних змін, які ініціюють та примножують активність онкогенів. Низка генів-супресорів є водночас і мутаторними генами.

Варто зазначити, що зміна активності та функції протоонкогенів, генів-супресорів може відбуватися як на генетичному, так і на епігенетичному рівні (без зміни структури і функції гена). Наприклад, порушення лише метилування ДНК може забезпечити самодостатність проліферативних сигналів, необхідних для пухлинної прогресії, нечутливість до рістесупресивних сигналів, відсутність реплікативного старіння (іморталізації), послаблення індукції апоптозу, стимуляцію неангіогенезу та багато інших порушень клітинного контролю.

Таким чином, формування злоякісного фенотипу клітини — це досить складний процес зміни функціонування геному за рахунок генетичних та епігенетичних змін, які визначають появу в клітині пухлиноспецифічних та пухлиноасоційованих молекул. У результаті багатонаправленого характеру дії аномальних молекул та злитих білків з'являються клітини з підвищеним проліферативним потенціалом, що не залежить від регуляторних сигналів. Важливо зазначити, що за рахунок гетерогенності сигнальних каскадів кожна трансформована клітина може мати власну систему регуляторних факторів, а ще більше ці системи різняться залежно від типу пухлинних клітин.

Визначення антигенного складу поверхневих мембран клітин патологічного клону при злоякісних новоутвореннях різного генезу дозволяє окреслити як гістогенетичне походження цих клітин, так і стадію диференціювання, на якій зупинилося їх дозрівання. Так, наприклад, аберантна експресія мієлоїдних антигенів (CD15, CD33, CD65) на поверхневих мембранах клітин при гострому лімфобластному лейкозі з найменш диференційованих В-клітин-попередників вказує на наявність цитогенетичної аномалії *t(11q23)*, що проявляється в реаранжуванні гена мієлолімфолейкозу (*MLL*)*i*, що, в свою чергу, суттєво позначається на прогнозі захворювання.

У клітинах солідних пухлин за рахунок особливостей цитоскелета та елементів міжклітинної адгезії кількість виявлених мутацій значно вища, ніж у лейкозных популяціях. «Асоціальний» тип поведінки перш за все пов'язаний із втратою системи контролю контактного гальмування розмноження клітин; здатністю до проліферації незалежно від типу субстрату; порушенням механізмів адгезії; підвищеною локомоторною активністю, що сприяє інвазії пухлинних клітин в оточуючі тканини та проростанню судин тощо. Саме такі зміни визначають інвазивний ріст та метастатичний потенціал злоякісних пухлин.

Сьогодні з упевненістю можна сказати, що внутрішньоклітинні сигнальні шляхи є ключовими важелями у забезпеченні функціонування клітин. Взаємодія молекул, що залучаються до їх складу, відбувається за умов чіткої ієрархії в системі сигнальної трансдукції. Зокрема, регулятори мітогенної активності (гормони, цитокіни, фактори росту та інші ендогенні чи екзогенні чинники) взаємодіють з відповідними рецепторами і частіше за все викликають їх димеризацію з аутофосфорилуванням внутрішньоклітинних доменів, що забезпечує передачу імпульсу до специфічних сигнальних білків. Основними ланками передачі сигналів є численні кінази різних типів, адапторні білки, які не мають ферментативної активності, але після активації кіназами набувають здатності утворювати комплекси з іншими білками при формуванні сигнального ланцюга. Основою у формуванні передачі сигналу виступає специфічна асоціація білків та їх фосфорилування і/або дефосфорилування. Цей процес призводить до миттєвої зміни конфігурації та властивостей білків-мішеней. Баланс між фосфорилуванням і дефосфорилуванням визначає

швидкість, напрям і силу внутрішньоклітинного сигналу, що дозволяє координувати узгоджену роботу «центру»/ядра і «периферії» — рецепторного «ансамблю» плазматичної мембрани і/або надродини ядерних рецепторів. Таким чином, процес формування та передачі внутрішньоклітинного сигналу є послідовним та багатоступеневим і його можна узагальнити інтегральною схемою, у якій ряд ключових білків може бути задіяний в реалізації кількох сигнальних шляхів.

Математичний аналіз білок-білкових та ДНК-білкових взаємодій показав, що геном — це нелінійна система. Це означає, що зміни його параметрів у деяких межах можуть не викликати значних порушень. Але в певних випадках навіть дуже малі коливання параметрів можуть суттєво змінювати властивості всієї системи. Для клітини це може призвести до таких наслідків: 1) клітинна смерть, 2) затримка або посилення клітинної проліферації, 3) формування нового фенотипу злоякісної клітини.

Адаптаційні можливості будь-якої клітини, особливо злоякісно трансформованої, надзвичайно великі. Тому на нинішньому етапі досліджень активно проводяться спроби реконструкції ланцюга подій у геномі злоякісної клітини таким чином, щоб ініціювати завершення повноцінної програми апоптозу. Від результатів таких досліджень слід чекати нових досягнень у протипухлинній терапії.

Розуміння молекулярних механізмів регуляції життєдіяльності злоякісної клітини допомагає ідентифікувати не лише ММ пухлинного росту, але й потенційні терапевтичні мішені. Так, встановлено, що зміни стану генів родини *MYC* та родини *BCL-2* у разі дії етопозиду та флударабіну на клітини перешеплюваних ліній злоякісних лімфоїдних клітин людини (В- або Т-клітинного генезу) мають неоднаковий характер за типом делецій та перебудов. Це може свідчити про вибірковість дії протипухлинних хіміопрепаратів на рівні генів-мішеней.

Якщо порівнювати нормальні та пухлинні клітини, то в останніх чутливість до індукторів апоптозу значно зменшена. Сьогодні активно розробляються підходи до посилення апоптотичних ефектів у таких клітинах. Зокрема, було доведено, що експозиція пухлинних клітин з інтерфероном (ІФН) значно посилює їх чутливість до апоптозу, індукованого різними протипухлинними чинниками. Застосування рекомбінантного ІФН у неoad'ювантному режимі у хворих на рак молочної залози підтвердило цей феномен — значно пригнічувалась експресія онкогена *HER2/neu*, знижувався проліферативний індекс, у той же час зростали апоптотичний індекс і експресія проапоптотичного маркера — рецептора CD95(FAS) у пухлинній тканині.

У більшості трансформованих клітин виявляються ще й додаткові дефекти на різних етапах передачі апоптотичного сигналу. Абсолютно необхідними компонентами процесу апоптозу є два класи регуляторів каспаз Араф-1 (активуючий фактор апоптотичних протеаз), а також члени сімейства *BCL-2*. Існують два основні шляхи активації каспаз: 1) лігація «рецепторів смерті», 2) вихід цитохрому С з мітохондрій. Ці два шляхи апоптозу не є взаємовиключеними або паралельними, тому що сигнали одного з типів каскадів можуть підсилювати інші. Дерегуляція апоптотичних сигналів сприяє високій виживаності клітин та їх резистентності до дії терапевтичних агентів. Тому одним із сучасних напрямків фармакокорекції стало використання внутрішніх шляхів і резервів індукції та посилення апоптозу пухлинних клітин у комбінації з хіміотерапією. Так, комбіноване застосування цисплатину та МкАТ CD95 щодо лінії клітин карциноми ротової порожнини людини дозволило нам досягти значного синергічного ефекту. У клінічній практиці такий підхід може сприяти значному зниженню дози цитостатика та уникненню багатьох його побічних ефектів.

Великі надії у фармакокорекції апоптозу покладаються на так звану вільнорадикальну терапію, яка ґрунтується на даних про кисневий стрес, тобто підвищення внутрішньо-

клітинного рівня одного або більше реакційноздатних форм кисню, зокрема таких, як супероксидний аніон, закис азоту, перекис водню, гідроксильні радикали, які потенційно токсичні для клітин.

Співробітниками нашого інституту встановлено, що супероксидні радикал-аніони та оксид азоту виступають ініціаторами гіпоксія-асоційованого злоякісного фенотипу пухлин та призводять до порушення редокс-центрів дихального ланцюга мітохондрій, а також беруть безпосередню участь в активації латентних форм матриксних металопротеїназ. У ряді лабораторій світу проводять досить інтенсивні дослідження, метою яких є отримання речовин, здатних утворювати в пухлинних клітинах вільні радикали. Важливо зазначити, що такий підхід дозволяє вирішувати надзвичайно актуальну для онкологічної практики проблему — створення селективних протипухлинних засобів, тобто таких, які реалізують свій цитотоксичний потенціал тільки в пухлині. Незважаючи на складність такого підходу, він може бути здійснений, якщо врахувати такі відомі особливості мікрооточення пухлинних клітин, як повільніший кровообіг, підвищена кислотність та значна гіпоксія. Остання використовується для розробки селективних протипухлинних препаратів, які активні при низькому парціальному тиску кисню і мають назву гіпоксія-залежних цитостатиків.

Накопичення нового масиву інформації вимагає прискореного створення автоматизованої системи аналізу та синтезу сучасних знань про активацію «функціонального онкогеному», його генетичний поліморфізм, який виникає в процесі розвитку пухлинної хвороби. Прогрес в аналізі генетичного поліморфізму відносно особливостей метаболізму та транспорту в клітині медикаментозних засобів ініціював виділення фармакогеніки в окрему галузь знань. До основних завдань фармакогеніки слід віднести ідентифікацію генів, які контролюють передачу сигналу від поверхні клітини до ядра, метаболізм ксенобіотиків, репарацію нуклеїнових кислот, контроль клітинного циклу та апоптоз. Сьогодні стає все більш зрозумілим, що висока гетерогенність реакції організму на лікарські засоби перш за все зумовлена генетичними особливостями, які й визначають індивідуальну чутливість організму.

Виявилось, що майже усі гени, які включаються в метаболізм ліків, — поліморфні. До найбільш досліджених систем метаболізму слід віднести ізоформи цитохрому P-450, N-ацетилтрансферази, метилтрансферази та ін. Крім того, в останні роки накопичилась велика кількість даних щодо факторів, які впливають на процеси всмоктання, розподілу, метаболізму та виведення лікарських речовин: вік, стать, показники гемодинаміки, хімічна природа та взаємодія ліків між собою тощо. Особливої ваги набуває це питання в умовах активації «функціонального онкогеному», дії додаткових факторів ендогенної та екзогенної інтоксикації. Науковцями доведено, що індивідуальне ранжування такими чинниками може викликати варіабельність реакцій організму від 20 до 95%. Такі коливання призводять до того, що близько 10–40% людей взагалі не реагують на фармакотерапію, елімінація ліків може відрізнятись у 4–40 разів, а їх метаболізм — у 10–100 разів. Ігнорування зазначених параметрів суттєво впливає на ефективність медикаментозної терапії. Нині діючі стандарти (протоколи) терапії базуються лише на середній статистичній вірогідності отриманого позитивного ефекту певної вибірки хворих, без урахування молекулярно-генетичного аналізу, біології пухлинної клітини та морфофункціональних параметрів органів і систем кожного організму.

Сучасний рівень розвитку молекулярної онкології та високі технології досліджень і діагностики зобов'язують фахівців переглянути доцільність існуючої практики стандартів терапії та прискорити її індивідуалізацію, що дозволить сконцентрувати арсенал існуючих ефективних засобів на лікуванні «хворого, а не хвороби». Саме на основі такого підходу сьогодні

ні активно зароджується новий напрямок — індивідуалізованої терапії.

За останні роки накопичилось багато даних про роль запальних процесів (як джерела вільних радикалів і токсичних метаболітів) в етіопатогенезі злоякісних пухлин. Сьогодні розглядаються 3 можливі шляхи участі хронічних запальних процесів в пухлинному рості: 1-й — індукція проліферації стовбурових клітин, 2-й — утворення додаткових стромальних компонентів, 3-й — індукція ростових факторів, факторів ангіогенезу, що створює оптимальне мікрооточення для трансформованих клітин. У вогнищі запалення накопичуються, зокрема, макрофаги, які активно продукують колонієстимулюючі фактори, цитокіни, що стимулюють проліферацію фібробластів, синтез та активацію металопротеїназ, спрямованих на порушення колагену закладітинного матриксу та формування умов передракового стану.

Агресивність перебігу пухлинної хвороби значною мірою залежить від гетерогенності факторів, які формують систему мікрооточення злоякісних клітин та активації процесів ангіогенезу, що забезпечує механізми прискореної клітинної проліферації. Основою зазначеної гетерогенності є різноманіття не тільки клітинних популяцій пухлини, але й синтезованих ними чинників. Так, нещодавно було показано, що значна роль у формуванні системи мікрооточення належить фактору транскрипції HIF-1, який має кілька десятків генів-мішеней (так звані гіпоксія-індуцибельні гени). Продукти останніх забезпечують метаболічну адаптацію пухлини до гіпоксії і стимуляцію ангіогенезу. Лікування онкологічних хворих за умов хронічної гіпоксії ракових клітин призводить до прискореної селекції останніх, які переважно експресують високий рівень Vcl-2. Показано також, що гіпоксія активує PI3K/Akt/NFkB та MAPK-сигнальні шляхи та підвищує рівень експресії генів *MDR1*, *MRP1* та *LRP*. Науковцями нашого інституту встановлено, що у 91,5% хворих на рак шлунка пухлинна тканина є HIF-1 α -позитивною, при цьому в клітинах слизової оболонки, яка знаходиться на відстані 5–7 см від краю пухлини, експресія HIF-1 α не відмічається. Важливо зазначити також, що експресія HIF-1 α корелює зі ступенем диференціювання пухлини та з показником загальної виживаності хворих. З функціональною активністю HIF-1 пов'язують і експресію фактора росту ендотеліальних судин (VEGF), який відіграє важливу роль не тільки в процесах неоваскуляризації пухлин, але й у низці біологічних особливостей останніх.

Не викликає сумніву, що розробка і застосування спрямованих підходів до модифікації згаданих та інших компонентів мікрооточення пухлинних клітин може значно покращити не лише результати лікування, але й попередити прискорений розвиток агресивності пухлини, яка формується у процесі розвитку резистентності при безпідставному надлишку лікарського засобу.

АНГІОГЕННІ ТА АДГЕЗИВНІ ФАКТОРИ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

Відомо, що неоангіогенез — головна умова для подальшого росту пухлинного вузла, який досяг діаметра 2–4 мм. Наявність здатності злоякісними клітинами стимулювати проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин пов'язане перш за все із пригніченням секреції тромбоспондину (інгібітора ангіогенезу) та зі збільшенням продукції цитокинів, які є факторами росту (мітогенами) для ендотеліоцитів. Проростання нових кровоносних судин у пухлинному островці забезпечується посиленням синтезом факторів росту і цитокинів, серед яких найбільш дослідженими є EGF, VEGF, IL-8 та PDGF. Ріст та розвиток пухлини залежить від балансу між її ангіогенним потенціалом *in situ* та захисними антиангіогенними властивостями організму. Антиангіогенний захист організму забезпечується синтезом в організмі ендогенних інгібіторів, зокрема ендостатину, тромбоспондину, тумстатину, ангіостатину, α - та β -інтерферону та ін. Дисбаланс про/та антиан-

ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

гіогенних факторів контролюється відповідними генами пухлинної клітини та її мікрооточенням. Гуморальні компоненти мікрооточення значною мірою визначаються складом та рівнем цитокінів, факторами системи комплементу, нейроендокринними та іншими чинниками. Як з'ясувалось, особливості мікрооточення залежать від сімейства молекул адгезії, CD44-сімейства, членів суперсімейства імуноглобулінів, інтегрину та кадгерину. Тому не випадково вивчення механізмів клітинної адгезії, її стимуляція і блокада розглядаються як вкрай важливий аспект у визначенні здатності пухлин до метастазування. Встановлені глибокі зміни в структурі мембран метастатичних клітин (гіпосіалізація глікокон'югатів, збільшення щільності реакційноздатних вуглеводних детермінант, посилення експресії N-глікозилз'язаних глікопротеїнів та ін.). Усе це робить клітини метастазів здатними до міжклітинної взаємодії, суттєво полегшує їх контакт з білками матриксу, ендотелієм судин, гомо- і гетероагрегацію, міграцію та адгезію з елементами мікрооточення у місцях виникнення метастазів.

Подальший розвиток досліджень буде пов'язаний із з'ясуванням ролі як різних стромальних клітин у процесі метастазування, характеристикою факторів, що формують мікрооточення метастазів, так і з визначенням здатності цієї системи забезпечувати чутливість пухлини до терапевтичного впливу. Саме такий погляд дозволяє дивитись на пухлину як на дещо більше, ніж просто набір автономно існуючих пухлинних клітин, адже міжклітинні контакти спонукають до значної зміни як у поведінці клітин, так і їх реакції на лікувальний вплив. Так, за результатами наших попередніх досліджень та даних доступної літератури, відомо, що зниження чутливості пухлинних клітин відмічається паралельно з підвищенням їх структурно-функціональної організації та збільшенням міжклітинних контактів. Це дає підставу припускати значну роль клітинної адгезії у подоланні лікарської резистентності пухлин. Методи, спрямовані на підвищення адгезивних властивостей пухлинних клітин, дають можливість запобігти виникненню та розповсюдженню метастазів як одній із найчастіших причин смерті хворого. Такий спосіб переведення злоякісного процесу в «хронічний» стан його перебігу може збільшити тривалість життя і розширити можливості для подальшого радикального хірургічного втручання. З іншого боку, сучасні технології дозволяють шляхом застосування антиадгезивних молекул ділити пухлину на складові частини. Це спроба «розділити та приборкати» популяцію пухлинних клітин задля подолання їх лікарської резистентності. Теоретично це один із перспективних шляхів подолання лікарської резистентності, який враховує унікальні особливості біології пухлинної клітини, її мікрооточення та гетерогенність клітин пухлинного пласту. Однак поки що залишаються поза увагою реальні можливості боротьби з метастазуванням.

ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПУХЛИННОГО РОСТУ

Одним із ключових питань сучасної онкології залишається з'ясування механізмів імунологічного «порозуміння» між пухлиною та організмом і причин відсутності ефективної імунної відповіді на пухлини, що розвиваються. Можливість впливу на пухлину через імунну систему приваблювала вчених ще у XIX ст. Макрофаги, відкриті П. Ерліхом та І. Мечниковим, тривалий час розглядалися як головний ефектор у боротьбі зі злоякісними новоутвореннями. У XX ст. поступово поглибилося розуміння взаємодії пухлини з імунною системою. Концепція Ф. Бернета про імунологічний нагляд базується на клонально-селекційній теорії, згідно з якою пухлинна регресія була ознакою адекватної імунної відповіді, а прогресія — ознакою імунодефіциту. Це дало змогу запропонувати в клінічну практику численні, але, на жаль, мало-ефективні схеми імуномодуляції. Ідентифікація цитокінів дозволила зрозуміти взаємодію пухлин з клітинами імунної системи. Поява рекомбінантних цитокінів інтенсифікувала

дослідження імунної системи онкологічних хворих і це дозволило виявити, що вона не тільки не відштовхує пухлину, але й часто активує пухлинну прогресію.

Інтенсивне вивчення цього питання протягом минулого десятиріччя дозволило накопичити великий обсяг фундаментальних результатів, які дають змогу зрозуміти особливості формування протипухлинного імунітету і водночас виявити численні бар'єри, які виникають у процесі його становлення. Об'єктивна оцінка наявного матеріалу допомогла сформулювати ряд важливих положень та переглянути деякі традиційні уявлення. По-перше, зазнало трансформації уявлення щодо тотальної імунодепресії у хворих на рак. По-друге, став незаперечним факт надзвичайної гетерогенності змін у регуляторних системах організму, враженого пухлинним процесом, як на ранніх етапах злоякісної трансформації клітин, так і на пізніх стадіях росту пухлини. По-третє, з'ясувалося, що взаємодія імунокомпетентних та ракових клітин визначається біологічними властивостями останніх та особливостями мікрооточення. Передбачити, в яких випадках така взаємодія буде на користь імунокомпетентних клітин, а в яких — пухлинних, досить непросто завдання. За наявності великого протипухлинного потенціалу існує безліч причин, які зумовлюють можливість пухлинної клітини «вिसлизати» з-під імунного контролю.

Незважаючи на це, вже визначились підходи, які дають змогу посилити протипухлинну реактивність організму. Це активна (неспецифічна — цитокіни; специфічна — вакцини) і пасивна (застосування МкАТ) імунотерапія, адаптивна імунотерапія тощо, спрямовані на посилення специфічної імунної відповіді організму та підвищення його неспецифічної протипухлинної резистентності.

Сучасні досягнення у галузі імунології та молекулярної біології озброїли дослідників колосальним арсеналом методів для модифікації імунної відповіді на пухлинну тканину. Сьогодні найбільш інтенсивно розробляються методи, які базуються на використанні вакцин, що містять пухлиноасоційовані антигени. Не менш важливим у пізнанні механізму формування протипухлинного захисту є подальше вивчення шляхів реалізації цитотоксичної активності кілерних клітин на тлі особливостей біологічної активності інтерлейкінів та інших цитокінів. Детальне висвітлення різних аспектів реалізації біологічних ефектів цих та інших факторів містить монографія «Иммунология злокачественного роста» (К.: Наукова думка, 2005).

Наведені дані та їх узагальнення дозволили підійти до розуміння нових аспектів взаємодії системи імунітету та пухлини в контексті участі регуляторних білків у цьому процесі. Зокрема, показано, що роль цитокінів у пухлинному процесі не лімітується їх участю в механізмах диференціювання та проліферації клітин. Виявилось, що пухлинні клітини здатні експресувати рецептори практично до всіх відомих інтерлейкінів, а також багатьох інших цитокінів — епідермального фактора росту (ЕФР), трансформуючого фактора росту бета (ТФРβ), фактора некрозу пухлин (ФНП) та ін. Принципово важливо, що експресія зазначених рецепторів на мембранах дає змогу модулювати антигенний профіль пухлинних клітин, що може мати вагомий вплив на системи мікрооточення, ангіогенезу та апоптозу. Сьогодні вже доведено, що апоптоз пухлинних клітин та їх метастатичний потенціал, індукований ФНП, є наслідком порушення молекулярних механізмів регуляції клітинного циклу та мітотичного режиму клітин. Суть цього явища пояснюється тим, що ФНП в одних клітинах індукує апоптоз, а в інших — посилює метастатичний потенціал, паралельно зі зростанням експресії онкогенів *MYC*, *JUN*, адгезивних властивостей і здатності до субстратнезалежного росту. Ці дані є підставою для пошуку тих механізмів і факторів, які здатні знімати блокаду апоптозу та реалізовувати запрограмовану смерть усіх типів клітин.

СУЧАСНІ ОСНОВИ НОВОЇ СТРАТЕГІЇ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ ТЕРАПІЇ

До принципів проблем медикаментозної терапії слід віднести відсутність вибіркової дії цитостатиків, оскільки їх створення відбувалось на емпіричній основі, а не на засадах фундаментальних знань про молекулярну фармакокорекцію. Оскільки пухлинній клітині властива виражена нестабільність геному, це значно прискорює формування резистентності до лікарських засобів, що, в свою чергу, спонукає до створення нового покоління молекулярно спрямованих (таргетних) протипухлинних препаратів, що мають чітко визначені мішені (target), підтверджені стандартизованими молекулярно-біологічними діагностичними тестами. За сучасними вимогами, таргетні препарати повинні впливати на мішені (рецептор, ростовий фактор та інше), яка має доведене вагоме значення для злоякісної клітини, порівняно з нормальною, на тлі пухлинного процесу.

За останнє десятиріччя відмічається значний прорив у створенні таких препаратів. Із переліку зареєстрованих та досліджених засобів варто виділити групу препаратів, які впливають на рецептори та їх ліганди, білки, задіяні у передачі стимулюючого сигналу в пухлинній клітині; препарати, які модулюють мікрооточення злоякісних клітин; радіоактивні ізотопи та цитостатики.

З біотехнологічних препаратів, що проходять випробування в клініках світу, кожний п'ятий базується на використанні МкАТ. Сфера застосування МкАТ стрімко розширюється, тому що вони не тільки сприяють апоптозу чи корекції диференціації пухлинних клітин, але й можуть бути цілеспрямованим засобом транспортування більш ефективних факторів впливу на ракові клітини, які вже набули абсолютної резистентності до традиційної хіміо- та променевої терапії.

Саме тому виключно важливе значення для вирішення сучасних проблем медицини має розробка стратегії створення нового покоління лікарських препаратів на базі знання молекулярних мішеней та векторних систем доставки ефективних лікарських засобів. Передбачається, що методами біоінформатики будуть змодельовані й створені нові оригінальні антисенсові та інші багатовекторні регуляторні чинники. Методи моделювання *in silico* дозволять не тільки передбачити структуру біологічно активних молекул, їх взаємодії, але й роботу біологічних сіток у клітинах, які забезпечують сигнальні каскади, що регулюють процеси диференціювання, проліферації та апоптозу. Стимуляція роботи таких метаболічних сіток дозволить виявити їх ключові регуляторні компоненти, вибрати мішені й створити дизайн біологічно активних речовин із врахуванням індивідуальних особливостей організму. Настав час, коли ми можемо перенести увесь масив знань функціональної геноміки на вирішення сучасних проблем у подоланні раку.

Стрімкий розвиток нанотехнологій, який збагачується завдяки подальшому розширенню фундаментальних досліджень, відкриває перспективи нового рівня терапії онкологічних хворих. Відсутність достатньої вибіркової дії відомих препаратів, а також висока загальна токсичність багатьох із них обумовлюють як подальший пошук нових сполук, так і удосконалення лікарських форм існуючих засобів з метою підвищення селективності та безпеки їхньої дії. Сучасні нанотехнології дозволяють вирішити не лише це завдання, але й досягти багатовекторності у механізмі протипухлинної дії нанокомпозитів, оскільки їх складові самі по собі є відомими засобами фармако-

корекції або прямої цитотоксичної дії. З використанням багатоступневих нанокомпозитів та їх електромагнітного супроводу з'являється реальна можливість модулювати фармакокінетичні та фармакодинамічні процеси в пухлинній тканині. В ідеалі новітні лікарські системи можуть знаходитися ще більш тривалий час при циркуляції в організмі хворого, не втрачаючи при цьому своєї ефективності, що дозволить суттєво підвищити не тільки ефективність протипухлинного агента, але й значно покращити якість життя хворого.

На жаль, однією з характерних проблем клінічної онкології є великий часовий інтервал між відкриттям нових молекулярно-біологічних процесів та їх використанням для сучасних технологій діагностики, характеристики злоякісних процесів, прогнозу перебігу хвороби та призначення адекватної терапії. Однак сьогодні вже є певні підстави стверджувати, що терапія онкологічних хворих переживає своє друге відродження. Поступово ми відходимо від емпіричного пошуку препаратів і наближаємося до їх раціонального створення на основі знань про молекулярно-генетичні, протеомні маркери та мішені пухлинного процесу. Відмінність у молекулярному профілі пухлинних клітин однієї локалізації і гістологічної структури суттєво впливає на клінічний перебіг та адекватну відповідь на проведену терапію.

Початкові узагальнення першого десятиріччя ХХІ ст. свідчать, що пріоритетом у розробленні нової стратегії у лікуванні онкологічних хворих стануть, насамперед, досягнення сучасних біо- та нанотехнологій. До них належать нові біомолекулярні маркери ранньої діагностики, отримання високоспецифічних цитостатиків та векторних систем їхнього транспортування, створення нових вакцин, пробіотиків і МкАТ, які безпосередньо впливають на ключові ланки диференціювання, трансформації та апоптозу клітин. Ці технології спрямовані на раннє виявлення і своєчасне знищення ракових клітин при врахуванні індивідуальних особливостей перебігу пухлинної хвороби та максимального збереження і реабілітації системи протипухлинної резистентності організму.

MODERN STATE AND PERSPECTIVES OF FUNDAMENTAL INVESTIGATIONS IN EXPERIMENTAL AND CLINICAL ONCOLOGY

V.F. Chekhun

Summary. *The modern data about molecular mechanisms of malignant transformation, molecular certification of tumor cells for individual therapy are analyzed. The role and relationship with different stages of carcinogenesis, chronic inflammation, angiogenesis, tumor stroma and their microenvironment, immunological aspects of tumor growth are discussed. The fundamentals of new strategies of medicinal therapy of malignant tumors are formulated.*

Key Words: malignant tumors, molecular markers, tumor microenvironment, angiogenesis, chronic inflammation, antitumor immunity, medicamentous treatment.

Адреса для листування:

Чехун В.Ф.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України