

Опухоль — как она видится сегодня с позиций молекулярной генетики

В. А. Кордюм

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

Анализируется проблема онкогенеза с позиций молекулярной генетики. Особое внимание обращено на нестабильность генома как основную причину возникновения злокачественного роста клеток. Отмечается, что нестабильность генома поставяет материал для отбора. Иммунный надзор, убирая все, что у данного индивидуума он может убрать, формирует у каждого больного «свою» опухоль, которая не воспринимается им (иммунным надзором) как подлежащая уничтожению.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЙ ДИСКОМФОРТ. То, что опухоли существуют и что это плохо, знают все. А уж если опухоль растет неконтролируемо, т. е. относится к категории злокачественных (которые далее будут именоваться для краткости просто «опухольями»), то это выходит за рамки любых «плохо». По сравнению с ними другие опухоли смотрятся просто-таки безобидно, их даже называют почти ласково — «доброкачественные». И зло от злокачественных опухолей превеликое, да к тому же еще непрерывно растущее.

Примерно лет тридцать тому назад онкологи отметили, что «рак обнаглел и помолодел». С тех пор эти его свойства прогрессируют все быстрее и быстрее. Хотя усилий на борьбу с ним тратится даже не просто исключительно много, а с непрерывно мощным нарастанием. В чем же проблема? На эту тему написаны если не миллионы, то многие десятки тысяч монографий и исчерпывающих обзоров. Перебраны все мыслимые и немыслимые варианты. Внести что-то новое кажется просто невероятным. А создавать компиляцию в виде пересказа уже написанного мало что даст. Тем не менее, если посмотреть на проблему со стороны (не совсем конечно, но все же под иным углом знаний), то возникает какой-то странный интеллектуальный дискомфорт.

Попробуем для начала разобраться в нем — сформулировать его суть. Для этого начнем с неких

реперных точек в цепи непрерывных открытий, появления и смены доминирующих представлений, целых парадигм и иных этапов познания. Сначала все казалось понятным. В общей форме, конечно. Имеются возбудители самых разных болезней. Злокачественные опухоли — следствие поражения человека соответствующим возбудителем. Ну не известен он пока, так искать надо. Эта концепция пережила несколько волн взлетов и падений. И сегодня, действительно, известны некоторые вирусы, которые в случае их развития в животных надежно установлены как этиологические факторы опухолеобразования, а для человека — почти. Почти потому, что уже ясно — хотя вирус и является безусловным этиологическим фактором, но только его одного все же очень часто оказывается недостаточно для того, чтобы образовалась опухоль.

Затем были открыты канцерогены и стало очевидным, что опухоли — это «нарушения метаболизма». Действительно, если мазать долго загривок мыши метилхолантеном, то у нее разовьется рак. Стали искать эти «нарушения метаболизма» конкретно. И удивительная вещь — почти все, что исследовали в опухолях, количественно отличалось от имеющегося в нормальных тканях. А вот то конкретное, что запускает и поддерживает онкогенный рост, те самые онкогенные «эндокринные регуляторные цепи», найти не удавалось. Интерес к направлению угас.

На взлет в науке пошли мутации. Малигнизацию начали связывать с мутагенезом. Тот же

метилхолантрен — мутаген. И если его не жалеть, намазывая им загрызки мышей, то он вызовет мутации. Но время шло, экспериментальный материал накапливался и опять возникли те же сомнения — мутаций в опухолевых клетках оказалось слишком много. А вот какая из них та, что приводит к опухолевому росту и каким путем, оставалось неизвестным. Интерес к мутагенной концепции онкогенеза также начал угасать. Здесь подоспели онкогены. Собственно говоря, подоспели не онкогены. Подоспело развитие молекулярной биологии и молекулярной генетики, которые и обеспечили тот уровень экспериментальных возможностей, с которого методически удалось изучать онкогены.

Началось все с *sarc*-гена вируса саркомы Рауса. Затем оказалось, что в клетке — обычной нормальной клетке обычного нормального животного — имеется почти идентичный по нуклеотидному составу клеточный гомолог вирусного гена *sarc*. На самом-то деле, как выяснилось позже, все наоборот — это у вируса имеется несколько измененный гомолог клеточного гена. Но истина слишком часто начинает познаваться с противоположного конца. Тем не менее, прорыв свершился, и пошла лавина работ. Пока число открытых онкогенов исчислялось единицами, все считалось понятным. В общем, конечно.

Мутация приводит к тому, что нормальный клеточный (теперь уже конкретно идентифицированный) ген выходит из-под регуляторного контроля и вызывает безудержный рост клеток — «процесс пошел». Но протоонкогенов (т. е. клеточных предшественников, которые превратятся после соответствующих мутаций в онкогены) открывали все больше и больше. Сначала их счет шел на единицы, затем на десятки, сегодня, если собрать все гены, которые, будучи как-то изменены, могут вызывать опухоли, их число пойдет на сотни. Появился уже первый каталог генов человека, наследственные дефекты которых при определенных условиях вызывают возникновение опухолей [1]. А процесс открытия кандидатов в протоонкогены (первичных, вторичных, скоро — третичных и т. д.) успешно продолжается. Стало ясно, что хотя онкогены, конечно же, имеются и определенную роль они играют, но объяснить только (или даже в основном) ими малигнизацию, онкогенез, злокачественный рост и прочие плохие свойства опухолей невозможно.

И тут появились антионкогены. Их открытие явилось следствием удачи, предопределенной многолетним коллективным трудом специалистов ряда областей — медицинской генетики, молекулярной

биологии, онкологии и т. д. В результате установления молекулярного дефекта редкой наследственной болезни — ретинобластомы — был идентифицирован, выделен и изучен ген, отвечающий за данную патологию. Оказалось, что его продукт контролирует клеточное деление. Более того, ежели оно, клеточное деление, начинает выходить из-под контроля в результате функционирования онкогена, то ген ретинобластомы блокирует его функцию. Не всегда конечно, и не всех онкогенов, но часто блокирует. Зато если он сам инактивирован мутацией в обоих аллелях, то даже без онкогена, только в результате того, что снят контроль за обычными нормальными клеточными процессами, связанными с делением, начинается злокачественный рост. Таким образом, ген ретинобластомы действует против онкогенеза, являясь его антиподом — антионкогеном.

Открытие антионкогенов состоялось и все стало в очередной раз понятным. В общем, конечно. Онкогенов много, но их контролируют антионкогены. Пока они есть — клетка под самоконтролем. Ну а если мутируют и антионкогены, да еще и в обоих аллелях (сразу или по очереди), то тогда ничего не поделаешь — злокачественная клетка явилась организму из пены мутаций. Но экспериментальный материал накапливался и ясности становилось все меньше. Оказалось, что часто и антионкогены имеются, а опухоль все равно растет, как на дрожжах. Да и самих-то антионкогенов открывалось все больше и больше. Пока их известно, пожалуй, поменьше, чем онкогенов, но счет уже пошел на десятки. При таком обилии онкогенов и антионкогенов в их категорию постепенно начинают переходить все гены, продукты которых участвуют в клеточном делении. Похоже, только степень изученности отделяет одни от других («просто» гены циклов, участвующих в пролиферации, от того, что уже описывают как протоонкогены и антионкогены).

А тут еще очень громко заявил о себе апоптоз. Как нормальное явление запрограммированной гибели клеток апоптоз был известен давно. Он абсолютно необходим при эмбриогенезе, дифференциации, просто для существования почти любого многоклеточного организма. Но оказалось, что он же является еще и одним из ключевых контрольных механизмом самоуничтожения клетки, в которой начались неконтролируемые процессы, грозящие привести к злокачественному росту. Только уж очень опасен апоптоз для клетки. Имеется очень много контрольных элементов на пути от сигнала — команды к апоптозу до начала необратимого процесса — деградации генома клетки. На каждый

из этих контрольных элементов, в свою очередь, задействованы цепочки нормальных процессов, блокирующих апоптоз. Как любой ген, могут мутировать и гены элементов этих сигнальных цепей и гены самих контрольных элементов. Поэтому апоптоз часто не срабатывает.

Опять все становится настолько многозвенным, взаимно... не то, что связанным, взаимоперевязанным, взаимопереплетенным, взаимоперепутанным, что малигнизация, онкогенез, злокачественный рост, опухоль и т. д. теряют четкую, от начала до конца прослеживаемую, причинно-следственную связь событий. И основой теряющейся ясности становится все более полно устанавливаемое экспериментально понимание того, что уникальнейшая по своему совершенству контрольная система организма ни при каких мутациях, ни при каких нарушениях просто не может допустить проявления опухоли. Она выключит, перекроет, зашунтирует и т. д. путь к ней. Уничтожит любые мутанты, любую клетку еще на дальних подходах к опасному перерождению. Не может возникнуть опухоли ни при каких условиях. А она возникает. Опять приходят к феноменологии, только теперь уже на молекулярном уровне.

Попробуем все начать сначала, с уровня этой молекулярной феноменологии. Но при этом посмотреть на все чуть-чуть с иных позиций. Опухоль ни возникнуть, ни существовать, ни прогрессировать не может вне организма. Феноменология на уровне организма должна быть неразрывно связана с феноменологией молекулярной. Так как же все происходит?

ОПУХОЛЬ. Согласно общепринятым представлениям, для опухоли главным, принципиальным, определяющим в конечном итоге ее свойства как патологии признаком является размножение клеток, которое выходит из-под контроля организма. А скорость размножения, степень неконтролируемости и, строго говоря, не связанное прямо с темпами мультипликации распространение по всему организму, т. е. степень злокачественности, являются лишь количественными проявлениями главного признака. Но этот признак включает большое количество хотя и взаимосвязанных, но в то же время достаточно самостоятельных по своим конкретным механизмам событий. Так что же из них главное?

При кажущейся на первый взгляд парадоксальности главное — это выход клетки из-под контроля организма. Ибо размножение клеток (в том числе и очень быстрое) является абсолютно нормальным, обязательным, определяющим как само появление организма, так и его дальнейшее существование,

свойством всего живого. Без размножения клеток организм ни появиться, ни существовать не может. Но при этом обязательным условием является строгая контролируемость пролиферации. Контролируемость того, где, когда, каким клеткам и как размножаться. И поскольку клеточная репродукция — основа жизни любого индивидуума, то все стороны такой репродукции многократно, многонадежно, многосторонне и прочее «много»... взаимосвязаны и взаимоконтролируемы. Все это «много» осуществляется на двух качественно разных уровнях (хотя и неразрывно взаимосвязанных) — внутриклеточном и организменном.

Организменный уровень — это все то, что находится вне каждой конкретной индивидуальной клетки. Однако все внеклеточное создается тоже клетками — только иными (в основном), чем каждая конкретная. Поэтому внеклеточное сначала обязательно проходит стадию внутриклеточного. Запомним это — оно понадобится при дальнейшем анализе.

Сегодня неизвестно, сколько генов непосредственно (т. е. тех, продукты которых участвуют в прямых цепях метаболизма нуклеинового обмена), а сколько опосредованно (в цепях, обеспечивающих другие потребности клеточной репродукции) задействовано в клеточном делении каждой индивидуальной клетки. Неизвестно также, сколько генов в других клетках обеспечивают согласованные синтетические цепи, обеспечивающие в их тонкой динамике все многообразие внешних сигналов: разрешающих, включающих, контролирующих, запрещающих и т. д. клеточную пролиферацию как нормальный процесс. И не пролиферацию вообще, а каждой конкретной индивидуальной клетки. Но то, что их счет, когда это все будет известно, пойдет на тысячи (если не десятки тысяч), кажется очевидным. Ведь весь организм человека — это образовавшаяся взаимосогласованная система многих десятков миллиардов клеток, непрерывно взаимодействующих между собой, непрерывно в разных частях тела репродуцирующихся, дифференцирующихся, отмирающих и т. д. Любые сбои внутриклеточных процессов, любые возникающие мутации, которые только можно себе представить, в таком многомиллиардном клеточном образовании неизбежны в очень больших абсолютных величинах — всегда и постоянно. И какую бы ни принять вероятность мутационного события — 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} на клетку на ген в сутки (мутации с не меньшей частотой, чем в делящихся, идут и в неделящихся клетках), суммарная величина окажется такой, что любая система почти сразу после своего появления при прямой экстраполяции по-

следствий пойдет в разнос. А она не идет. В основном, конечно. Почему?

Посмотрим с этих позиций на общепринятые механизмы онкогенеза — онкогены и антионкогены. Онкоген — это ставшее причиной злокачественного роста клетки производное протоонкогена [2—5]. Протоонкоген же — не что иное, как абсолютно необходимый для появления и нормального существования клетки ген. Абсолютно необходимый! [6—8]. Как онкогены в чистом виде, т. е. гены, единственной (или, по крайней мере, основной) функцией которых является малигнизация, они имеются лишь у некоторых вирусов: *sarc* — у вируса саркомы Рауса, *Ets* — в составе слитого белка Gag-Myb-Ets у вируса эритробластоза и т. д. [9]. Их гомологи имеются у всех млекопитающих (а некоторые — чуть ли не у всех многоклеточных вообще).

Интегрировавший в геном клетки вирус, несущий «чистый» онкоген под автономной вирусной регуляцией, обеспечивает (непрерывный и в значительном количестве) синтез белка, стимулирующего пролиферацию в обход и вопреки всем клеточным регуляторам, а заодно блокирует апоптоз. Это — один крайний вариант. Но даже в таком крайнем варианте онкоген не является единственной причиной малигнизации! Он лишь видимая (и потому кажущаяся очевидной) верхушка айсберга функций, осуществляемых вирусными генами для того, чтобы онкогенез состоялся. Сам по себе онкоген не сработает. Необходима система его принудительной (по отношению к клетке) экспрессии. Для этого нужна автономная энхансерно-промоторная система. И еще что-то, что не даст клетке ее выключить (хотя бы универсальным путем метилирования). Абсолютно необходимо подавить апоптоз. Иначе он уничтожит становящуюся опасной клетку. Надо блокировать действие внешних контрольных систем. В другом таком же крайнем варианте вирус встраивается в предпочтительный сайт — мишень, возле (или в) клеточного протоонкогена, вызывая его конститутивную экспрессию.

Так, например, вирус рака молочной железы мышей индуцирует у мышей определенной линии рак молочной железы. Он встраивается в регуляторную область протоонкогена *Fgf-3*, вызывая его безудержную экспрессию [10]. Опять же вирус препятствует прохождению как внутриклеточных команд, так и команд извне на самоуничтожение вышедшей из-под контроля организма клетки. Формально к таким же последствиям приведет введение в клетку с последующей интеграцией в хромосому генетической конструкции с обычным клеточным геном, участвующим в делении клетки,

но под сильным автономным промотором, не реагирующим на контрольные сигналы. Но подобное образование опухоли возможно уже далеко не всегда и отнюдь не у всех животных. В культуре клеток да еще при хорошей селекции — почти всегда. А вот животное даже от введения ему таких уже готовых малигнизированных клеток заболит только при выполнении очень многих условий. Главное — чтобы его генотип был особый (лучше всего исключаяющий развитие тимуса). Да и различные воздействия дополнительно соблюдать надо и т. д. Иначе даже готовые раковые клетки не приживутся — организм их уберет. На модельных животных в модельных условиях онкогенный потенциал будет продемонстрирован. А вот реально, естественно возникающего онкогенеза не произойдет. Поэтому и разноразличных обнаруживаемых онкогенов в реальных опухолях очень велик.

Когда пишут о том, что имеет место активация продуктов онкогенов при различных опухолях, то почти всегда оказывается, что это имеет место только у части данных типов опухолей. А у других такого нет. Или есть другое. Так, например, в одной из работ исследовали уровень экспрессии генов семейства протоонкогенов *ras* — одного из предполагаемых факторов рака молочной железы человека. Из 27 спорадических (т. е. генетически не детерминированных!) случаев рака молочной железы человека в 18 было выявлено 2—4-кратное усиление экспрессии *ras* в опухолевой ткани. А в девяти случаях (т. е. в трети) вообще никакого усиления экспрессии не наблюдалось [11]. И вообще не понятно, всегда ли повышенная экспрессия онкогена (у реальных природных опухолей!) — это действительно причина их злокачественности (и уж тем более, единственная) или часто только маркер либо отягощающий фактор, а причина в чем-то другом?

Еще бóльшая неопределенность существует в случае антионкогенов. Здесь, по-видимому, максимально полная четкость имеется лишь при полной утрате сильного антионкогена в обоих аллелях. В основном, конечно. Наиболее прямолинейно это связано с генами ретинобластомы (RB) и p53. Уж если в обоих аллелях тот или иной отсутствует — начинается канцерогенез. Но даже в таком предельном варианте канцерогенез может только начаться! А для того, чтобы он довел клетку до опухоли, т. е. чтобы она стала злокачественной и размножилась, надо еще, чтобы не работал апоптоз и внеклеточные механизмы контроля. И одни только мутации по RB и p53 такого не обеспечат. Вне этого же крайнего варианта вообще возможно все, даже такое, что и придумать трудно.

Так, ген RB может не отсутствовать, а находиться в любой мутантной форме. А поскольку мутация — это все что угодно — от не более чем замены основания до любых внутригенных или межгенных рекомбинационных событий, то спектр мутаций включает все мыслимое и многое из немислимого. И между мутациями в гене RB и клинической картиной ретинобластомы диапазон тоже очень широкий [12]. С геном p53 и того сложнее. То, что утрата обоих аллелей p53 — это плохо, конечно же, понятно. Но, оказывается, p53 может мутировать так, что мутантный p53 становится опаснее его полного отсутствия (p53^{-/-}). По крайней мере, в одном из подобных вариантов мутантный белок мутантного гена p53 превращается в трансаактиватор протоонкогена *c-myc*, переводя его таким путем в статус активного онкогена [13]. Таким образом, доминантный антионкоген может превращаться в доминантный онкоген! Возможны и иные варианты.

Мутация в гене p53 способна приводить к утрате опухолевой клеткой восприимчивости к команде на апоптоз со стороны организма, например, возникновению устойчивости к TNF [14]. Более того, все чаще стали писать о том, что вообще избыточная экспрессия p53 коррелирует с плохим прогнозом для больных и раком, и саркомой [15, 16]. Не лучшим, а худшим! Вот такой он, антионкоген. Вообще же антионкогенов уже известно, по-видимому, десятки [17—20]. Сегодня становится очевидным, что любой ген, продукт которого принимает участие в контроле клеточного цикла со стороны ограничения (т. е. контролирует его включение, разрешая таковое только на каком-то этапе), является антионкогеном, и при каком-то условии нарушение функции такого гена может вызвать опухоль.

Так, p53 участвует в контроле смены фаз клеточного цикла, контроле апоптоза и т. д. [21]. Не всего цикла смены фаз роста или апоптоза, а лишь определенного звена цикла. Но звенья могут быть разной значимости, разной задублированности. У p53 — звено одно из ключевых. И, тем не менее, при его полноценности и нормальном функционировании опухоли все равно возникают. Только в 20—30 % остеосарком человека обнаружены нарушения в генах p53 и RB, т. е. самых сильных антионкогенах. В остальных же 70—80 % опухолей они им не помеха [22]. А в других случаях и неключевое звено может быть определяющим.

Так, у некоторых больных с плоскоклеточным раком головы и шеи в клетках не экспрессируется один из генов главного комплекса гистосовместимо-

сти — HLA-B7. И этого оказывается достаточно для онкогенеза [23].

С данного примера начинается часть того, что называют наследственным предрасположением к опухолям, с одной стороны, и опухолями как фенотипической реализацией такой предрасположенности, с другой. Ибо предрасположенность к опухоли может и не реализоваться в опухоль! Очень высокая вероятность предрасположенности к опухоли, по крайней мере, в варианте ретинобластомы, имеет место при наследственной гетерозиготности гена RB^{+/}.

При такой ситуации во всех клетках организма отсутствует один аллель RB. Одного имеющегося, в принципе, вроде бы и достаточно для поддержания нормального фенотипа клеток. Но при реально существующей частоте мутаций будут постоянно возникать клетки с дефектами в оставшейся единственной копии. С печальными последствиями в конце концов. Близкая ситуация, по-видимому, возникнет и при аналогичной гетерозиготности по p53^{+/}. Во всяком случае у линии мышей с p53^{+/} онкогенез «висит в воздухе». А если еще их и облучить, то сразу у многих животных начинают развиваться тимусные лимфомы [24]. Значит, у немногих при таком же дефекте по p53 имеется еще что-то, не допускающее (по крайней мере в те же сроки) появления опухолей.

В человеческой популяции имеет место полиморфизм гена p53. И если у него в положении 72 присутствует аргинин вместо чаще встречающегося пролина, то у женщин в 7 раз повышается вероятность ассоциированных с папилломами человека рака шейки матки. Как предполагают, это происходит вследствие более быстрого разрушения продукта p53 в результате его контакта с белком E6 данного вируса [25]. Повышение вероятности в 7 раз — это, конечно, много. Но у остальных (при той же замене!) опухоль все равно не развивается. Значит, у одних есть еще что-то, способствующее, а у других — что-то, препятствующее появлению опухоли даже в случае нарушений в p53.

Хорошо известна роль в канцерогенезе изоформ цитохромов p450, участвующих в детоксикации ксенобиотиков, а также ряда продуктов эндогенного происхождения [26]. В эксперименте показано, что усиление экспрессии рибосомного белка S3a вызывает трансформацию клеток NIH 3T3, которые при инъекции мышам бестимусной линии Nude приводят к развитию опухолей [27]. Но только этой линии! Эволюционно консервативные белки, т. е. присутствующие чуть ли не у всех эукариот (P300 и CBP) и координирующие у них транскрипцию, в случае нарушения их функций

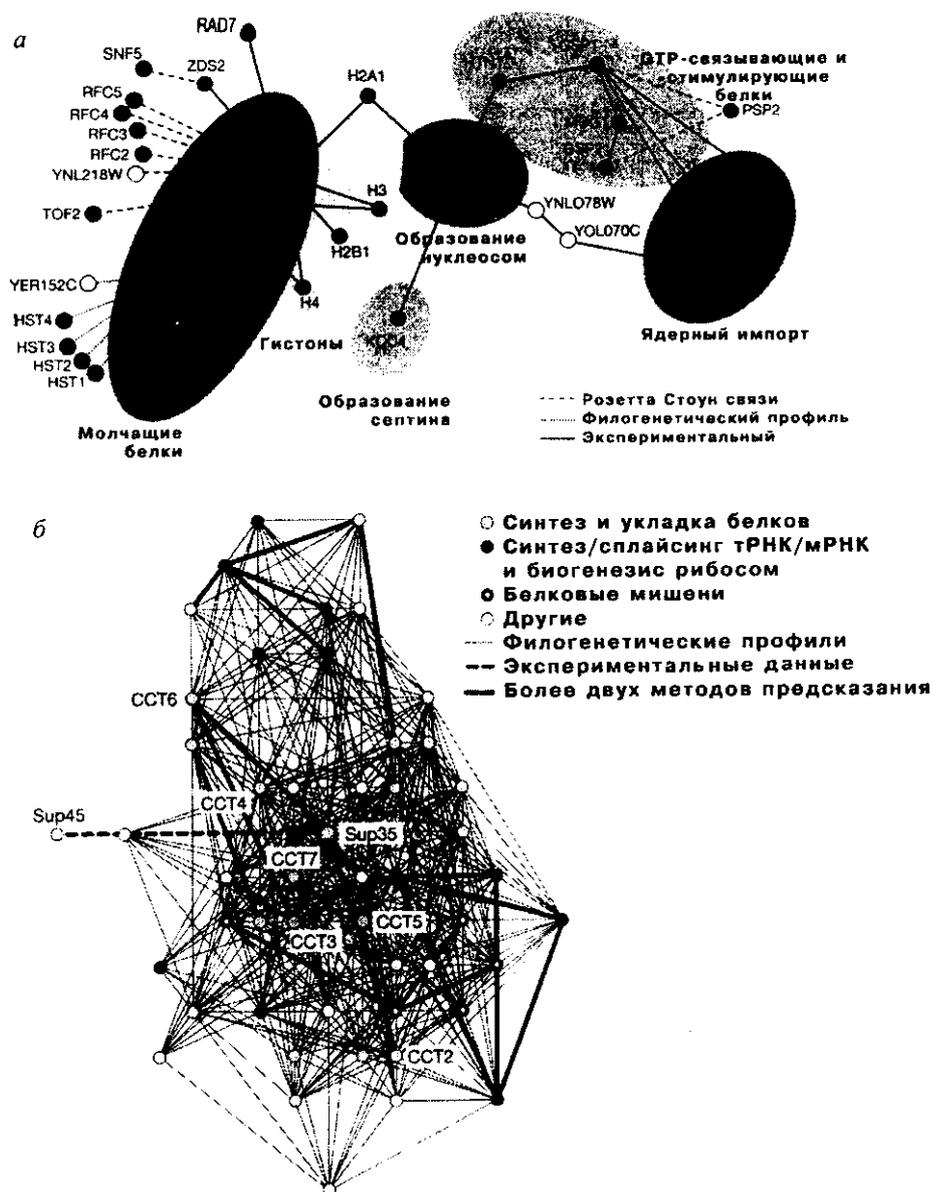


Рис. 1. Две функциональные сети белка: *a* — сеть белковых взаимодействий и предсказанных функциональных связей, включая молчащие информационные регуляторные (SIR) белки. Черные кружки обозначают белки с известными функциями; белые — белки, функции которых неизвестны, и представлены они только номерами последовательностей в геноме *Saccharomyces...*; сплошными линиями показаны экспериментально установленные взаимодействия белков, пунктирными — функциональные связи, предсказанные методом Rosetta Stone...; точечные линии показывают функциональные связи, предсказанные по филогенетическим профилям. Некоторые из предсказанных связей опущены; *b* — сеть предсказанных функциональных связей, включающих в себя дрожжевой прионный белок Sup 35. Пунктирные линии обозначают только экспериментально установленные взаимодействия. Другие функциональные связи были рассчитаны исходя из генома и данных по экспрессии с помощью комбинации методов, включая филогенетические профили, Rosetta Stone связи и экспрессию иРНК. Связи, предсказанные более чем одним методом и представляющиеся наиболее вероятными, обозначены жирными линиями [124]

ведут у ряда индивидуумов к образованию различных опухолей [28]. При мутации в регуляторном факторе интерферона IRF-2 гистоновый ген H4 мыши и его аналог у человека приобретают потенциал онкогена [29].

Таких примеров известно очень много и число их непрерывно растет. Но при анализе всей такой предрасположенности (возможно, за исключением крайних вариантов типа RB^{+/−}) бросается в глаза очень важная особенность — вероятность, а не полная предопределенность. Даже если имеется отяго-

щающий внешний фактор, реализующий (тоже лишь вероятно!) такую предрасположенность. Это свидетельствует о наличии дополнительных, страхующих, дублирующих и т. д. звеньев и цепей (сигнальных и метаболических), препятствующих реализации в опухоль единичной предрасположенности. Просто пока они нам лишь в малой мере известны. И только если и в них тоже имеются дефекты, если ослаблены все подобные звенья и цепи, предрасположенность превращается в детерминацию и реализуется.

Для того чтобы возникла опухоль (повторимся еще раз — за исключением крайних вариантов), необходимо много событий, выстроившихся в один ряд. И последним в этом ряду находится апоптоз — система самоуничтожения клетки. Она реализуется путем выполнения двух основных программ: каспазного пути и нарушения функции клеточных органелл [30]. Но, кроме этой последней защиты на пути перехода клетки в злокачественную, апоптоз играет ключевую роль в эмбриогенезе, росте и дифференцировке. Генов, регулирующих апоптоз, много, и дефекты даже далеко не ключевых из их числа приводят к тяжелейшим последствиям. Так, у гетерозиготных по гену *Eya1* (гомолог человеческого *EYA1*) мышей возникают anomalies развития почек и потеря слуха. А у гомозиготных *Eya1*^{-/-} вообще отсутствовали уши и почки, что связано с нарушением апоптоза в зачаточных органах [31]. Если бы не апоптоз, имели бы мы во взрослом состоянии и жаберные дуги, и третий (теменной) глаз, и хвосты, и многое другое, что проходим в эмбриогенезе, демонстрируя наше богатое эволюционное прошлое.

С другой стороны, если апоптоз начнется в здоровых, нужных организму клетках, то последствия также могут быть трагическими. Поэтому апоптоз контролируется многочисленными сигнальными и метаболическими цепями: взаимосвязанными, задублированными, подстрахованными и т. п. Просто так он не включается. Блокировка апоптоза может возникнуть на очень многих этапах очень многих сигнальных путей. Сегодня в представлениях о молекулярной биологии клетки и происходит очередная смена парадигм. Она сводится к тому, что в реальной системе молекул и процессов, которые в своей совокупности и являются клеткой, в норме принципиально невозможна ситуация, при которой любой белок, структурный фермент или регулятор, действовал бы сам по себе. Вообще-то и раньше было известно, что на каждый фермент имеется, по крайней мере, ингибитор, умеряющий его каталитический темперамент. Но теперь картина взаимодействия белков усложнилась настолько, что становится вообще трудно прослеживаемой.

На рис. 1 представлены два таких примера. Однако самое существенное, пожалуй, заключается в том, что вследствие конкретных белково-белковых взаимодействий индивидуальная молекула конкретного белка может не только менять уровень своей активности, не только сложным образом регулироваться, но и менять функциональное значение (рис. 2). Поэтому и срабатывает апоптоз не всегда, когда бы оно уже и надо было бы — на пути к злокачественности обязательно ему ставится ка-

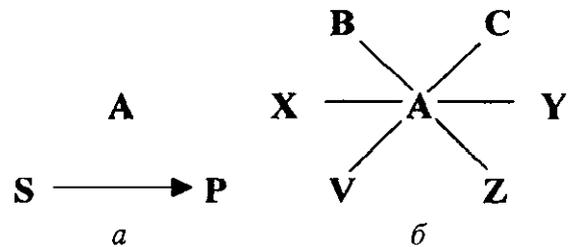


Рис. 2. Эволюция представлений о функционировании белков: *a* — традиционное представление (функцией белка А является превращение вещества S в вещество P); *б* — постгеномное представление (функция белка А в контексте его взаимодействия с другими белками в клетке) [124]

кой-либо блок. Ибо там, где никакого блока не ставится, и злокачественности нет — еще до ее возникновения реализуется механизм самоуничтожения.

Так почему же все-таки все эти многократно задублированные по сигнальным путям, абсолютно необходимые для нормального существования, т. е. нормальные(!), системы, цепи, звенья иногда все же перестают быть нормальными и клетка становится злокачественной? Ведь надежность за счет перекрытия, многоуровневых контрольных механизмов, системы самоуничтожения и т. д. такая, что способна блокировать любую мутацию и не допустить даже самой возможности канцерогенеза. А злокачественные опухоли возникают. И в общем-то не так уж редко. Почему? Опять начнем с феноменологии. Сначала только с молекулярной. Количественных различий между нормальной и опухолевой клеткой очень много. Почти по любой ферментативной активности, структурным белкам, энергетике и т. д. можно найти отличия (в основном, количественные, как исключение — качественные). Но все эти отличия, если проследить всю цепочку до ее истоков, начинаются с каких-то отличий в экспрессии генома. Поэтому, если искать первоосновы, надо внимательно, в сравнительном аспекте, проанализировать именно геномы опухолевой и нормальной клеток.

При таком анализе на фоне столь же всеобъемлющего разнообразия активности экспрессии разных генов в опухолевой и нормальной клетках (так же, как и в случае белков: в основном, количественном, как исключение — качественном) бросает-

ся в глаза одна принципиальная особенность. Практически во всех опухолевых клетках всегда имеется нестабильность генома. Нестабильность самая разнообразная и в разной степени выраженная. Такая нестабильность охватывает все теоретически возможные формы. Мутации по разным геном, амплификация отдельных генов, целых генных кластеров и обширных участков хромосом, всевозможные транслокации всех вариантов (внутрихромосомные, межхромосомные, «прыгающие»), утраты локусов разных размеров в разных хромосомах, нестабильность микросателлитов, утраты целых хромосом [32—51]. Но нестабильность эта носит явные признаки какой-то хаотичности. Нет такого, чтобы в одном типе опухоли были одни нарушения, в другом типе — другие. Даже в случае классических онкогенов и антионкогенов имеет место удивительный разброс. Начнем с классики.

Опухоль Вильямса — одна из редких форм с ярко выраженной наследственной предопределенностью. Один из генов, определяющих опухоль Вильямса WT1, картирован в области р13 хромосомы 11. Казалось бы, уж если он определяет болезнь (пусть даже не моногенно), то его отсутствие или мутирование должно быть во всех случаях при возникновении опухоли Вильямса. Однако детальный анализ показал, что утрата гетерозиготности по плечу хромосомы 11, в которой расположен ген WT1 (или хотя бы мутации в нем), найдены только в 10 % случаев опухоли Вильямса [42]. А в 90 % случаев опухоль и возникает, и развивается, стало быть, независимо от WT1. В других случаях гетерогенность и степень ее неопределенности выражены еще сильнее.

Так, например, мутации классического и очень сильного гена-супрессора p53 найдены только в 20 % BRCA-зависимых опухолей молочной железы [32]. При анализе большой выборки малигнизированных опухолей периферического перинеурия на каждый цитологический препарат от одного больного выявлялось в среднем по 11 хромосомных aberrаций. Статистически же достоверная корреляция со злокачественностью (определяемая по критерию «плохого прогноза») имела место только для двух утрат (7p15-p21 и 17q 22-Qter) [43], а остальные девять (в среднем) даже корреляционно были вроде бы как и ни при чем. Утрата гетерозиготности по 17q1-q23 при раке легкого человека имела место в 53 %; по 14q11-q24 — в 40 % аденокарцином легкого [40]. Остальные опухоли такого же типа прогрессировали и без утраты подобной гетерозиготности.

Материалов о столь странной гетерогенности и нестабильности накопилось уже очень много. Мно-

го уже и уточнений — при прогрессии опухоли в метастазах гетерогенность усиливается, и появляются хромосомные нарушения, которых вначале (или у первичной опухоли) вообще не было [41, 46, 52, 53]. Такая ситуация (слабая корреляция онкогенности с локусами, которые вроде бы должны были ее детерминировать) будет иметь место в тех случаях, когда нестабильность генома возникает как таковая, как некое общее неспецифическое событие. Нестабильность будет приводить к массе случайных событий, которые в своей основной массе и не вызывают, и не обуславливают злокачественности (геном-то очень большой, есть где развернуться нестабильности). Но некоторые нарушения (вследствие хаотичности нарушений как внутренне присущему, неотъемлемому свойству нестабильности) будут возникать и в участках, связанных с процессами клеточной пролиферации, контрольных звеньях апоптоза и т. д.

Это хорошо видно в тех случаях, когда отслеживали нестабильность участков, заведомо не связанных с канцерогенезом или связанных (хотя бы предположительно) с побочными эффектами. Например, устойчивостью к химиотерапии. В частности, в ряде опухолей (из серии однотипных!) нестабильность изучаемых участков (не вообще нестабильность генома опухолевых клеток, а только конкретных участков конкретных хромосом!) регистрировали, а в некоторых — нет [33, 54]. Такая неизбирательная, хаотическая нестабильность и является ключом к пониманию всей проблемы. Пониманию того, почему при всех надежнейших, совершеннейших, задублированных, перекрываемых и т. д. и т. п. нормальных механизмах пролиферации и наличии системы самоуничтожения — отлаженной, отшлифованной и выверенной сотнями миллионами лет эволюции опухоли все равно возникают.

Вообще-то нестабильность генома является тоже одним из нормальных и необходимых для самого существования на Земле свойств любого генома любого организма. Но такая нестабильность либо невелика по своим абсолютным значениям, особенно для критических событий (среди которых наиболее значимы двунитчатые разрывы), либо строго локализована и, конечно же, тоже надежно контролируется. Так, в процессе гаметогенеза нестабильность нужна для кроссинговера. И она осуществляется специальными механизмами. При образовании антителобразующих клеток нестабильность необходима практически в течение всей жизни, но она локализована строго в районе расположения генов антител и т. д. Кроме того, все теоретически возможные нарушения генома (т. е.

точечные в пространстве и времени флуктуации нестабильности) возникают постоянно и при пусть ничтожной, но вполне реальной неточности всех ферментов нуклеинового обмена, а также вследствие повреждающих факторов окружающей среды [55]. Поэтому какая-то связь нестабильности генома, нарушений в нем, с одной стороны, и опухолевыми клетками — с другой, в литературе постоянно обсуждается. Но обычно обсуждается как нечто такое, что является дополнительным по отношению к чему-то основному, определяющему опухолевый процесс, либо вообще просто сопутствующим [56—66]. Лишь в очень немногих работах нестабильность рассматривают как ключевой и неотъемлемый элемент опухолеобразования [67—75]. Но и в них нестабильности отводят роль процесса, включающего (или выключающего) какую-то одну функцию, или их родственную группу — онкоген, антионкоген, гены репарации и т. д.

Посмотрим, как можно себе представить непосредственную причинно-следственную связь между нестабильностью генома и опухолью с учетом реально существующих многочисленных, надежных и т. д. систем недопущения ее появления.

В обычных, в самых что ни на есть оптимальных условиях существования любого человека, у него все равно в разных клетках с какой-то частотой возникают мутации, которые не устраняются. В каждой клетке человека (за исключением эритроцитов, которые безъядерные) существует примерно сто тысяч генов (10^5). Сюда надо еще прибавить регуляторные области. В результате общий объем кодирующих и регулирующих последовательностей в геноме человека составляет (очень ориентировочно) примерно $3,5 \cdot 10^8$ пар нуклеотидов на диплоидный набор хромосом, т. е. на геном соматической клетки (при принимаемом сегодня $3,5 \cdot 10^9$ нуклеотидов на гаплоидный набор хромосом и соответственно $7 \cdot 10^9$ — на диплоидный, т. е. для всех соматических клеток, а также 5 %, приходящихся на кодируемые и регуляторные последовательности). Это значит, что уже в процессе эмбриогенеза и первых месяцев постнатального развития при реально идущих темпах мутаций у человека не будет двух полностью идентичных по кодирующим и регуляторным нуклеотидным последовательностям клеток. В результате все клетки одной ткани одного организма в одно и то же время будут как-то различаться по активности тех или иных генов. И это, в свою очередь, как следствие уже произошедшего сказывается на темпах идущих в них последующих мутаций.

Так, найденная экспериментально частота мутаций в СА повторах в разных сублинниях нормаль-

ных фибробластов колебалась (в зависимости от сублиннии) от $3,1 \cdot 10^{-8}$ до $\approx 4,5 \cdot 10^{-7}$ мутаций на одну клетку на одно клеточное деление. Таким образом, зафиксирован более чем 10-кратный разброс. Такой разброс воспринимается как нормальное явление [76]. Внешние факторы могут очень существенно влиять на этот процесс. Так, курение приводит к значительному повышению уровня геномной нестабильности. Собственно говоря, это было известно давно. Но новым для обнаруженного в последние годы является абсолютная всеобщность такой нестабильности — в нее оказываются вовлеченными даже клетки пути гаметогенеза. В результате курения у здоровых (по общепринятым показателям) мужчин в сперме достоверно повышалось количество дисомий и диплоидий по 1-й и 7-й хромосомам [77]. Это не значит, что другие хромосомы не были вовлечены в нестабильность. Просто в данной работе их не исследовали. Это в «нормальной жизни».

Но теперь уже установлено, что при различных физиологических стрессах у разных организмов может снижаться и точность репликации ДНК и точность ее репарации [78]. А в условиях заведомо известного мутагенного (даже максимально контролируемого) окружения геномная нестабильность возрастает многократно. Так, у рабочих урановых рудников среднее количество лимфоцитов периферической крови с хромосомными aberrациями в 3 раза превышало таковую в контрольной группе. И не просто превышало, а с появлением вообще отсутствующих у контрольных индивидуумов лимфоцитов с множественными aberrациями [79]. Ну и что? И как это может быть причинно-следственно связано с опухолеобразованием?

Вот один из таких возможных путей, проиллюстрированных в литературе в деталях [80]. Гены семейства *bcl-2* регулируют защиту клеток от окислительного стресса, вызываемого воспалением. При хроническом воспалении (а оно бывает по разным причинам очень часто в разных тканях) эти гены активируются. Но, кроме защиты от окислительного стресса при воспалении, эти же гены (вернее, их продукты) препятствуют апоптозу. Биологически это оправданно. Воспаление пройдет — клетка останется. А если при каждом воспалении будет включаться апоптоз — от организма может очень скоро вообще ничего и не остаться. Но при хроническом воспалении в условиях блокирования апоптоза (под защитой такого блокирования) начнут накапливаться и такие мутации, которые как потенциально опасные в норме апоптоз бы исключил (вместе с клеткой). А тут не исключает, *bcl-2* его блокирует. И под нормальной

защитой нормальной контрольной системы могут начинаться ненормальные процессы. Не сразу. Ведь в клетке все потенциально опасное многократно и надежно задублировано, проконтролировано и т. д. Но, тем не менее, как все может начинаться, т. е. какие конкретные события и каким путем могут включать запрещенные этапы на пути к малигнизации в строгой причинно-следственной связи, становится понятным. Пока в общем виде, конечно.

Для того, чтобы начался канцерогенез, нестабильность генома должна состояться, т. е. возникнуть и не уйти в небытие вместе с клеткой, приведя в действие ее самоуничтожение. В норме именно такое самоуничтожение наиболее вероятно, поскольку несанкционированная нестабильность потенциально опасна и либо должна быть убрана своими собственными механизмами, ее контролирующими (все варианты репарации и репликации), либо вызвать апоптоз и исчезнуть вместе с клеткой. Поэтому нестабильность будет возникать или постепенно, поэтапно, или в виде события, радикально блокирующего апоптоз, либо круто повышающего порог его включения.

В случае поэтапного возникновения нестабильности это может быть сначала простое повышение мутабельности. Мутации случайны. Какая-то затронет опасное звено и в клетке включится команда на самоуничтожение. Какая-то затронет регуляцию апоптоза. Выключить она его сразу не выключит (слишком высокая надежность регуляции), но чувствительность к опасным процессам снизить вполне может. Уже в такой клетке мутация, приводящая к повышению нестабильности, не вызовет апоптоза. Повышенная нестабильность может привести к нарушениям контрольных систем выше оставшегося порога чувствительности включения команды на самоуничтожение. Команды пройдут. Эта клетка элиминирует. Но в другой клетке повышенная нестабильность выключит еще какое-то звено в цепи команд на самоуничтожение. Теперь уже окажутся возможными и мутации, повышающие его мутабельность, и т. д. Начавшийся саморазгон нестабильности будет нарастать. Поскольку же он хаотичен, то будут затрагиваться и гены, контролирующие пролиферацию. Начнется накопление тех изменений, которые затронут активность и протоонкогенов. Что-то будет повреждаться и из необходимого для просто существования клетки. Такая клетка также элиминирует. Зато другие останутся жизнеспособными. И начавшийся процесс неустойчивости генома — саморазгон неустойчивости генома будет постепенно нарастать, выключая и апоптоз и антионкогены, переводя протоонкогены в онкогены и т. д.

В этом плане имеются уже и прямые экспериментальные данные. Так, утрата гетерозиготности по генам MSH2 и ML1 (т. е. по тем, которые конкретно отслеживались) в опухолях с уже возникшими ошибками репликации регистрировалась существенно чаще, чем в таких, у которых на момент наблюдения уровень подобных ошибок (в системе репликации) был в пределах нормы [81]. Как бы ни были многоперекрываемы, взаимоподстрахованы, высоконадежны и т. д. системы контроля и блокировки несанкционированной пролиферации, против неустойчивости генома, если она уже возникла, сделать они ничего не могут. И это не просто предположение.

При изучении эпителиальных клеток рака молочной железы в пределах одной опухоли выявлены субпопуляции клеток, резко различающиеся по их ответу на ключевые, контролирующие несанкционированный рост события — инактивацию гена-супрессора, устойчивость к ингибиторам роста, невосприимчивость к командам на апоптоз и т. д. [82]. При состоявшейся (и достаточно высокой) нестабильности генома любые контрольные системы становятся бессильными, а возникновение опухоли является лишь делом времени. Если геном исходно, наследственно, не поврежден, если все системы защиты целы и невредимы, если на жизненном пути не попадают урановые шахты, Чернобыль, грязная химия и прочие не лучшие атрибуты цивилизации, опухоль и не возникнет. Для этого и ста лет окажется мало. Но если уже от рождения имеются дефекты репарации, противоксидантной защиты, изоформы цитохромов р450, превращающие не то что ксенобиотики, а свои собственные, естественные метаболиты в канцерогены, то даже в идеальных условиях жизни возникновение опухоли из процесса вероятного превращается все более и более в неизбежность. А «время ожидания» будет обратно пропорционально степени реализации процессов и событий, способствующих неустойчивости генома: в данной ткани, в данном органе или вообще во всех клетках организма.

В каких-то крайних случаях будет «в чистом виде» активация протоонкогена в онкоген или элиминация антионкогена. Да и то либо в культуре клеток, либо в каких-то специальных линиях лабораторных животных, подготовленных для таких крайних случаев. Ибо для действия онкогена (или антионкогена) «в чистом виде» в клетках животного такой линии на «чистый» онкоген (или убраный антионкоген) уже не должны реагировать апоптоз, иммунная система и другие системы защиты. Только непрекращающаяся геномная нестабильность может, убирая (случайным и хаотиче-

ским образом) один блок за другим, элиминируя неудачные результаты своей же хаотичности, привести к появлению неуязвимых со стороны организма клонов. И совершенствовать их на пути злокачественности. Нестабильность генома — это непрерывный и по своей молекулярной природе нецеленаправленный процесс. Но через посредство хаотического создания хаотически измененных генотипов образуются измененные клеточные фенотипы. Они уничтожаются в том их проявлении, в котором могут быть уничтожены защитными системами. Но уничтожаются только те, которые могут быть опознаны системами уничтожения. А те, которые не могут быть опознанными, остаются.

Таким необычным путем нестабильность генома как внутриклеточный процесс взаимодействует с организмом на его организменном уровне. В результате такого взаимодействия нецеленаправленный внутриклеточный процесс превращается, по логике событий, в целенаправленный поиск клетками с нестабильными геномами щелей в защитных системах организма. И, убирая все, кроме того, что соответствует этим щелям, т. е. слабым местам в защите данного организма в данный момент, организм сам ведет предопухоль, а затем и опухоль по пути ее развития. В данном организме и в данный момент! Организм — рулевой онкогенеза!! А нестабильность генома — мотор онкогенеза!!! Вне организма опухоль не может существовать. И в культуре растет не опухоль, а опухолевые клетки, адаптированные к данной среде и приобретшие свойства неограниченной в ней пролиферации. В питательной среде, содержащейся во флаконе. В ней нет руля, т. е. селективного отбора со стороны организма. И если такие клетки не несут в себе онкогенного вируса (который в организме привел бы их к образованию опухоли), то при достаточном количестве пассажей они, оставаясь по всем своим признакам опухолевыми, у животного опухоли и не вызовут. Разве что у линии бестимусных мышей.

Другое дело, наличие в нем онкогенного вируса. Тогда они и при попадании в организм могут вызвать опухоль. Но причиной будет онкогенный вирус. В других же случаях даже при вирусиндуцированном онкогенезе, но без сохранения онкогенного вируса в опухолевых клетках, став малигнизированными, такие клетки смогут превратиться в опухоль только в организме. В нем (в организме!) вирус вызвал в группе его клеток геномную неустойчивость и развил ее, подавив на время реализацию апоптоза. А запустив процесс, вирус далее уже может быть и не нужен. Состоявшийся саморазгон геномной неустойчивости по его внутренней

логике и под селективным давлением организма в направлении поиска слабых мест в системе его защиты (щелях в защите) доведет дело до печального финала.

При многих аутоиммунных патологиях возбудитель какой-то болезни лишь запускает процесс. А далее он, аутоиммунный процесс, переходит в самоподдерживающееся состояние. Так же происходит и при онкогенезе: некоторые вирусы могут запустить геномную нестабильность. И если она перейдет в состояние саморазгона, то далее вирус уже не нужен — «процесс пошел».

Интересно проанализировать, нарушения каких же генов вызывают неустойчивость генома. Поскольку первым ее этапом может быть увеличение количества даже точечных мутаций, логично ожидать, что за это будут отвечать гены, продукты которых участвуют в нуклеиновом обмене. В норме — точность и чувствительность таких белков (продуктов этих генов) исключительно высоки. Так, ДНК-гликозилазы узнают и репарируют одно аномальное основание среди ста миллионов (10^8) неповрежденных оснований в геноме [83]. Это и будет нормальный (т. е. обычно существующий) уровень количества участков окислительных повреждений в ДНК. При мутациях в гене гликозилазы точность репарации снижается. И утрата гетерозиготности по одному из локусов этого гена часто встречается в опухолях [84]. Flap-эндонуклеаза, кодируемая геном FEN-1, гидролизует при репарации ДНК свисающие 5'-концы и участвует в процессинге 5'-концов фрагментов Оказакки. Мутации в гене FEN-1 нарушают эти функции.

Одним из следствий такого нарушения является экспансия повторов. И она обнаружена экспериментально в ряде опухолей [85]. Мутации в генах коррекции ошибок спаренных оснований вызывают мутаторный фенотип и ассоциированы с наследственным колоректальным раком [86]. Продукт гена поли(АДР-рибозо)полимеразы участвует в процессах репарации, репликации и рекомбинации ДНК, а его нарушения являются одной из причин канцерогенеза [87]. Но очень существенным является то, что мутации в генах нуклеинового обмена не просто повышают количество только точечных мутаций или приводят к экспансии повторов. Ожидаемые нарушения (исходя из прямой, казалось бы, функции гена) — это то, что ищут целенаправленно.

В тех же случаях, когда исследуют максимально широкий набор свойств генов, участвующих в репарации, то оказывается, что, кроме «прямой» функции, мутации в таких генах приводят также к общей нестабильности генома. Они, конечно, в

первую очередь обеспечивают свои, «целевые», основные для их функции участки цепей нуклеинового обмена. А в случае мутирования, пусть в меньшей мере, возможно, не прямо, а косвенно, но влияют и на другие процессы, вызывая общую нестабильность генома. Например, мутации в гене синдрома Блума приводят к частым разрывам хромосом и повышению частоты обменов сестринских хроматид в соматических клетках [88]. А именно разрывы необходимы для амплификации. Так, в одном из экспериментов показано, что при индукции разрывов ДНК амплификация происходит более чем на четыре порядка (10^{-5}) чаще, чем без индукции разрывов (10^{-9}) [89]. Из-под контроля могут выходить (и выходят!) также гены целевой, строго локальной, специально вызываемой, необходимой для нормальной функции нестабильности. Такая целевая нестабильность в норме соотносена с конкретным участком генома.

Это, например, относится к механизму повышения сродства антител к антигенам в процессе иммунной реакции. В основе такого механизма лежат гипермутационные изменения структуры «горячих точек» генов, кодирующих антиген-связывающие сайты [90]. Они приводят к рекомбинационным событиям благодаря двунитчатым разрывам ДНК вблизи особой сигнальной последовательности RSS. RSS-локусы узнаются специальными белками группы RAG. Но поскольку RSS сходны по своей нуклеотидной последовательности с концами транспозона, RAG-белки, подобно транспозазе, возможно, способны транслоцировать расщепленные RSS-концы к неродственной ДНК, т. е. участвовать в нестабильности генома [91]. И примерно у 90 % больных хроническим миелолейкозом в опухолевых клетках имеется транслокация между хромосомами 9q 34 и 22q 11 [92].

Гены группы BRCA кодируют продукты, участвующие в процессах репарации. Мутации в генах BRCA 2 приводят к развитию нестабильности генома, обуславливая этим очень высокий риск развития рака [93, 60]. Но мутация — это любое изменение в гене (или группе генов). При мутации в критических точках (активный центр, сайт, участвующий в самосборке, и т. д.) может полностью исчезнуть функциональная активность продукта. Но могут быть (и они возникают значительно чаще) точечные мутации, лишь слегка изменяющие активность кодируемого продукта (т. е. аминокислотные замены, нерадикально меняющие структуру и функцию белка). Поэтому в популяции неизбежно должно быть разнообразие по активности идентичных генов. Там, где такое детально изучают, — его находят. Анализ большой выборки

людей по генам репарации XRCC 1 (репарация радиационных повреждений), XRCC (репарация двухцепочечных разрывов), ERCC1, XRCC1, XPD, XPF (система эксцизионной репарации) позволил обнаружить девять аминокислотных замен, из которых шесть имелись в неконсервативных аминокислотах, т. е. могли влиять на функциональную активность. Они встречались с частотой от 0,04 до 0,45 в популяции здоровых (по принятым критериям) людей [93]. Но ведь в случае опухолей особенность в том и состоит, что здоровые, здоровые, а потом вдруг — канцер. И это только по пяти генам. А в нуклеиновом обмене участвуют, по разным оценкам, сотни генов. И если, как было найдено в вышецитированном исследовании, среднюю частоту отклонений от принятого за оптимальное (по функциональной активности продукта) оценить даже в 0,1, то и тогда у каждого человека (естественно, вероятно) несколько десятков генов нуклеинового обмена не то, что дефектны, но уже и не оптимальны по их активности или специфичности. А генов-то у человека $\approx 100\ 000$.

Как же в плане влияния на нестабильность генома обстоит дело с остальными генами, не относящимися непосредственно к нуклеиновому обмену? Сразу надо отметить, что таких данных настолько мало, что сколько-нибудь полный анализ их роли в предрасположенности к опухолям осуществить невозможно. Кажется очевидным, что потенциальную роль (возможно, опосредованную) в становлении и прогрессии нестабильности генома должны играть гены контрольных и метаболических цепей, участвующих в апоптозе (или в его блокировании). Но очень похоже, что пусть не прямо, а опосредованно в нестабильности генома могут играть роль и мутации многих других генов, казалось бы никак не имеющих непосредственного отношения ни к нуклеиновому обмену, ни к пролиферации, ни к апоптозу.

Таких данных все еще не просто очень мало, их единицы, так как причинно-следственную связь между «обычными» генами и нестабильностью генома проследить крайне сложно. Тем более интересны имеющиеся данные. У мышей, несущих в составе вируса рака молочной железы трансген MM TV-C-тус, регистрировалась нестабильность генома, не связанная со статусом p53 [95]. Наследственные синдромы Марфана и Элерса—Данлоса связаны с нарушениями соединительной ткани. И, тем не менее, в клетках всех больных с этими синдромами угнетены репарационные системы ДНК [96]. Подобные материалы постепенно накапливаются.

Но есть еще одна очень важная особенность генома человека (как, впрочем, и всех других

организмов в той или иной мере тоже). Геном человека содержит в своем составе примерно 20 % (от общего его объема) остатков подвижных элементов (в основном, что известно на сегодня — ретровирусов). Все эти элементы либо еще обладают реальной (или потенциальной) экспрессией белков, обеспечивающих их подвижность, либо содержат сайты узнавания для таких белков. А все, что делает нас человеком, все кодирующие «человеческие» последовательности, составляют не более 5 % генома. Таким образом, каждый из нас исходя из его наследственного материала на 5 % человек «в чистом виде», на 20 % — «потомок» ретровирусов и их производных и на 75 % — вообще неизвестно что (пока). А в целом — тот реальный человек, каким он и есть. Если все эти подвижные элементы придут в движение, то наш геном перемешается, перетасуется, рассыпится, перекомпонует, перестроится и т. д. Да к тому же все это произойдет одновременно.

Совершенно ясно, что должна существовать очень мощная, многоярусная, задублированная система, блокирующая эту возможность как таковую. Ибо даже как санкционированная, в своем полном объеме возможностей, она, т. е. приведение в движение генома, если и реализуется, то только в виде системы самоуничтожения клетки. Но при развитии нестабильности часть такого потенциала может реализоваться. Так, в районе 7q 31,2 у человека расположен хрупкий сайт FRA 7g, который часто изменяется при раке. А в середине области FRA 7g присутствуют последовательность эндогенного ретровируса HERV-H и последовательности, гомологичные маленьким полидисперсным кольцевым ДНК (амплификатам или выщепляемым рекомбинантам, образующимся в результате естественно сохраняющейся нестабильности генома). Принципиально такие же элементы обнаружены в другом хрупком сайте FRA3B [97]. Такие сайты даже в абсолютно нормальной клетке со всем необходимым и нормально функционирующим блокированием нестабильности являются если не «горячими», то, по крайней мере, «теплыми» точками нарушений генома. Если же нестабильность начинает развиваться (в каких-то случаях, возможно, инициируясь именно с них), то они могут служить для нее хорошим материалом, способствующим саморазгону. А дальше все уже по известной классике — невосприимчивость к апоптозу, активация онкогенов, инактивация антионкогенов, уход от иммунного контроля и т. д., т. е. все то, что и принято считать малигнизацией.

Так оно и есть на самом деле. Классика остается. Никто никогда не отменит онкогенов, антион-

когенов и т. п. Только обеспечивает все это нестабильность генома. Обеспечивает и само появление их онкогенных проявлений и усиление этих проявлений и сохранение клеток с таким мерзопакостным набором и т. д. Обеспечивает, сохраняет, развивает и оберегает.

ОПУХОЛЕВАЯ БОЛЕЗНЬ. Уже давно существует представление о том, что опухоли в организме просто так, сама по себе, быть не может. Она как-то нехорошо на него действует (хотя и не сразу). Поэтому не следует говорить упрощенно: «у данного человека опухоль». Всегда надо понимать в полной мере, что имеет место сложная, комплексная в общем объеме событий и процессов, «опухолевая болезнь».

Клинические проявления ее и составляют то, с чем сталкивается и сам больной, и те, кто его лечит (если лечит). Но клинические проявления обуславливаются соответствующими физиологическими и биохимическими процессами. Они все, или по крайней мере, в основном, описаны в практических руководствах по диагностике и лечению, а также в менее доступных практикующим врачам, но зато несоизмеримо более многочисленных монографиях, обзорах и экспериментальных статьях. В свою очередь, в основе физиологических и биохимических процессов при опухолевой болезни лежат молекулярно-биологические и молекулярно-генетические события. Именно с них начинаются и ими определяются все остальные проявления болезни — и биохимические, и физиологические, и клинические. В отличие от обширнейшей литературы, посвященной молекулярной генетике малигнизации, опухолевой клетке, прогрессии злокачественности и т. д., здесь пока существует, в основном, лишь понимание того, что таковые на молекулярном уровне обязательно есть.

Конечно же, кроме общего понимания, имеется и ряд очень интересных, но разрозненных и в общем-то немногочисленных экспериментальных данных, группирующихся вокруг наиболее ярких, представляющихся очень перспективными, разработок. Попробуем же воссоздать максимально последовательно причинно-следственно обусловленную цепочку событий становления и развития опухолевой болезни.

Еще в период увлечения мутационной (в чистом виде) теории возникновения опухолей на основе прямых наблюдений и времени, которое проходит от первого мутационного воздействия (в том числе и вызванного сильнейшими канцерогенами) до появления злокачественной опухоли у экспериментальных животных, пришли к выводу о том, что малигнизация требует нескольких мутацион-

ных событий. Действительно, процесс малигнизации многостадийен. Что же в нем может быть ведущей первоосновой? В этот первый, начальный период еще даже не опухолевой, а предопухолевой болезни благодаря всем, на тот момент времени имеющимся элементам нестабильности генома, в какой-то группе клеток (от одной, если в ней возникла мутация, до всех клеток организма, если причиной нестабильности является соответствующая наследственная болезнь) начинается повышенная мутабельность. Не все мутагены канцерогенны! Зато канцерогены все и всегда вызывают нестабильность генома.

В геномах клеток начинают возникать различные нарушения в различных генах, в том числе и обуславливающие пролиферацию. Но контролирующее такое несанкционированное развитие событий систем в клетке очень много. Они включаются и на уровне репарации, и на уровне каких-то пока невыясненных (но реально существующих) блокаторов нестабильности, и на уровне регуляторов цепей пролиферации и т. д. В подавляющем большинстве случаев этого оказывается достаточно, чтобы вернуть все в норму, т. е. на тот уровень нестабильности, который санкционирован, контролируем, находится в пределах естественной нормы и неопасен. Но в каких-то клетках вернуть все в норму не удастся, так как ген-мутатор (вследствие мутации нормального гена, из которого образовался мутатор) уже вышел из-под контроля регуляторных механизмов клетки. Начинается накопление мутаций. Они могут быть летальными «в чистом виде» — инактивация одного из ключевых генов домашнего хозяйства в обоих аллелях. И тогда такая клетка погибает. Подобное событие происходит крайне редко. Вероятность мутации в обоих аллелях сразу (или последовательно, но за короткое время) крайне мала. В каких-то клетках мутирует один из генов, контролирующих пролиферацию. И если в обоих аллелях, то рост еще и не начнется, но блоков на его пути останется меньше и т. д.

В выстроенной таким образом гипотетической последовательности событий имеется одно принципиально слабое звено: чтобы сработать, мутация в подавляющем большинстве случаев должна затронуть оба аллеля контрольного звена. И так одного за другим, пока не будут выключены все блоки. Может быть, так оно и было задумано эволюцией. И тогда надежность была бы непробиваемой. Но реальность оказывается совсем не такой. Выше уже отмечалось, что за то реально бесчисленное число поколений, прошедшее не то что от пращура человека, не то что от пращура его пращура, а от появления первых диплоидных организмов до на-

ших дней, мутации в одном из аллелей даже при классическом абсолютном рецессиве должны были неизбежно накапливаться. Остановиться они могли только на таком уровне насыщения, при котором дальнейшее их увеличение приводило к невосполнимым потерям популяции вследствие сильной гомозиготизации дефектов.

Такова биологическая логика мутагенеза у диплоидов. Но мутации, по чисто вероятностной их природе, в большем их числе будут не полностью инактивировать аллель, а лишь в той или иной мере снижать его функциональную активность [98]. Сейчас это экспериментально подтверждено и общепринято. Поэтому очень часто оказывается достаточно мутацией выключить только один аллель (или даже снизить его активность) для того, чтобы частично нарушить точность контроля, ферментативную активность или, наоборот, увеличить ее (если это касается гена-репрессора). Но и это еще не все. Для многих генов (особенно ключевых этапов, таких, например, как репарация) считается, что каждый аллель может компенсировать второй, если он мутирует.

Недавно экспериментально впервые обнаружено, что в результате мутации одного из генов, кодирующего белок репарации hPMS2, он приобрел доминантно негативную активность, несмотря на наличие в клетках интактного (дикого типа) второго аллеля. В результате нонсенс-мутации в этом гене (т. е. всего лишь точечной замены одного нуклеотида) возрастает нестабильность микросателлитов, т. е. нестабильность генома, тестируемая по данному показателю [99].

Таким образом, проблема надежности комплементации мутации в одном аллеле вторым аллелем обходится многими вариантами реальной жизни. Начавшаяся неустойчивость, затрагивая отдельные аллели, будет выполнять и некую подпороговую функцию. Если бы мутация была сразу яркая, создающая угрозу неконтролируемой пролиферации, включились бы механизмы самоуничтожения. Мутации же, приводящие к относительно небольшим нарушениям, которые могут еще компенсироваться регуляторными механизмами, апоптоза не вызовут. Но с такой же вероятностью и с таким же результатом будут (не по максимуму) нарушаться и гены контрольных цепей самоуничтожения. Порог их включения повысится. Нарушаться будут и гены контроля нестабильности. Там, где нестабильность приведет к сильным нарушениям, апоптоз сработает. Там, где ниже пороговых, — не сработает. Постепенно будет нарастать нестабильность генома, инактивация блоков контроля, усиливаться неконтролируемость и т. д. Наконец, полностью

нарушится прохождение команд на апоптоз от внутренних сигнальных систем.

Так, в подавляющем большинстве раков человека нарушена сигнальная цепь активации апоптоза геном p53 на участке ARF-p53 [100], хотя возможны (в других случаях) и иные блоки. С какого-то момента клетка изменится настолько, что приобретет свойства, выделяющие ее из остальных. С этого момента включаются внеклеточные системы защиты, которые получили в свое время очень эффективное название — «иммунный надзор». Его функциональным предназначением является распознавание и уничтожение вышедших из-под контроля организма клеток. Собственно говоря, это иммунная система с ее способностью идентифицировать несвойственные некоей иммунной норме антигены и направлять на их носителей весь комплекс (по отношению к такой клетке, ставшей мишенью) мощнейшего арсенала уничтожения: выработки антител, задействования системы комплемента, использования лимфоцитов-киллеров, внешних иммуноассоциированных команд на апоптоз и т. д.

Развитость и совершенство иммунного надзора исключительны. И начиная со стадий малигнизации, при которых появляются антигенные отличия выходящих из-под контроля организма клеток, такие клетки опознаются и уничтожаются. Но нестабильность генома оставшихся клеток продолжает приводить к мутации генов, их рекомбинации, элиминации целых локусов хромосом, амплификации других локусов и т. д. И среди разнообразия образующихся клеток после уничтожения иммунным надзором таких, которые проще опознать, остаются все менее и менее им, иммунным надзором, идентифицируемые. Таким отбором организм постепенно формирует клетки, неузнаваемые его внешней (по отношению к таким клеткам) защитной системой. Из них нестабильность веером образует последующие производные, среди которых часть еще слабее будет узнаваться иммунным надзором и т. д. Ибо постепенно остаются не уничтоженными клетки, все менее и менее распознаваемые системой иммунитета. Поэтому появившаяся опухолевая клетка, даже уже способная по своим внутренним свойствам к неограниченной пролиферации, еще далеко не всегда дает опухоль.

Опухоль появляется только тогда, когда появляются клетки, «невидимые» иммунным надзором (или неуязвимые им, например, вследствие отсутствия экспонирования ряда антигенов главного комплекса гистосовместимости). Опухоль принципиально, по сути процесса опухолевой болезни, может возникнуть только в организме и в соответ-

ствии с дефектами, щелями, особенностями его иммунной системы. Организм сам формирует «свою» опухоль персонально для себя. Опухоль появляется и развивается в единой цепи причинно-следственных событий молекулярных, внутриклеточных и организменных (т. е. по отношению к клеткам опухоли, внеклеточных). Неукоснительно и бескомпромиссно организм формирует «свою» опухоль, используя для этого все свои системы защиты, созданные для борьбы со всем для него опасным, в том числе и опухолью. Он бы ее и уничтожил. Но нестабильность формирует все возможные, все запрещенные варианты постепенно, по мере того, как предыдущие уже направлены организмом в сторону слабых мест своих же систем защиты. Нестабильность создает, а организм отбирает и загоняет опухолевые клетки в щели, ниши, недостижимые для этих систем.

Молекулярный уровень такого невероятного поворота событий обеспечивается хаотической и очень мощной изменчивостью, обусловливаемой хаотической нестабильностью. А организменный уровень выступает как фактор селекции против самого себя. Поэтому разрывать опухолевую клетку и организм в процессе опухолевой болезни (на всех ее стадиях) нельзя категорически. Исходя из этого в культуре клеток малигнизация пойти может. Клетки в культуре будут неограниченно репродуцирующимися, не поддающимися сигналам на апоптоз изнутри и т. д. Но опухоли не образуются. Это будут некие абстрактные опухолевые клетки. А в каждом организме, в котором началась и развивается опухолевая болезнь, клетки опухоли будут соответствовать тому (и только тому), что пропускает иммунный надзор, т. е. будут индивидуально соответствовать данному индивидууму в данный момент времени его существования.

В полной мере это не относится лишь к вирусному канцерогенезу, вызываемому постоянно присутствующими в клетках при малигнизации и далее при прогрессии опухоли онкогенными вирусами. Особенно теми, которые интегрированы в геном и наследуются. При своей активации они сразу реализуют комплекс свойств — и блокирование апоптоза, и активацию онкогена, и геномную нестабильность. Какую-то часть таких клеток иммунный надзор тоже убирает. Но против возникшего сразу и одновременно во многих клетках комплекса онкогенных функций, массовости малигнизации, он много не даст. Но это крайнее проявление. В основной же массе опухоль состоит только в случае постепенного прохождения через все защитные барьеры организма — и внутриклеточные, и внеклеточные (по отношению к данной клетке).

Зато уж если все пройдено и опухоль состоялась (пусть даже на уровне первой, но уже неуязвимой клетки), то начинается ее рост — мультипликация злокачественных клеток.

На первых этапах чаще всего (хотя и не абсолютно всегда) рост идет медленно, так как нестабильность генома еще относительно невелика. Ей еще предстоит задействовать в нужном сочетании и наборе дополнительный онкогенный потенциал. По мере его задействования увеличивается и сам объем опухоли и ее распространение — метастазы. Опухолевая болезнь развивается. Что происходит при этом с опухолевыми клетками и организмом?

Саморазгон нестабильности генома имеет свои пределы. Пределы не потенциальные (здесь они не ограничены), а реальные. Связаны они с тем, что хаотическая нестабильность с какой-то вероятностью будет приводить к повреждению или вообще к полной элиминации генов домашнего хозяйства. Поскольку же второй аллель далеко не всегда может быть полноценным (это анализировалось выше) или вообще функционально активным (что имеет место и при слабых мутациях, и при различных вариантах импринтинга), то следствием реализации таких частных случаев нестабильности станет гибель клетки (даже при полностью выключенном апоптозе), в которой подобное нарушение произошло. Чем выше уровень нестабильности, тем чаще будут иметь место нарушения с неизбежной летальностью.

При каком-то уровне нестабильности (как правило, за пределами) существование популяции клеток станет просто невозможным — их летальность будет приближаться к 100 %. Поэтому клоны с нестабильностью, приводящей к слишком большой летальности их потомков, хотя и будут возникать постоянно, но будут также элиминированы. Летальность клеток от нарушений необходимых для их (клеток) существования генов и будет отбором на ограничение нестабильности. Какой конкретно процент клеток, отмирающих от таких повреждений, еще допустим как цена прогрессии опухоли за общую нестабильность, неизвестно. Но то, что при каком-то уровне нестабильности из клеток будут исчезать жизненно необходимые фрагменты генома с такой интенсивностью, которая приведет к снижению пролиферации, можно предвидеть исходя из сути явления саморазгона. И то, что в опухолевых клетках часть клеток гибнет и гибнет не по пути апоптоза, а по пути некроза, факт хорошо известный. Их некроз может быть вызван и иными причинами, например, ухудшением кровоснабжения центральных областей опухоли.

Скорее всего, для разных клеток гибель вызывается разными факторами. Но как бы то ни было, некроз идет и в какой-то мере его интенсивность пропорциональна общей опухолевой массе. При этом клеточное содержимое погибших клеток во все большем масштабе выступает как фактор возрастающего давления на иммунную систему в виде антигенов, в норме недоступных для выработки на них антител (поскольку в норме они — внутриклеточные). Такое изобилие антигенов (все белки всех погибших опухолевых клеток) да еще во все возрастающем количестве по мере развития опухолевой болезни неизбежно будет приводить ко всему теоретически возможному комплексу нарушений иммунитета. С одной стороны, массы внутриклеточных антигенов должны приводить к возрастающему образованию аутоантител. С другой стороны, истощение иммунной системы от такой массы антигенов может привести к неузнаванию остающихся живыми, но несколько отличающихся антигенно, опухолевых клеток, которые могут появляться как следствие нестабильности генома и теперь уже пропускаться разрушенным иммунным надзором.

Дополнительным следствием летальных событий геномной нестабильности будет хаотическое включение в таких обреченных в результате чрезмерной геномной нестабильности клетках метаболических цепей, не функционирующих в их нормальных исходных прародителях. Нарушение метаболизма происходит также в неотмирающих опухолевых клетках за счет элиминации фрагментов одних хромосом, амплификации обширных участков других хромосом и т. д. [101]. Очень существенного влияния на все проявления опухолевой болезни можно ожидать от гибели опухолевых клеток, которая за счет геномной нестабильности идет при выключенном апоптозе. В таких случаях клетки гибнут по пути некроза. Но апоптоз — естественно запрограммированная и потому максимально безопасная для организма элиминация клеток.

При апоптозе ферментативное разрушение содержимого тоже, насколько это возможно, запрограммировано на безопасные для организма последствия. Более того, организм готов к ним (апоптоз идет, начиная с раннего эмбриогенеза и в течение не менее одного миллиарда лет эволюции многоклеточных эукариотов). При некрозе же разрушение клеток непрограммируемо. Ферментативное разрушение внутриклеточных белков может приводить к появлению вообще новых антигенных детерминант. В случае некроза протеолитический хаос приводит к появлению вообще несвойственных клетке и организму продуктов. При апоптозе как

естественно запрограммированной системе самоуничтожения и распад происходит запрограммированно, максимально безопасно в своих последствиях для организма.

В случае же некроза такой упорядоченности нет, в нем ферментативный хаос неизбежен в полном объеме. Опухолевая болезнь развивается. Наступает все большая и большая нагрузка, затем перегрузка и, наконец, отравление организма продуктами распада. Это ведет к дальнейшему разрушению систем защиты. И все же защитные системы организма продолжают свое противодействие. Иногда (к сожалению, исключительно редко) происходит нечто, активирующее эти системы настолько, что они уничтожают опухолевые клетки. В этой связи полезно проанализировать, хотя бы на уровне общих соображений, что может приводить к такому самоизлечиванию.

Внутриклеточные контрольные механизмы были выключены еще в момент становления опухоли (иначе, по логике событий, она не могла бы и возникнуть). Иммунный надзор также был преодолен, а сам иммунитет в последующем, при развитии опухолевой болезни, подавлен и искажен массой внутриклеточных антигенов и продуктами некроза. Что же могло остаться?

Наименее поврежденным, потенциально способным к активации, остается внеклеточный надзор за самоуничтожением клеток. В той части, которая касается чисто иммунных реакций (система комплемента, приводимая в действие системой целеуказания; естественные киллеры, цитотоксические Т-лимфоциты и т. д.), т. е. системы активного уничтожения клеток извне, последствия опухолевого распада должны обеспечить живым опухолевым клеткам неуязвимость путем подавления этих систем. Но контроль за самоуничтожением только частично обусловлен иммунной системой (например, его включением фактором некроза опухоли, выделяемым клетками иммунной системы). В какой-то другой своей части даже классический апоптоз, в большем числе случаев как обязательный элемент нормального развития и существования организма, включается иными, не связанными с иммунитетом эффекторами! Они могут функционировать и тогда, когда иммунная система уже не справляется. Но даже исходя из общих соображений трудно представить, чтобы самоуничтожение клеток сводилось только к одному апоптозу. Уж очень это важный во всех отношениях процесс. И действительно, постепенно появляются данные о других, отличных от апоптоза, процессах гибели клеток, включаемых (или вызываемых) точечным воздействием эффекторов извне [102]. Поэтому

внешняя система надзора за самоуничтожением клеток должна быть выделена в самостоятельную. Она качественно отличается и от системы внешнего, активного уничтожения (т. е. того, что обеспечивает иммунная система), и от внутриклеточной системы, запускающей (полностью автономно, внутриклеточно) свое собственное самоуничтожение.

В перспективе разработка внешней системы самоуничтожения может дать очень существенные результаты. Это дело будущего. Но обычно, к сожалению, «сама по себе» опухоль не исчезнет. Поскольку же человек — существо социальное, то при обнаружении опухолевой болезни в борьбу с ней включается третий уровень защиты — внеорганизменный. Им является медицина. За последние сто лет в медицине произошло столько революционных и эволюционных событий, в том числе и в области лечения опухолей, что реальным становится не только лечение (т. е. процесс), но и излечение (т. е. радикальный результат).

Пока он имеет место, мягко говоря, далеко не всегда. Само же лечение (за неимением ничего лучшего!) с точки зрения первопричин опухолей, т. е. нестабильности генома, выглядит просто парадоксально — практически все массовые средства лечения опухолей увеличивают нестабильность генома и подавляют защитные механизмы организма. Они направлены на уничтожение интенсивно делящихся клеток путем массовых повреждений в них ДНК. Прямо — облучение, ДНК-тропные препараты. Косвенно — через блокирование ферментов нуклеинового обмена. Поскольку же и ДНК, и ферменты ее обмена присутствуют во всех клетках, то такие препараты действуют по принципу «больше—меньше». Они в большей степени поражают опухолевые клетки (как пролиферативно и метаболически более активные), но повреждают и нормальные, хотя и в значительно меньшей степени.

И здесь возникает удивительное отношение к стратегии поиска противоопухолевых препаратов. Все они (включая облучение, которое, являясь средством лечения, к препаратам не относится) призваны убить или хотя бы подавить, затормозить и т. д. пролиферацию опухолевых клеток. Поскольку при этом страдают все делящиеся клетки, в том числе и нормальные, то такие препараты даже имеют некое общее название «цитостатики».

Таким образом, целью для опознания и уничтожения считаются быстро растущие клетки, среди которых почему-то (это корректно никому пока объяснить не удалось) наиболее чувствительными оказываются именно опухолевые клетки. В действительности же по механизму своего действия ми-

пению всех этих терапевтических средств является геном как таковой. И облучение и препараты прямого ДНК-тропного действия, а также препараты опосредованного действия направлены на повреждение ДНК. Они ее и повреждают. У всех клеток. Но действуют на опухоли преимущественно потому, что в них уже преобладают массовые нарушения генома — геномная нестабильность. И преобладает на очень высоком уровне. Добавляемые лекарственными препаратами повреждения ДНК в опухолевых клетках выводят их за рамки возможностей репарации своего генома даже с ошибками, но еще сохраняющей клетке жизнеспособность. И опухолевые клетки погибают. А неопухолевые, у которых исходно имелась стабильность генома, хотя и поражаются тоже, но репарируют эти нарушения. При всех таких воздействиях очень часто возникают устойчивые к лечению клоны опухолевых клеток. Собственно говоря, так и должно быть.

Чтобы заблокировать действие лекарственных препаратов достаточно либо изменить проницаемость (и они не попадут в клетки), либо усилить антиоксидантную защиту, убирающую в препаратах алкилирующие или иные реакционные группы. При высокой нестабильности (которую еще и повышают лечением) это будет происходить с достаточно высокой вероятностью, так как нестабильность и убирает гены, и усиливает их активность, и изменяет специфичность ее продуктов с предельной частотой. А затем клоновая селекция приведет к возникновению устойчивой опухоли из таких изменившихся клеток.

Для нормальных же клеток такие события маловероятны. А возможности клоновой селекции для них очень ограничены. Поэтому они продолжают оставаться чувствительными.

Таким образом, при имеющей место стратегии мишенями являются геномы как таковые, а направленность нанесения удара по мишеням во всех случаях одинаковая — привнесение в них нарушений, которые в опухолях значительно выше, чем в неопухолевых клетках. Избирательность же действия определяется уже преобладающим в клетках уровнем нарушений.

Повреждения ДНК при естественно идущих процессах в клетке имеют своей предельной, терминальной стадией ее полное разрушение (что в норме происходит при апоптозе). Поэтому повреждающие ДНК терапевтические препараты и призваны разрушить ее. В опухолевых клетках (к сожалению, обычно далеко не во всех) так оно и происходит. Как следствие, опухолевая клетка гибнет. Гибнет и какое-то количество нормальных,

санкционированно пролиферирующих, что предписано им потребностями организма, клеток. Но во многих клетках этот процесс не доходит до терминальной стадии. Он останавливается на стадии промежуточной — разной степени интенсивности повреждений генома, на которых процесс повреждений останавливается и по мере сил и возможностей затем репарируется. Пока повреждения не зарепарированы функциональная активность клетки подавлена. Сами же нарушения репарируются далеко не к норме, а лишь «по мере сил и возможностей» репарационной системы каждой данной клетки.

В результате, кроме повреждений ДНК, т. е. индукции нестабильности генома (в какой-то мере практически во всех клетках), они вызывают еще и иммуносупрессию [103]. Теоретически, как указывалось выше, повышение нестабильности генома должно вызывать малигнизацию, а подавление иммунного ответа — способствовать успешному завершению превращения ее в опухоль. Все это и происходит у опухолевых больных, у которых и так геномная нестабильность имеется и прогрессирует, да еще дополнительно усиливается. И это по фону нарушенной опухолевой болезнью иммунитета. Что же у них дополнительно при таком лечении может быть?

В идеале (который, как это ни удивительно, часто даже реализуется практически!) опухоль все же исчезает (ниже будет проанализировано, когда и почему такое следует ожидать). Но далеко не всегда. Зато такие химиопрепараты (и прямо действующие на ДНК, и опосредованно — через блокирование ферментов нуклеинового обмена) реально, как это уже широко освещается в литературе, могут вызывать вторичные опухоли: раки, лейкозы и т. п. [104, 105]. Вот такое оно, лечение.

Почему же такие препараты, такое лечение одним помогает, а у других к их раннее (до лечения) возникшей опухоли добавляет появление еще и новых? И вообще, почему все же мы имеем именно такую, как она есть, картину распространения опухолей, течение опухолевой болезни, у каждого индивидуальную, ее распределение по регионам, странам, возрастам?

ЧТО НАША ЖИЗНЬ? ... Это зависит от того, с каких позиций ее рассматривать. Ограничим задачу. Посмотрим на нее с точки зрения нашего генома. Внутренним, неотъемлемым ни от структуры, ни от функции свойством генома как следствие выполнения им своих задач и, кроме того, условием возникновения, развития и существования в каждый период времени, каждого таксона, каждого индивидуума является свойство накапливать изме-

нения. В геологическом масштабе времени — это эволюция. В масштабах индивидуума — онтогенез: от первой клетки (зиготы) до последнего вздоха того многоклеточного образования, которым является человек. Накопление изменений в геноме, кроме обеспечения существования жизни на Земле и ее эволюции, является одновременно и первопричиной нарушения функций у всех конкретных представителей этой жизни.

В зародышевом ряду клеток борьба с такими нарушающими функции изменениями осуществляется двумя органически взаимодействующим способами. Первый обеспечивает «перетасовку» генетического материала между хромосомами. Второй реализует результаты такой «перетасовки» в виде обеспечения элиминации всех тех сочетаний, в которых нарушения опознаются. В организме элиминация носит уже иной характер. Она направлена на устранение только наиболее поврежденных геномов вместе с содержащими их клетками. А для борьбы с проявлением мутаций существует аллельная комплементация (мутации сразу в обоих аллелях слишком уж маловероятны). Но накопление мутаций, несмотря на такую защиту от них, все равно продолжается.

С возрастом увеличивается повреждение всех (по крайней мере, всех исследованных) генов [106], утрачиваются целые хромосомы [107] и т. д. Естественно, не во всех клетках повреждены все гены и элиминированы хромосомы. Процесс этот вероятностный — в одной клетке поврежден один ген, в другой — другой. Постепенно процесс нарастает. При накоплении повреждений в виде случайных событий, кроме неидентичных, мутируют и идентичные гены во все большем количестве клеток и с все большим перекрытием. И если система элиминации клеток не повреждена и работает безотказно, то идет обычное старение — накопление нарушений в геномах клеток (с увяданием их функциональной активности и снижением функциональной активности кодируемых ими продуктов).

Даже медленно идущее накопление повреждений — это небольшое, но все равно происходящее нарастание нестабильности. Пока система репарации их еще контролирует (т. е. восстанавливает с минимальными ошибками), а система самоуничтожения убирает все, что вышло из-под контроля, нарастающая нестабильность опасна, в основном, потенциально. Потенциально потому, что когда сама нестабильность под влиянием каких-либо внешних или внутренних факторов усиливается, превышает возможности репарации и начинается ее саморазгон, клетка с такими изменениями уни-

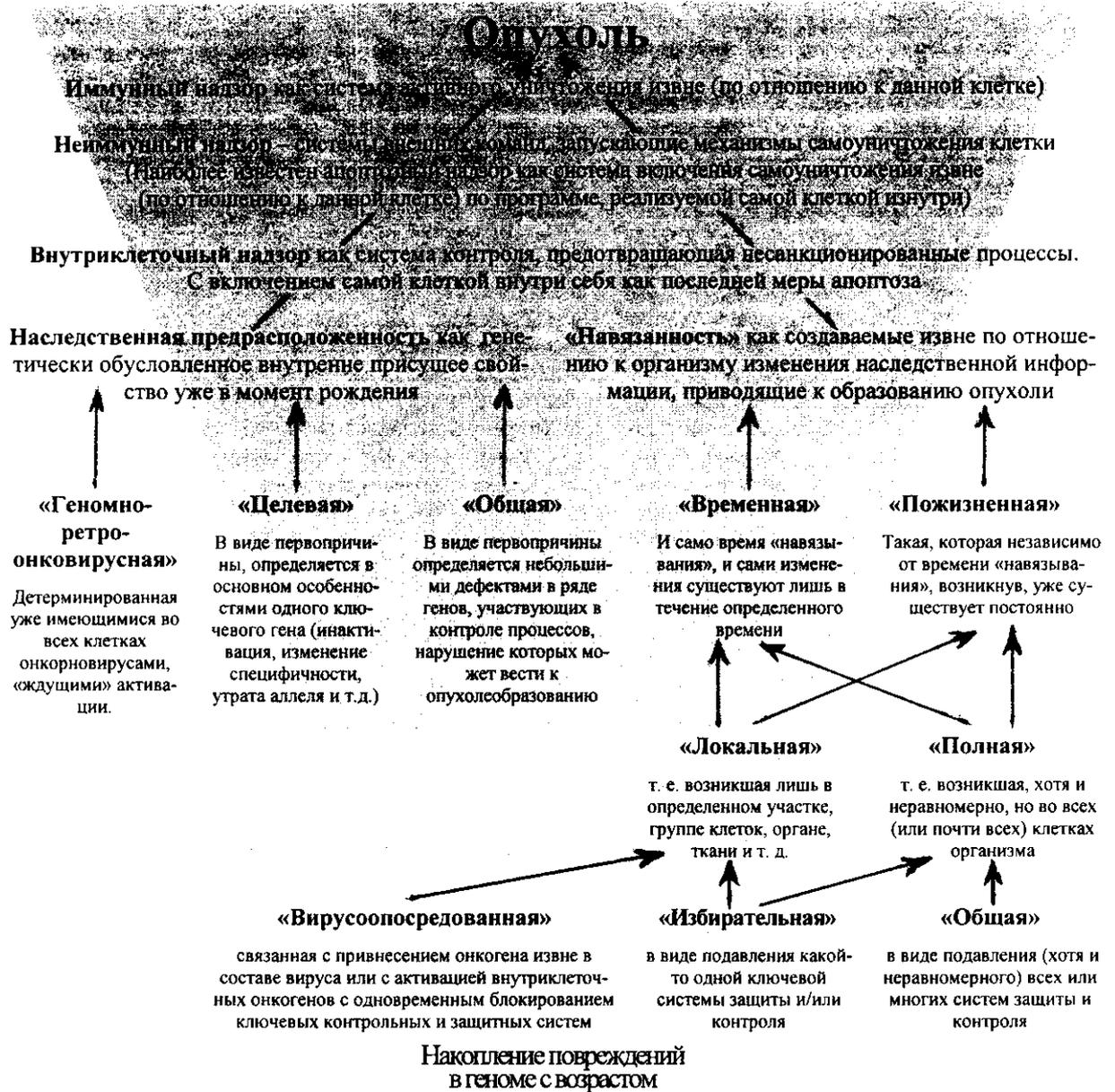
руется системой самоуничтожения. Но если отказывает система самоуничтожения, потенциальная опасность нестабильности реализуется и начинается малигнизация. Вот почему с возрастом при очевидном и весьма значительном падении митотической активности в норме круто нарастает риск появления опухолей.

Этот откровенный парадокс (способность клеток к делению падает, а вероятность опухолеобразования, одним из основных отличительных признаков которого как раз и является ускоренный рост клеток, увеличивается) решается тем, что одновременно нарастает нестабильность геномов всех клеток. Таким образом, возраст потенцирует малигнизацию. До того, как это стало известно, у онкологов появился мрачный афоризм — «все люди болеют раком, только не все до него доживают». Опять же, с позиций молекулярной генетики, при достаточном долголетии до опухолей все равно не доживают те, у кого нет заметных нарушений в генах, связанных прямо или опосредованно с процессами пролиферации, и в генах контрольных механизмов. У них опасности от накопления повреждений остаются потенциальными, а переход в реальную нестабильность убирается системами уничтожения (внутренне включаемым апоптозом, апоптозным или иммунным надзорами). Тогда накопление нарушений в геномах клеток хотя и идет, но ведет к здоровой старости, которая кончается полным одряхлением и финалом от нарушения какой-то функции. Той функции, контролирующей которую гены наследственно экспрессировали или чуть слабее, чем надо бы, или кодировали белки, функции которых были чуть меньшей активности, чем надо бы (или, наоборот, большей, чем надо).

У остальных же людей ситуация иная. Для них вероятность дожить до опухоли, к сожалению, имеет реальные перспективы. Для кого меньшие, а для кого и большие. Вероятность только в пределе совпадает с предопределенностью. Во всех же остальных ситуациях она остается вероятностью, которая для одних реализуется, а для других нет. Зависит это от большого количества внешних и еще большего количества внутренних факторов, которые в реальной жизни часто потенцируют один другого. Их возможные варианты в самом общем виде представлены на схеме.

Начнем ее рассмотрение «с начала», т. е. с наследственной предрасположенности. Наиболее изученным в плане всей цепочки причинно-следственных связей является опухолеобразование, в основе которого лежат наследственно передающиеся онкогенные ретровирусы. Присутствуют они у такого организма во всех его клетках. Их индукция

Финиш жизни



Общие свойства:

- 1) во всех случаях возникает и начинает развиваться нестабильность генома;
- 2) за исключением крайних проявлений, наследственная предрасположенность как внутреннее свойство и «навязанность» как внешние воздействия взаимно потенцируются;
- 3) возраст потенцирует действие всех факторов (как внутренних, так и внешних) в первом приближении пропорционально возрасту.

Старт жизни

Возраст как накопительно-результатирующая всех нарушений генома, сопровождающаяся одновременным падением эффективности всех систем контроля

происходит естественным путем на определенном этапе развития. С очень высокой вероятностью «сама по себе» (онтогенез подошел к их активации) или вследствие очень высокой восприимчивости к каким-то физиологическим состояниям, даже слабым флуктуациям внешних условий, стрессам и т. д. После активации начинают функционировать вирусные гены, продукты которых подавляют апоптоз, индуцируют пролиферацию и обеспечивают ее реализацию.

Возможны и варианты. Например, малигнизация начинается после интеграции в регуляторную область онкогена. Такая целенаправленная малигнизация, включающаяся изнутри, на уже собранной воедино группе генов, а далее сразу осуществляющих и стимулирующих пролиферацию и блокирующих контрольные и защитные механизмы клетки, настолько эффективна, что организм обычно оказывается бессильным. Какие-то малигнизирющиеся клетки он убирает. К сожалению, только «какие-то». Остальные реализуются в опухоли. Но здесь имеет место своеобразная ситуация.

Согласно одному из постулатов онкологии, злокачественная опухоль растет «сама из себя». В данном же варианте она вообще образуется из генома собственных клеток (до того нормальных!). Это происходит за счет готового, содержащегося в них от рождения и начавшего функционировать минимально достаточного онкогенного набора внутренне присутствующих когда-то уже собранных вместе и синхронно, одновременно начавших функционировать генов, сразу обеспечивающих злокачественность. В основном, такая ситуация реализуется в каких-то определенных тканях определенных органов (скорее всего, вследствие того, что там наиболее четко срабатывает сигнал активации). Такое имеет место, например, при наследственном раке молочной железы мышей. Очень похоже, что так же обстоит дело и у людей в семьях с наследственным раком молочной железы. Но наследственное предрасположение не ограничивается только ретровирусной этиологией. Уже хорошо известны наследственные дефекты ключевых онкогенов или антионкогенов. Обычно они сводятся к утрате или инактивации одного аллеля. И тогда мутации по второму запускают малигнизацию. Но это относится в первую очередь к таким онкогенам и антионкогенам, которые, начав неконтролируемо функционировать (онкогены) или утратив активность (антионкогены), приводят в действие не один, а комплекс процессов, относящихся и к повышению нестабильности генома, и к блокированию (хотя бы ограниченному) апоптоза, и к стимуляции пролиферации. Яркий пример тому — p53.

К четкой предрасположенности приведет также утрата одного из аллелей гена репарации. Тогда мутация по второму (даже просто слегка снижающая его активность) положит начало геномной нестабильности. А поскольку наследственные дефекты имеются во всех клетках такого организма, то нестабильность будет возникать весьма часто, в разной степени и во многих клетках. Но классические представления о рецессивности и доминантности уже утратили свои четкие очертания, сохранив полным первоначальный смысл лишь как предельный вариант. Так, в случае того же p53 утрата обоих аллелей не является обязательной предпосылкой образования опухоли.

Как показано экспериментально, даже сохранение одного полноценного аллеля не обеспечивает необходимого для клеточного самоконтроля уровня белка p53 [108]. Могут также возникать ситуации (по-видимому, наиболее частые), когда наследственно имеются многочисленные, но слабые мутации в разных генах. В этом случае предрасположенность будет тоже не столь явно выражена. Наконец, могут быть наследственные дефекты и опосредованно вовлеченных в канцерогенез генов антиоксидантной защиты, иммунной системы, убивающих дефектные белки протеаз и т. д. Принципиальной особенностью наследственной предрасположенности независимо от ее конкретики является то, что нарушения, способные дать начало канцерогенезу, имеются уже в момент рождения и во всех клетках. И это по фону многих слабых мутаций в других генах. Последние своим набором, качеством и степенью отклонения от оптимума будут, скорее всего, тем дополнительным, пока не идентифицируемым (и потому не видимым) фактором, который предопределит главное — реализуется ли предрасположенность или до нее дело так и не дойдет.

В отличие от наследственной предрасположенности возможна также предрасположенность, «навязанная» (наведенная, индуцированная и т. д.) извне. Такая «навязанность» может быть постоянной, т. е. в течение всей жизни, или с какого-то момента ее возникновения. Например, постоянное от рождения проживание в зоне высокой радиоактивности, вблизи «грязного» химического завода и т. д. Или временной — в течение только определенного периода (сильный стресс, временное пребывание в зоне высокой радиоактивности, временная работа на «грязном» химкомбинате т. д.).

В свою очередь, «навязанная» предрасположенность может быть общей (облучение всего организма, питание продуктами, загрязненными пестицидами) или локальной, затрагивающей только от-

дельные клетки, ткани или органы (действие сажи на кожу трубочистов, низкокачественная косметика, содержащая раздражающие вещества и т. д.). «Навязанная» предрасположенность может быть «нецелевой», т. е. действующей на самые разнообразные функции организма (подавление иммунной системы, индукция геномной нестабильности, блокирование чувствительности к сигналам на апоптоз). А может быть и «целевой», например, ДНК-тропные агенты, опухолеассоциированные вирусы, инфицирование ретровирусами. Во всех этих случаях будут иметь место повреждения геномов, геномная нестабильность и дальнейшие последствия, связанные как с особенностями навязывания, так и состоянием защитных и контролируемых систем организма. И ход опухолевой болезни, и исход лечения будут зависеть от всех этих особенностей. Собственно, и само лечение надо бы проводить исходя из причин, по которым опухоль возникла. Только до этого медицина пока не дошла.

Конечно, это все не более чем общая схема. Ее можно (и нужно) дополнять. Жизнь намного более разнообразна, изобретательна и изощрена. Но принципиально эта схема наглядно иллюстрирует, что есть наша жизнь на молекулярно-генетическом уровне и какое место в ней занимают опухоли.

По обобщенной формулировке, наша жизнь на молекулярно-генетическом уровне — это нарастающее от рождения (и даже ранее — с начала эмбриогенеза, а в случае наследственных болезней еще ранее — в ряду того, что называют зародышевой линией) накопление повреждений геномов всех клеток во всей их геномной совокупности. Ибо организм как многоклеточное образование является одновременно многогеномным образованием (сумма всех геномов всех клеток). Фенотипическим проявлением накопления повреждений совокупного генома организма является, с одной стороны, своеобразие, индивидуальные особенности всех видов отклонений от некоей нормы, а с другой, — единая направленность этих изменений все дальше и дальше от идеального здоровья. Живем, как в песне, — «Дорога в жизни одна, ведет нас ...» не туда, куда бы мы хотели «...она». И хотя ведет эта дорога каждого к одной и той же финальной точке, но своими окольными путями. Магистральное направление жизни любого индивидуума, обусловленное накоплением повреждений совокупного генома, — это старение, которое в идеале, на языке геронтологов носит изысканное название — «здоровая старость». В переводе на общедоступный язык, она, эта «здоровая старость», является медленно, равномерно для всех тканей и органов идущим одряхлением.

Старение — это самая универсальная (и первая по массовости) форма нарушения генома. Со своим фенотипическим проявлением, всем тем комплексом изменений, который и называют «старение». Но до «здоровой старости» доживают далеко не все. Финал часто наступает в детском или юношеском возрасте при многих классических наследственных болезнях. Наследственная болезнь как состояние организма и есть фенотипическое проявление наследственного дефекта (вторая форма нарушения генома). Это та классика, с которой начали анализировать влияние нарушений в геноме на внешние признаки у человека. Такое имеет место при уже доставшейся зиготе мутации, инактивирующей оба аллеля (рецессивные мутации в гомозиготном состоянии), или мутации, нарушающей функцию одного аллеля при втором нормальном (доминантная мутация), или инактивации мутацией одного аллеля и удержании (на ставшей после этого очень тонкой ниточке жизни) в пределах нормы данной функции второго аллеля, пока он не мутировал уже в себе, и т. д.

Кроме мутаций с ярким проявлением, дающим начало классическим наследственным болезням, имеются мутации в значительно меньшей мере нарушающих функцию. Им соответствуют стертые формы наследственных патологий и самые различные варианты предрасположенности к «обычным» болезням. Все эти наследственно достаемые каждому человеку от его родителей «свои» нарушения в геноме (как в «значущих», так и в «незначущих» его областях) одинаковы в момент рождения во всех клетках. Далее к ним добавляются нарушения, накапливаемые с возрастом.

Наконец, третьей формой нарушений генома является возникновение нестабильности, ведущее к опухоли. И опухоль — это тоже фенотипическое проявление частного случая нарушений генома в виде особой формы его нарушений — нестабильности. То есть таких нарушений, количественные и качественные показатели которых нарастают со временем не монотонно, а идут с самонарастанием, самоускорением. Чтобы самоускорение нестабильности состоялось, должны быть произведены дополнительные изменения или в самом геноме за счет каких-то внутренних процессов, или за счет привнесения извне дополнительной информации онкогенными вирусами. В общей форме суть этих изменений в ослаблении контрольных механизмов. А центральным пунктом будет ослабление контроля самоуничтожения. Неконтролируемая же пролиферация (именно то, что отличает опухоли от других патологий) является уже одним из фенотипических проявлений возникшей нестабильности генома и

средством его дальнейшего развития за счет мультипликации всех жизнеспособных нестабильных геномов. Все варианты нарушений генома взаимосвязаны.

Наследственные болезни почти всегда в той или иной форме ведут к нестабильности генома и повышают вероятность опухолеобразования. Другое дело, что при наследственных болезнях (особенно классических, т. е. с ярким проявлением) до опухоли часто просто не доживают вследствие сильных нарушений в организме от основной патологии. Но нестабильность генома при этом (даже если она не прямая, а опосредованная) все равно имеется.

Вот несколько примеров таких причинно-следственных цепочек. При одной из классических наследственных болезней атаксии — телеангиэктазии — дефектный белок, обуславливающий основную патологию, при определенных внешних воздействиях активируется и изменяет фосфорилирование белка p53. В нем (т. е. p53) дефосфорилируется Ser376 и одновременно фосфорилируются Ser15 и Ser37. Это приводит к более высокому сродству измененного p53 к ДНК, что в свою очередь вызывает более сильную активацию генов-мишеней и повышает вероятность развития рака [109].

Мутации в гене, ответственном за анемию Фанкони, приводят к нарушению точности лигирования тупых концов при двухцепочечных разрывах ДНК, что и является одним из вариантов нестабильности [110]. При синдроме Вернера мутация вызывает снижение активности одной из хеликаз. Это приводит к нестабильности генома, проявляющейся фенотипически в преждевременном начале ряда «возрастных» болезней, одной из которых являются опухоли [111—113]. Вот такая наша жизнь на геномном уровне при любых вариантах: при идеальной наследственности или наследственных болезнях; при идеальной экологии или ее «грязной» реальности; при неукоснительной строгости бытия или абсолютной бесшабашности — накопление нарушений в геномах всех клеток организма неотвратимо. Только скорость такого накопления и его характер будут очень разными, с не менее разным фенотипическим проявлением. Дорога-то в жизни одна, только длина ее для всех разная, да и рельеф очень даже не для всех одинаков. Насчет длины дороги все понятно. В общем, конечно. А вот рельеф дороги — это фенотипические проявления нарушений генома; накопление нарушений — фенотип старения; крупные нарушения «от рождения» — наследственные болезни; разные, нерадикально меняющиеся свойства

продуктов, нарушения в разных генах — болезненность, которую никто толком понять не может (от чего человеку не легче); нарушения, следствием которых является появление (с последующим нарастанием) нестабильности — предраковое состояние, появление опухоли, опухолевая болезнь. Так и живем (пока живем).

ЧТО ДЕЛАТЬ? Традиционно следовало бы, конечно, сначала задать вопрос «кто виноват?». Но ответ на него исчерпывающе прост — *C'est la Vie*. Делать же виновной саму жизнь очень чревато. А вот, что делать при том, что жизнь действительно такова и никуда от нее просто так (и не просто так тоже) не денешься, знать очень бы даже не мешало. Но все же для начала следует оценить, какая же она в плане воздействия на наши геномы эта *C'est la Vie*. Даже общего взгляда достаточно, чтобы понять, насколько она непроста уже сегодня и как будет усложняться со временем.

Самым тревожным и пока лежащим за пределами возможностей влияния является число новых мутаций, возникающих в человеческой популяции в целом в каждом поколении. Оценивая их за длительный период времени, т. е. до техногенной эры, а стало быть в самый чистый период существования человечества, нашли, что число значащих мутаций, т. е. с заменами аминокислот в кодирующей области генома человека, достигает 4,2 на поколение. Из них как минимум 38 % (1,6 значащих мутаций на поколение) являются вредными и постоянно элиминировались отбором (когда таковой был). Такая частота вредных мутаций близка к верхнему возможному пределу частоты вредных мутаций для видов с низкой репродуктивной активностью, к которым относится человек [114]. С такой цифрой можно и не соглашаться, что иногда и делают. Только поправки при несогласии идут не в сторону снижения, а в сторону увеличения примерно вдвое [115]. Когда отбор работал, такие мутации из популяции элиминировались (по жесткому принципу отбора вместе с их носителями).

Примерно со второй четверти 20-го века отбор в человеческой популяции, если и не прекратился полностью, то, по крайней мере, перестал быть эффективным. Социально — это величайшее достижение человеческой цивилизации. Но биологическая основа ее от этого не стала иной. Как было проанализировано выше, очень многие гены (скорее всего, большинство их) при наличии в них дефектов с какой-то эффективностью влияют прямо, опосредованно, косвенно и т. д., но обязательно влияют на рост нарушений в геноме и, таким образом, накапливаясь, могут потенцировать канцерогенез. Поэтому можно с уверенностью прогно-

зирать рост числа опухолей, особенно в развитых странах, в которых вследствие отрицательного, нулевого или близкого к нему прироста населения, а также высокого уровня медицины и социальных условий, накопление мутаций в геномах населения будет особенно высоким.

Но, отдадим должное, и сами люди способствуют росту опухолей в меру своих сил и возможностей. Стремительно растут нарушения иммунной системы (вместе со всем его надзором). Сейчас уже распространение получает так называемая множественная чувствительность. Она заключается в возникновении гиперчувствительности не только к классу веществ, но даже к одному единственному агенту с созданием неспецифической гиперчувствительности, симптомы которой теперь уже сохраняются и после удаления инициировавшего заболевание соединения. Это значит, что в отличие от обычной аллергии после первого контакта (какой-то продолжительности) дальнейшие повторения встречи с аллергеном уже не нужны — болезненное состояние сохранится все время. К таким инициирующим агентам относится почти все наше достояние цивилизации: косметика, детергенты, пестициды и т. д. А возникший (и самоподдерживающийся теперь) каскад патологических процессов приводит к разрушению иммунной системы, почек, нервной системы и пр. [116]. Патологий и причин, их вызывающих, становится все больше и больше. Давление на геномы они также оказывают все сильнее и сильнее.

Так что же все-таки делать да еще с учетом огнюдь не радужных перспектив? Первое — это увидеть то, что есть на самом деле. А есть многогранный процесс, который каждый специалист видит с грани своей профессии и только. Кстати, автор отдает себе отчет в том, что он тоже не исключение. Его задача — попытаться оценить многогранную проблему опухолеобразования с грани молекулярной генетики. И да положат свои исследования на все остальные грани специалисты других областей. Вот и получим общую картину. Поскольку же вопрос «что делать?» остается, то отвечать (тоже с грани своих познаний) все равно необходимо. Сначала соберем ответы, которые уже даны, очевидны и содержат рекомендации, но которые, пока не услышат звона колокола по самому себе, почему-то не соблюдают. У геронтологов есть кредо силы абсолютной истины: «лучший способ продлить жизнь — это не укорачивать ее». То же самое следует начертать в плане онкологии: «лучший способ отодвинуть (в идеале за горизонт жизни) «свою» опухоль — это не приближать ее время». Для этого надо всего лишь дополнительно не

ухудшать свой статус более, чем это и так делается. И резервов здесь на удивление много. Самый распространенный сегодня способ приближения сроков «своей» опухоли — это курение.

О вреде курения столько написано, что повторяться просто бессмысленно. И если посчитать количество ежегодно умирающих от последствий курения (среди которых опухоли на почетном месте), да еще добавить сюда ставших от него инвалидами, то можно уверенно утверждать, что человечество находится в состоянии непрерывной, не прекращающейся, не знающей перемирий мировой войны. И война эта идет на территории всех стран. И участвуют в ней все народы. Добровольцы непрерывно рекрутируются и уходят на фронт. Новое здесь, пожалуй, то, что от последствий курения гибнут и не курящие (на войне, ведь, гибнут не только солдаты). Вот только один пример.

У детей, рожденных от некурящих(!) матерей, которые подвергались воздействию сигаретного дыма в период беременности, выявлен значительно (!) более высокий уровень мутаций в одном из ассоциированном с раком гене — гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазе (другие гены в данной работе не анализировались), чем у детей, рожденных от некурящих матерей, не подвергавшихся воздействию сигаретного дыма [117]. А среди новорожденных от курящих матерей, да еще и в период беременности, повышается частота развития лейкозов и лимфом. Так и живем — «на войне, как на войне».

В условиях стрессов может снижаться точность репликации ДНК. Стрессы — это не только «порча нервов», но и дорога к опухолям. Можете — избегайте их, «держите нервы в руках». Преобладающий катехин чая — эпигаллокатехин-галлат обладает выраженной антиканцерогенной активностью, что показано и *in vitro*, и *in vivo* [118]. Пейте чай (но только свежесваренный!), а не напитки с консервантами. Таких простых, повседневных и общедоступных способов отдалить (или вообще убрать за горизонт) «свою» опухоль довольно много. И зависят они практически всегда только от желания каждого конкретного человека.

Следующий профилактический эшелон должен уже организовываться специально. Он связан с тем, что является обязательными для нормальной жизни компонентами питания, но не всегда в нем присутствуют в необходимом количестве в жизни реальной. Таких компонентов несколько. Они снижают уровень процессов, ведущих к нарушению нестабильности геномов клеток. Уровень же этот в реальной жизни слишком часто превышает все допустимое. Это наиболее наглядно видно при ана-

лизе нарушений, вызванных известными причинами (так как их можно проанализировать). Так, обследование образцов крови большой группы чернобыльских ликвидаторов, взятой более чем через десять лет после оказанного на них воздействия, выявил удивительно яркую картину, которая, в общем-то, была известна и раньше и которую почему-то никто не анализирует в ее внутренней взаимосвязи событий и процессов. Самым сильным нарушением была геномная нестабильность, тестируемая по частоте хромосомных аберраций.

У здоровых доноров (т. е. у тех, у кого имеющееся принимают за норму) уровень хромосомных аберраций составлял $0,8 \pm 1,0$, а у ликвидаторов — $11,0 \pm 0,24$, т. е. в среднем был почти в 14 (!) раз выше. Уровень глутатиона в эритроцитах составил в норме 2,4—3,6 мкмоль/мл, у ликвидаторов — $1,7 \pm 0,72$ мкмоль/мл. Продукция радикала кислорода O_2^- нейтрофилами (нМ/106 клеток за 1 ч) была 26,5 в норме и 64,3 — у ликвидаторов; перекиси водорода соответственно 18,3 против 103,6 и т. д. [119]. Фактически имеется очень четкий самоподдерживающийся (и способный к саморазгону) патологический цикл молекулярных процессов. Первичное воздействие — радиация — вызвала массивное повреждение геномов и одновременно привела к очень мощному окислительному стрессу (это классика радиобиологии). Таким образом, был создан, замкнут и запущен самоподдерживающийся цикл. Подавленные системы противокислородной защиты не в состоянии справиться с образующимся даже в норме количеством перекисей и радикалов. Они забирают на себя универсальный «дезактиватор» — глутатион, необходимый в той или иной мере для поддержания нормального статуса всех систем клетки. Но его тоже не хватает.

Повышенное содержание перекисей и радикалов приводит к дополнительному нарушению геномов, что хорошо изучено экспериментально и, кроме того, подавляет репарационную систему (как, впрочем, и все остальные). Нарушения генома при массивном (даже непродолжительном) разрушающем воздействии приводит к его нестабильности. Нестабильность приводит к инактивации (всеми путями) отдельных генов и их блоков, что требует, хотя и с ошибками, но немедленной репарации. Крупные нарушения убирает апоптоз, иммунный надзор и т. д. Но и они нарушены и не могут быть при подавленности остальных систем полностью восстановлены.

Центральным, критическим, ключевым звеном самоподдерживающегося цикла нарушений, который не позволяет всем остальным постепенно вер-

нуться в норму, является нестабильность генома. Ибо нестабильность, если она возникла и какое-то время просуществовала, означает уже вошедшие «в базу», осуществившиеся генетические изменения (точные мутации, делеции, транслокации и т. д.), которые не были правильно зарепарированы и остались в клетке теперь уже «навсегда». Состоявшаяся нестабильность, т. е. таким образом изменившийся геном, что теперь он сам генетически детерминированно обеспечивает постоянную нестабильность самого себя, является единственным нарушением в клетке, которое не может быть возвращено к норме по сути явления. Не может быть возвращено само и не дает возможности вернуться к норме другим системам. Не дает вследствие того, что нестабильность — это источник непрерывных, на повышенном уровне происходящих нарушений в геноме. Непрерывно происходящих и непрерывно репарируемых. С наполнением мутаций в генах, отмиранием клеток и т. д. Вот и получается — более десяти лет тому назад было воздействие, а последствия его остались до сих пор. И сохраняются (у большинства, т. е. у тех, у кого этот цикл замкнут и функционирует) до конца. С нарастанием разных патологий, в том числе и опухолей.

Здесь следует сделать очень существенное уточнение. Обследовали тех, кто выжил в течение этих более чем 10 лет. А ведь многие до такого обследования просто не дожили — у них нарушений было побольше. Таким образом, живущие сейчас ликвидаторы — это те, у кого такие самоподдерживающиеся циклы оказались послабее. Ограничивается ли саморазгон хотя бы жизнью индивидуума, в клетках которого он состоялся? По всей логике генетики ответ должен быть утвердительным. Но, похоже, что все обстоит значительно сложнее. Так, анализируя последствия Тощкого ядерного взрыва, обнаружили, что содержание всех радионуклидов в том районе уже вернулось на уровень фона. А вот повышенное число клеток с хромосомными аберрациями (т. е. нестабильность генома), обнаруживаемое у трех (!) поколений населения эпицентральной зоны, продолжает существовать [120]. Нестабильность генома, сохранившаяся в трех поколениях! Вот так-то. Но Чернобыль, Тощкий взрыв — это апофеоз. В жизни такой глобальной и локальной катастрофы (а у людей, ее переживших и ее не переживших, — катастрофы на молекулярном уровне) больше не было. Но меньшие происходят постоянно, у всех и разного масштаба. И хорошо бы, чтобы они не приводили к замыканию циклов, на вершине которых стоит нестабильность генома. Для этого необходимо повысить потенциал защитных систем. Они все взаи-

мосвязанны и взаимообусловлены. Тем не менее, наиболее общей, защищающей от разрушения на первом рубеже атаки практически от всех повреждающих агентов (кроме биологических), является система антиоксидантной защиты. Ибо из всего бесконечного перечня «вредного» больше всего в самом организме в норме, в нем же при любых нарушениях, а также попадающего в него извне приходится на перекиси и радикалы.

Как очаги пожаров, перекисные и радикальные группы возникают на всех макромолекулах. И если такие группы не убрать, макромолекула приобретает стойкое нарушение. Убирают их тоже системы антиоксидантной защиты. В ней, в свою очередь, наиболее универсальной является система глутатиона, т. е. глутатион и ферменты, его образующие и преобразующие после того, как он принял на себя перекись или радикал. На специальной линии мышей было экспериментально показано, что нарушение системы глутатиона приводит к онкогенезу и что эта система играет исключительно важную роль в профилактике возникновения практически всех видов опухолей [121]. Но система глутатиона имеет одну очень важную особенность, она селенозависимая. Поэтому селен (в любом растворимом соединении) является одним из природных протекторов, которого часто не хватает. И суть даже не в дефиците как ярком проявлении недостаточности. А в том, что в пище большинства людей селена хватает (в основном) только для того, чтобы не было явных, быстро возникающих, клинических проявлений.

Для создания же резервных систем защиты этого очень часто может быть недостаточно. Резервы — это не просто складирование «про запас». Это то, что мгновенно реализуется при выходящих из монотонного хода событий микро- и макрострессовых ситуаций, из которых состоит вся жизнь.

Следующей группой природных антиоксидантов, защищающих ДНК, являются токоферолы (из них наиболее известен α -токоферол — витамин Е) и β -каротин. Первоначально β -каротин рассматривался лишь как источник витамина А. Но затем выяснилось, что он сам по себе мощный протектор. Что же касается витамина А, то он из β -каротина образуется «по надобности», т. е. естественным путем. Такое образование фактически исключает негативное явление даже при значительных колебаниях самого β -каротина в пище. Единственным необходимым предупреждением здесь является то, что даже природными антиоксидантами нельзя увлекаться. Передозировка этих протекторов приводит к подавлению синтеза в организме его родных, внутренне синтезируемых антиоксидантов. Поэто-

му доза должна соответствовать той, которая при полноценном, сбалансированном питании содержится в его суточном рационе.

К обязательным компонентам противоксидантной защиты относится также витамин С. Но тоже в пределах суточной нормальной потребности. Иначе он начинает действовать «с точностью до наоборот» — вместо защиты от перекисей и радикалов сам вызовет окислительный стресс (на чем и основано лечение «лошадиными» дозами витамина С при гриппе).

Наиболее сложной является непосредственная стабилизация генома. Известно много препаратов, рекомендуемых как антимуагены или как такие, которые показали себя как антимуагены в эксперименте. Но в подавляющем большинстве случаев их антимуагенное действие тестировалось по мутациям (обычно точечным) хорошо изученных генов в модельных системах. Что еще, кроме снижения числа таких мутаций, осуществляют в клетке антимуагенные препараты, в основном, не изучалось. К чему приведет их использование как профилактических средств, до конца непонятно. Поэтому можно реально обсуждать либо природные, либо очень давно применяемые и хорошо изученные препараты.

Согласно многочисленным наблюдениям, применительно к стабилизации геномов к ним относится фолиевая кислота. Она, судя по опыту ее применения, препятствует хромосомным нарушениям, а судя по экспериментальным данным, вообще стабилизирует геном [122]. Совершенно неожиданно оказалось, что к стабилизаторам генома относится и аспирин [123]. Вообще, аспирин обладает удивительно многоплановыми, полезными свойствами. Причину этого еще предстоит понять. Но в малых дозах его уже рекомендуют как протектор (не обладающий побочными действиями) ишемической болезни. И очень удачно, что он обладает еще и геномстабилизирующим свойством.

Для иммунной системы стимуляторов описано столько, что это начинает вызывать опасения. Кроме того, для постоянного поддержания иммунной системы в хорошем состоянии, да еще с необходимыми резервами на случай, когда это потребует, стимуляторы вообще не годятся. При длительном применении они истощат то, что кратковременно стимулировали. Пригодными могут быть только естественные компоненты. Пожалуй, наиболее «естественным» является микроэлемент цинк. В последние десятилетия выяснилась его ключевая роль во многих регуляторных процессах, в которых он участвует в комплексе с определенными группами белков, так называемыми «цинковыми пальцами».

Но не только в них. По не выясненным пока с точки зрения всех звеньев причинно-следственной цепи причинам, цинк особенно необходим для иммунной системы. Являясь природным компонентом пищи, цинк не может истощать иммунную систему. Он действует на нее не как стимулятор, а как «нормализатор» — постоянно необходимая составляющая. Вообще-то цинка вокруг нас, в основном, избыток. И применять его как препарат вроде бы нет никаких оснований. Но это при чисто формальной оценке ситуации — по элементарному составу продуктов питания и воды.

Особенностью питания населения многих стран является использование в пищу больших количеств (в процентном соотношении) продуктов, которые изготавливаются из зерен злаков (пшеницы, риса и т. д.). В них в значительных количествах содержится фитиновая кислота. Она хелатирует двухвалентные катионы, к которым относится цинк, и блокирует их усвоение. Поэтому возможны парадоксальные ситуации, при которых химический анализ покажет избыток цинка в суточном рационе, а для организма такое изобилие реально обернется дефицитом.

Таким образом, собрав воедино компоненты, способствующие защите и стабилизации генома, можно получить очень полезный набор протекторов. Пока таких комплексных препаратов нет. Но даже те отдельные наборы, которые имеются, могут быть полезными. Особенно, если их перевести из лечебной дозировки (в которой они обычно выпускаются) в дозу нормальных ежедневных потребностей.

C'EST LA VIE. Вполне возможно, что анализ проблемы другими специалистами приведет к дополнительным и общедоступным во всем диапазоне профилактики рекомендациям. Пока же бессмертный лозунг всех времен и народов: «Спасение утопающих — дело рук самих утопающих» остается в силе. Остается-то, остается, только применительно к опухолям у него есть осложняющая любую профилактику очень высокая неопределенность. Хорошо известно, что существует сколько угодно людей, которые никакой профилактики не делают, а что такое опухоли знают лишь понаслышке. И уходят такие люди в лучший мир, так и не испытав их на себе. В то же время есть и такие, которые соблюдают ну просто-таки все мыслимые (и многие немислимые) меры предосторожности и все равно не убереглись. Так зачем лишать себя удовольствий жизни, тратить время на какие-то профилактические мероприятия, если все равно никакой гарантии это не дает? Действительно, гарантии не дает. Снижает лишь вероятность. Но в

этом мире вообще никто никому и никогда никакой гарантии не дает и дать не может.

Пока единственная гарантия связана с тем, что «дорога в жизни одна». А все остальное — события вероятностные. И никто абсолютно точно никогда не узнает — будет у него «своя» опухоль вообще (или образуется раньше), если он ничего делать не будет, или была бы, но не появилась, поскольку бдел. Популяционно, статистически такие вероятности определяются с высокой корректностью и свидетельствуют, что для очень многих лучше или даже просто жизненно необходимо осуществлять профилактику, принимать хотя бы элементарные меры предосторожности и, конечно же, не играть в опухолевую рулетку.

Но в индивидуальном плане мы сталкиваемся с неким «принципом индивидуальной неопределенности». И кто конкретно вытягивает в опухолевой лотерее «свою» опухоль, становится известно только на операционном столе. До наступления такой определенности почти все думают, что чаша их минет. Или вообще ни о чем не думают. А строго поиндивидуальных прогнозов корректно сделать невозможно. Так что какая-то неопределенность все равно останется. Поэтому, «что делать?», должен каждый решать сам. Что, впрочем, он и делает. В общей форме, конечно. *C'est la Vie.*

V. A. Kordyum

Problem of tumor origin as it is from the molecular genetics point of view

Summary

The problem of oncogenesis from the point of view of molecular genetics is analyzed. The special attention is paid to the genome instability as the main reason of the malignant cells growth. It is pointed out that the genome instability provides the material for the selection. An immune control system destroys everything what it can destroy. But at the same time it creates the «own» tumor for each patient, which is not recognized by the immune control system as a harmful one.

B. A. Кордюм

Пухлина — сучасне бачення її природи з позицій молекулярної генетики

Резюме

В огляді проблема онкогенезу розглядається з позицій молекулярної генетики. Особливу увагу приділено нестабільності геному як основній причині виникнення злоякісного росту клітин. Відзначається, що нестабільність геному постачає матеріал для добору. Імунний нагляд, прибираючи все, що він у змозі прибрати, формує у кожного хворого «свою» пухлину, яка не сприймається ним (імунним наглядом) як така, що підлягає знищенню.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mulvihill J. J., Talley K. V.* Catalog of human cancer genes: McKusick's Mendelian inheritance in man for clinical and research oncologists (Onco—Min).—Hardcover, 1999.
2. *Oncogenes* (Frontiers in molecular biology series) / Ed. Glover.—1999.
3. *Ross D. W.* Introduction to oncogenes and molecular cancer medicine (Paperback).—1998.
4. *Oncogenes and tumor suppressor genes in human malignancies* (Cancer treatment and research, ctar 63) / Eds C. C. Benz, E. T. Liu.—Hardcover, 1993.
5. *Oncogenes and tumor suppressors* (Frontiers in molecular biology) / Eds G. Peters, K. H. Vousden.—Hardcover, 1997.
6. *Oncogenes as transcriptional regulators* (Progress in gene expressio) / Eds M. Yaniv, J. Ghysdael.—Hardcover, 1997.
7. *Yaniv M.* Oncogenes as transcriptional regulators.—Hardcover, 1997.
8. *Protooncogenes in cell development* (Symp. No. 150) / Eds G. Bock, J. Marsh.—Chichester, 1990.
9. *Prasad D. K.* Est oncogene family // *Indian J. Esp. Biol.*—1997.—35, N 4.—P. 315—322.
10. *Morris D. W., Dutra J. C.* Identification of a MMTV insertion mutation within the coding region of the *Fgf-3* protooncogene // *Virology.*—1997.—238, N 1.—P. 161—165.
11. *Miyakis S., Sourvinos G., Spandidos D. A.* Differential expression and mutation of the ras family genes in human breast cancer // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1998.—251, N 2.—P. 609—612.
12. *Lohmann D. R.* RB1 gene mutations in retinoblastoma // *Hum. Mutat.*—1999.—14, N 4.—P. 283—288.
13. *Frazier M. W., He X., Wang J., Gu Zh., Cleveland J. L., Zambetti G. P.* Activation of *c-myc* gene expression by tumor-derived p53 mutants requires a discrete C-terminal domain // *Mol. and Cell. Biol.*—1998.—18, N 7.—P. 3735—3743.
14. *Chouaib S.* Molecular basic of tumor resistance to the cytotoxic action of tumor necrosis factor: Abstrs 1st Arab. Int. Congr. Cancer (Dubai, 16—20 Nov., 1998) // *Anticancer Res.*—1999.—19, N 3a.—P. 2021—2022.
15. *Howells R. E. J., Dhar K. K., Redman C. W. E., Ayres K., Holland T., Hand P. R., Musgrove C., Aldersea J., Hoban P., Jones P. W.* P53 expression in ovarian cancer. Association with glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 genotypes and survival: Abstrs Spring Sci. Meet. (Liverpool, May, 1999) // *Brit. J. Obstet. and Gynaecol.*—1999.—106, N 9.—P. 997—998.
16. *Maciel M. S., Maia M. A. C., Ferreira F., Mourao M., Veigas L. C.* Breast sarcoma: p53 and clinicopathological study: [Pap.] Int. Union Against Cancer 17th Int. Cancer Congr. (Rio de Janeiro, Aug. 23—28, 1998) // *J. Surg. Oncol.*—1999.—70, N 2.—P. 139.
17. *Venkatachalam S., Donehower L. A.* Murine tumor suppressor models // *Mutat. Res. Fundam. and Mol. Mech. Mutagen.*—1998.—400, N 1—2.—P. 391—407.
18. *Saldanha G., Jones L., Shaw J., Pringke H., Walker R., Fletcher A.* Breast cancer cell line invasion and Hedgehog pathway dysregulation: Abstrs 17th Meet. Pathol. Soc. Gr. Brit. and Irel. (Leicester, 1—3 July, 1998) // *J. Pathol.*—1998.—186, Suppl.—P. 23.
19. *Wu C. L., Roz L., McKown S., Sloan Ph., Read A. P., Holland S., Porter S., Scully C., Paterson I., Tavassoli M., Thakker N.* DNA studies underestimate the major role of CDKN2A inactivation in oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas // *Genes, Chromosomes and Cancer.*—1999.—25, N 1.—P. 16—35.
20. *Pezzella M.* British find gene that, like p53, may help trigger half of cancers // *Biotechnol. Newswatch.*—1999.—18.—P. 16.
21. *Wahl G. M., Linke S. P., Paulson T. G., Huang L.-C.* Maintaining genetic stability through TP53 mediated checkpoint control // *Checkpoint Contr. and Cancer.*—New York: Cold Spring Harbor Lab., 1997.—P. 183—219.
22. *Mendoza S., Konishi T., Demell W. S., Withrow S. J., Miller C. W.* Status of the P53, Rb and Mdm2 genes in Canine osteosarcoma // *Anticancer Res.*—1998.—18, N 6a.—P. 4449—4454.
23. *Gleich L. L., Gluckman J. L., Hanna E., Suen J. Y., Villaret D. B., Coltrera M. D., Wolf G. T., Gapany M., Castro D. J., Gillespie D.* Alloantigen gene therapy for squamous cell carcinoma of the head and neck: Abstrs Chemother. Found. Symp. 16th Innov. Cancer Ther. Tomorrow (New York City, Nov. 11—13, 1998) // *Cancer Invest.*—1999.—17, Suppl., N 1.—P. 54.
24. *Aizawa S., Kamisaku H., Watanabe K., Yoshida K., Hirabayashi Y., Inoue T.* Role of loss of wild-type p53 gene in radiation-induced thymic lymphomagenesis from p53 heterozygous (-/+) mice: Abstrs 41st Annu. Meet. Jap. Radiat. Res. Soc. (Nagasaki, Dec. 2—4, 1998) // *J. Radiat. Res.*—1998.—39, N 4.—P. 404.
25. *Zur Hausen H.* Papillomavirus and p53 // *Nature (Gr. Brit.)*—1998.—393, N 6682.—P. 217.
26. *Sarkar M. A., Vadlamuri S. V., Nseyo U.* Expression of CYR1A1, CYP1A2 and CYP3A3 mRNA in human bladder tissues // 11th Int. Symp. Microsomes and Drug Oxid. (Los Angeles, July 21—24, 1996: Final program and Abstrs).—Los Angeles, 1996.—P. 221.
27. *Naora H., Takai I., Adachi M., Naora H.* Altered cellular responses by varying expression of a ribosomal protein gene: Sequential coordination of enhancement and suppression of ribosomal protein 53a gene expression induces apoptosis // *J. Cell Biol.*—1998.—141, N 3.—P. 741—753.
28. *Giles R. H., Peters D. J. M., Breuning M. H.* Conjunction dysfunction: CBP/p300 in human disease // *Trends Genet.*—1998.—14, N 5.—P. 178—183.
29. *Vaughan P. S., van der Meijden C. M. J., Aziz F., Harada H., Taniguchi T., van Wijnen A. J., Stein J. L., Stein G. S.* Cell cycle regulation of histone H4 gene transcription requires the oncogenic factor IRF-2 // *J. Biol. Chem.*—1998.—273, N 1.—P. 194—199.
30. *Gross A., McDonnell J. M., Korsmeyer S. J.* *Bcl-2* family members and the mitochondria in apoptosis // *Genes and Develop.*—1999.—13, N 15.—P. 1899—1911.
31. *Xu P.-X., Adams J., Peter H., Brown M. C., Heaney S., Maas R.* Eya 1-deficient mice lack ears and kidneys and show abnormal apoptosis of organ primordials // *Nature Genet.*—1999.—29, N 1.—P. 113—117.
32. *Schlichtholz B., Bouchind'homme B., Pages S., Martin E., Liva S., Magdelenat H., Saste-Garau X., Stoppa-Lyonnet D., Soussi T.* P53 mutations in BRCA1-associated familial breast cancer // *Lancet.*—1998.—352, N 9128.—P. 622.
33. *Yokoyama Y., Sato S., Tsuchida S., Saito Y.* Prognostic significance of glutathione S-transferase π and *c-Jun* in epithelial ovarian cancers // *Int. J. Clin. Oncol.*—1998.—3, N 5.—P. 281—286.
34. *Hughes S. J., Glover T. W., Zhu Z.-X., Kuick R., Thoraval D., Orringer M. B., Beer D. G., Hanash S.* A novel amplicon at 8p22-23 results in overexpression of cathepsin B in esophageal adenocarcinoma // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95, N 21.—P. 12410—12415.
35. *Rizwana R., Lahn P. J.* CpG island and double-minute chromosomes // *Genomics.*—1998.—51, N 2.—P. 207—215.

36. Schwab M. Amplification of oncogenes in human cancer cells // *BioEssays*.—1998.—20, N 6.—P. 473—479.
37. Avet-Loiseau H., Godon C., Li J.-Y., Daviet A., Mellerin M.-P., Talmant P., Harousseau J.-L., Bataille R. Amplification of the 11q23 region in acute myeloid leukemia // *Genes, Chromosomes and Cancer*.—1999.—26, N 2.—P. 166—170.
38. Cuthbert G., McCullough S., Finney R., Breese G., Bown N. Jumping translocation at 11q23 with MLL gene rearrangement and interstitial telomeric sequences // *Genes, Chromosomes and Cancer*.—1999.—24, N 4.—P. 295—298.
39. Kwong Y.-L., Pang A. Low frequency of rearrangements of the homeobox gene HOXA9/t(7;II) in adult acute myeloid leukaemia // *Genes, Chromosomes and Cancer*.—1999.—25, N 1.—P. 70—74.
40. Abujiang P., Mori T. J., Takahashi, Tanaka F., Kasyu I., Hitomi S., Hiai H. Loss of heterozygosity (LOH) at 17q and 14q in human lung cancers. // *Oncogene*.—1998.—17, N 23.—P. 3029—3033.
41. Evans M. F., Koreth J., Bakkenist C. J., Herrington C. S., McGee J. O'D. Allelic deletion at 11q23.3-q25 is an early event in cervical neoplasia // *Oncogene*.—1998.—16, N 19.—P. 2557—2564.
42. Karnik P., Chen P., Paris M., Williams B. R. G. Loss of heterozygosity at chromosome 11q15 in Wilms tumors: Identification of two independent regions // *Oncogene*.—1998.—17, N 2.—P. 237—240.
43. Schmidt H., Wurl P., Taubert H., Meze A., Bache M., Holyhausen H.-J., Hinye R. Genomic imbalances of 7p and 17q in malignant peripheral nerve sheath tumors are clinically relevant // *Genes, Chromosomes and Cancer*.—1999.—25, N 3.—P. 205—211.
44. Virmani A. K., Fong K. M., Kodagoda D., McIntire D., Hung J., Tonk V., Minna J. D., Gazdar A. F. Allelotyping demonstrates common and distinct patterns of chromosomal loss in human lung cancer types // *Genes, Chromosomes and Cancer*.—1998.—21, N 4.—P. 308—319.
45. Watson R. H., Neville P. J., Roy W. J., Hitchcock A., Campbell I. G. Loss of heterozygosity on chromosomes 7p, 7q, 9p and 11q is an early event in ovarian tumorigenesis // *Oncogene*.—1998.—17, N 2.—P. 207—212.
46. Wright K., Wilson P. J., Kerr J., Do K., Hurst T., Khoo S.-K., Ward B., Chenevix-Trenc G. Frequent loss of heterozygosity and three critical regions on the short arm of chromosome 8 in ovarian adenocarcinomas // *Oncogene*.—1998.—17, N 9.—P. 1185—1188.
47. Bevan S., Houlston R. S. Genetic predisposition to gastric cancer // *Quart. J. Med.*—1999.—92, N 1.—P. 5—10.
48. Percesepe A., Kristo P., Aaltonen L. A., de Leon M. P., de la Chapelle A., Peltomaki P. Mismatch repair genes and mononucleotide tracts as mutation targets in colorectal tumors with different degrees of microsatellite instability // *Oncogene*.—1998.—17, N 2.—P. 157—163.
49. Kujawski M., Salomo-Rikal M., Gabriel A., Szyfter K., Knuutila S. Recurrent DNA copy number losses associated with metastasis of larynx carcinoma // *Genes, Chromosomes and Cancer*.—1999.—26, N 3.—P. 253—257.
50. Lengauer C., Kinzler K. W., Vogelstein B. Genetic instabilities in humans cancers // *Nature (Gr. Brit.)*.—1998.—396, N 6712.—P. 643—649.
51. Maesawa C., Ogasawara S., Iwaya T., Ishida K., Tamura G. Advances in genetic research of esophageal carcinoma // *Iwate igaku zasshi = J. Iwate Med. Assoc.*—1999.—50, N 6.—P. 577—591.
52. Ahmadian A., Ren Z.-P., Williams C., Ponten F., Odeberg J., Ponten J., Uhlen M., Lundberg J. Genetic instability in the 9q22.3 region is a late event in the development of squamous cell carcinoma // *Oncogene*.—1998.—17, N 14.—P. 1837—1843.
53. Tsao H., Benoit E., Sober A. J., Thiele C., Haluska F. G. Novel mutations in the p16/CDKN2A binding region of the cyclin-dependent kinase-4 gene // *Cancer Res.*—1998.—58, N 1.—P. 109—113.
54. Nikiforov Y. E., Nikiforova M., Fagin J. A. Prevalence of minisatellite and microsatellite in radiation-induced post-Chernobyl pediatric thyroid carcinomas // *Oncogene*.—1998.—17, N 15.—P. 1983—1988.
55. Minnick D. T., Kunkel T. A. DNA synthesis errors, mutators and cancer // *Genet. Instabil. Cancer*.—New York: Cold Spring Harbor Lab., 1996.—P. 3—20.
56. Genetic instability in cancer (Cancer surveys series advances and prospects in clinical epidemiological and laboratory oncology) / Ed. T. Lindahl.—Hardcover, 1996.—Vol. 28.
57. Genetic instability and tumorigenesis // *Curr. Top. Microbiol. and Immunol.*—1996.—221.—P.
58. Olschwang S. Germline mutation and genome instability // *Eur. J. Cancer Prev.*—1999.—Suppl. 1.—P. 33—37.
59. Ried T., Heselmeyer-Haddad K., Blegen H., Schrock E., Auer G. Genomic changes defining the genesis, progression, and malignancy potential in solid human tumors: a phenotype/genotype correlation // *Genes, Chromosomes and Cancer*.—1999.—25, N 3.—P. 195—204.
60. Feunteun J. La predisposition hereditaire au cancer du sein liee a BRCA1 et BRCA2: Une maladie de la reponse aux lesions denotoxiques? // *M/S: Med. Sci.*—1999.—15, N 1.—P. 38—44.
61. Miyagawa K. Genetic instability and cancer // *Int. J. Hematol.*—1998.—67, N 1.—P. 3—14.
62. Hampson R. Selection for genome instability by DNA damage in human cells: unstable microsatellites and their consequences for tumorigenesis // *Radiat. Oncol. Invest.*—1997.—5, N 3.—P. 111—114.
63. Field J. K. Genomic instability in squamous cell carcinoma of the head and neck // *Anticancer Res.*—1996.—16, N 4C.—P. 2421—2431.
64. Farid N. D. Molecular pathogenesis of thyroid cancer: the significance of oncogenes, tumor suppressor genes, and genomic instability // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.*—1996.—104, Suppl. 4.—P. 1—4.
65. Ruschoff J., Bocker T., Schlegel J., Stumm G., Hofstaedter F. Microsatellite instability: new aspect in the carcinogenesis of colorectal carcinoma // *Virchows Arch.*—1995.—425, N 3.—P. 215—222.
66. Genomic instability and immortality in cancer (Pezcoller foundation symp., 8) / Eds E. Mihich, L. Hartwell.—Portland: OR, 1997.
67. Popescu N. C. Chromosome fragility and instability in human cancer // *Crit. Rev. Oncog.*—1994.—5, N 2—3.—P. 121—140.
68. Jasin M. Chromosome breaks and genomic instability // *Cancer Invest.*—2000.—18, N 1.—P. 78—86.
69. Schmutte C., Fishel R. Genomic instability: first step to carcinogenesis // *Anticancer Res.*—1999.—19, N 6A.—P. 4665—4696.
70. Coleman W. B., Tsongalis G. J. The role of genomic instability in human carcinogenesis // *Anticancer Res.*—1999.—19, N 6A.—P. 4645—4664.
71. Pihan G. A., Doxsey S. Y. The mitotic machinery as a source of genetic instability in cancer // *Semin. Cancer Biol.*—1999.—9, N 4.—P. 289—302.
72. Bevilacqua R. A., Nunes D. N., Stroun M., Anker P. The use of genetic instability as a clinical tool for cancer diagnosis // *Semin Cancer Biol.*—1998.—8, N 6.—P. 447—453.

73. Coleman W. B., Tsongalis G. J. Multiple mechanisms account for genomic instability and molecular mutation in neoplastic transformation // *Clin. Chem.*—1995.—41, N 5.—P. 644—657.
74. Donehower L. A. Genetic instability in animal tumorigenesis models // *Cancer Surv.*—1997.—29.—P. 329—352.
75. Diculescu G. L. The sources of variation in the human genome instability in human cancers // *Rom. J. Physiol.*—1997.—34, N 1—4.—P. 3—17.
76. Boyer J. C., Farber R. A. Mutation rate of a microsatellite sequence in normal human fibroblasts // *Cancer Res.*—1998.—58, N 17.—P. 3946—3949.
77. Harkonen K., Viitanen T., Larsen S. B., Bonde J. P., Lahdetie J. Aneuploidy in sperm and exposure to fungicides and life style factors // *Environ. and Mol. Mutagenes.*—1999.—34, N 1.—P. 39—46.
78. Humayun M. Z. SOS and Mayday: Multiple inducible mutagenic pathways in *Escherichia coli* // *Mol. Microbiol.*—1998.—30, N 5.—P. 905—910.
79. Кокабаев А. А., Шарипов И. К., Берсимбаев Р. И. Цитогенетическое исследование лимфоцитов периферической крови рабочих урановых рудников: Тез. докл. Всерос. симпозиум. «Биол. клетки в культуре» (С.-Перербург, 20—22 окт., 1998) // *Цитология.*—1999.—41, № 3—4.—С. 274.
80. Frommel T. O., Zarling E. J. Chronic inflammation and cancer. Potential role of *Bcl-2* gene family member as of regulators of cellular antioxidant status // *Med. Hypotheses.*—1999.—52, N 1.—P. 27—30.
81. Habano W., Sugai T., Nakamura S.-I. Mismatch repair deficiency leads to a unique mode of colorectal tumorigenesis characterized by intratumoral heterogeneity // *Oncogene.*—1998.—16, N 10.—P. 1259—1265.
82. Wynford-Thomas D., Blaydes J. The influence of cell context on the selection pressure for p53 mutation in human cancer // *Carcinogenesis.*—1998.—19, N 1.—P. 29—36.
83. Bruner S. D., Deng L., Nash H. M., Lu R., Wintner T. H., Verdine G. L. Chemical biology of DNA repair: [Pap.] 36th IUPAC Congr. «Front. Chem., New Perspect. for 2000s» (Geneva, Aug. 17—22, 1997) // *Chimia.*—1997.—51, N 7.—P. 367.
84. Chevillard S., Radicella J. P., Levalois G., Lebeau J., Poupon M.-F., Oudard S., Durtrillax B., Boiteux S. Mutations in OGG1, a gene involved and kidney tumours // *Oncogene.*—1998.—16, N 23.—P. 3083—3086.
85. Hosfield D. J., Mol C. D., Shen B., Tainer J. A. Structure of the DNA repair and replication endonuclease FEN-1: Coupling DNA and PCNA binding to FEN-1 activity // *Cell.*—1998.—95, N 1.—P. 135—146.
86. Prolla T. A. DNA mismatch repair and cancer // *Curr. Opin. Cell Biol.*—1998.—10, N 3.—P. 311—316.
87. Wu X., Hsu T. C., Cao S., Lee J. J., Amos C. I., Spitz M. R. Deletion in poly(ADP-ribose) polymerase pseudogene and lung cancer risk // *Carcinogenesis.*—1998.—19, N 1.—P. 93—98.
88. Bahr A., De Graeve F., Kedinger C., Chatton B. Point mutations causing Bloom's syndrome abolish ATPase and DNA helicase activities of the BLM protein // *Oncogene.*—1998.—17, N 20.—P. 2565—2571.
89. Paulson T. G., Almasan A., Brody L. L., Wahl G. M. Gene amplification in p53-deficient cell line cycle progression under conditions that generate DNA breakage // *Mol. and Cell. Biol.*—1998.—18, N 5.—P. 3089—3100.
90. Green N. S., Lin M. M., Scharff M. D. Somatic hypermutation of antibody genes: A hot spot warms up // *BioEssays.*—1998.—20, N 3.—P. 227—234.
91. Hiom K., Melek M., Gellert M. DNA transposition by the RAG1 and RAG2 proteins: A possible source of oncogenic translocations // *Cell.*—1998.—94, N 4.—P. 463—470.
92. Jeffs A. R., Benjes S. M., Smith T. L., Sowerby S. J., Morris C. M. The BCR gene recombines preferentially with *Alu* elements in complex BCR-ABL translocations of chronic myeloid leukaemia // *Hum. Mol. Genet.*—1998.—7, N 5.—P. 767—776.
93. Shen M. R., Jones I. M., Mohrenweiser H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans // *Cancer Res.*—1998.—58, N 4.—P. 604—608.
94. Shen S.-X., Weaver Z., Xu X., Li C., Weinstein M., Chen L., Guan X.-Y., Ried T., Deng C.-X. A targeted disruption of the murine *Brcal* gene causes γ -irradiation hypersensitivity and genetic instability // *Oncogene.*—1998.—17, N 24.—P. 3115—3124.
95. Weaver Z. A., McCormack S. J., Liyanage M., du Manoir S., Coleman A., Schrock E., Dickson R. B., Ried T. A recurring pattern of chromosomal aberrations in mammary gland tumors of MMTV-*c-myc* transgenic mice // *Genes, Chromosomes and Cancer.*—1999.—25, N 3.—P. 251—260.
96. Засухина Г. Д., Казанцева Л. Н., Семьякина А. Н., Васильева И. М., Меликсетова И. А., Львова Г. Н. Нарушение репарации ДНК в клетках больных синдромами Марфана и Элерса—Данлоса // *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.*—1998.—43, № 6.—С. 46.
97. Huang H., Qian J., Proffitt J., Wilber K., Jenkins R., Smith D. I. FRA7G extends over a broad region: Coincidence of human endogenous retroviral sequences (HERV-H) and small polydispersed circular DNAs (spcDNA) and fragile sites // *Oncogene.*—1998.—16, N 18.—P. 2311—2319.
98. Кордюм В. А. И тогда я сел писать эту книгу: Не совсем обычные представления о генетике человека.—Киев, 1993.—248 с.
99. Nicolaides N. C., Littman S. J., Modrich P., Kinzler K. W., Vogelstein B. A naturally occurring hPMS2 mutation can confer a dominant negative mutator phenotype // *Mol. and Cell. Biol.*—1998.—18, N 3.—P. 1635—1641.
100. Lowe S. W. Activation of p53 by oncogenes // *Endocr.-Relat. Cancer.*—1999.—6, N 1.—P. 45—48.
101. Wang X.-Y., Smith D. I., Frederick L., James C. D. Analysis of EGF receptor amplicons reveals amplification of multiple expressed sequences // *Oncogene.*—1998.—16, N 2.—P. 191—195.
102. Kolesnitchenko V., King L., Riva A., Tani Y., Korsmeyer S. J., Cohen D. I. A major human immunodeficiency virus type 1-initiated killing pathway distinct from apoptosis // *J. Virol.*—1997.—71, N 12.—P. 9753—9763.
103. Nishigori C., Yarosh D., O'Connor A., Shreedhar V. K., Ulbrich S. E., Cox P., Kripke M. L. *HindIII* liposomes suppress delayed-type hypersensitivity responses *in vivo* and induce epidermal IL-10 *in vitro* // *J. Immunol.*—1998.—161, N 6.—P. 2684—2691.
104. Falix C. A. Secondary leukemias induced by topoisomerase-targeted drugs // *Biochim. et biophys. acta. Gene Struct. and Express.*—1998.—1400, N 1—3.—P. 233—255.
105. Felix C. A., Walker A. H., Lange B. J., Willims T. M., Winick N. J., Cheung N.-K. V., Lovett B. D., Nowell P. C., Blair I. A., Rebbeck T. R. Association of CYP3A4 genotype with treatment-related leukemia // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95, N 22.—P. 13176—13181.
106. Газиев А. И., Плосконосова И. И., Баранов В. И., Безлепкин В. Г., Сирота Н. П., Васильева Г. В., Ломаева М. Г. Накопление повреждений в ДНК и изменение систем защиты генома со старением организма: III Междунар. науч.-практ. конф. «Пожилой больной. Качество жизни»

- (Москва, 1—2 окт., 1998) // *Клин. геронтология*.—1998.—№ 3.—P. 58.
107. Falck G., Grawe J., Nusse M., Norppa H. High prevalence of the X chromosome in flowsorted lymphocyte of micronuclei women: Abstrs 30th Annu. Meet. Environ. Mutagen Soc. (Washington, D. C., March 27—Apr. 1, 1999) // *Environ. and Mol. Mutagenes.*—1999.—33, N 30, Suppl.—P. 24.
 108. Venkatachalam S., Shi Y.-P., Jones S. N., Vogel H., Bradley A., Pinkel D., Donehower L. A. Retention of wild-type p53 in tumors cancer formation // *EMBO J.*—1998.—17, N 16.—P. 4657—4667.
 109. Nakamura Y. ATM: The p53 booster // *Nature Med.*—1998.—4, N 11.—P. 1231—1232.
 110. Escarceller M., Buchwald M., Singleton B. K., Jeggo P. A., Jackson S. P., Moustacchi E., Papadopoulo D. Fanconi anemia C gene product plays a role in the fidelity of blunt DNA end-joining // *J. Mol. Biol.*—1998.—279, N 2.—P. 375—385.
 111. Lebel M., Leder P. A deletion within the murine Werner syndrome helicase induces sensitivity to inhibitors of topoisomerase and loss of cellular proliferative capacity // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95, N 22.—P. 13097—13102.
 112. Moser M. J., Oshima J., Monnat R. J. WRN mutations in Werner syndrome // *Hum. Mutat.*—1999.—13, N 4.—P. 271—279.
 113. Spillare E. A., Robles A. I., Wang X. W., Shen J.-C., Yu C.-E., Schellenberg G. D., Harris C. C. p53-Mediated apoptosis is attenuated in Werner syndrome cells // *Genes and Develop.*—1999.—13, N 11.—P. 1355—1360.
 114. Eyre-Walker A., Keightley P. D. High genomic deleterious mutation rates in hominids // *Nature (Gr. Brit.)*.—1999.—397.—N 6717.—P. 344—347.
 115. Crow J. F. The odds of losing at genetic roulette // *Nature (Gr. Brit.)*.—1999.—397, N 6717.—P. 293—294.
 116. *Suffering from a sensitive issue* // *Chem. And Ind.*—1998.—N 15.—P. 592.
 117. Seppa N. Exposure to smoke yields fetal mutations // *Sci. News.*—1998.—154, N 14.—P. 213.
 118. Naasani I., Eimiya H., Tsuruo T. Telomerase inhibition, telomere shortening, and senescence of cancer cells by tea catechins // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1998.—249, N 2.—P. 391—396.
 119. Alaoui Y. A., Zybina A., Katashkova G., Nikiforov N., Emerit I. Etude de plusieurs biomarqueurs du stress oxydatif chez des liquidateurs de Tchernobyl: [Rapp.] Reun. hiver Soc. Fr. Rech. Radicaux Libr. (Paris, 3 juill., 1998) // *C. r. Soc. sci. biol.*—1998.—192, N 6.—P. 1199.
 120. Корнеев А. Г., Журков В. С., Кулешов Н. П., Верецагин Н. Н., Тюрин Е. Н., Боев В. В., Воробьев А. П. Радиоэкологическая и генетическая оценка отдаленных последствий Тоцкого ядерного взрыва // *Гигиена и санитария*.—1998.—№ 6.—P. 46—50.
 121. Pezzella M. Single gene neutralizes toxic chemicals, avoids cancer // *Biotechnol. Newswatch.*—1998.—N 4.—P. 13—14.
 122. Duthie S. J. Folic acid deficiency and cancer. Mechanisms of DNA instability // *Brit. Med. Bull.*—1999.—55, N 3.—P. 578—592.
 123. Ruschoff J., Wallinger S., Dietmaier W., Bocker T., Brockhoff G., Hofstadter F., Fishel R. Aspirin suppresses the mutator phenotype associated with hereditary nonpolyposis colorectal cancer by genetic selection // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1998.—95, N 19.—P. 11301—11306.
 124. Eisenberg D., Marcotte E. M., Xenarios I., Yeates T. O. Protein function in the post-genomic era // *Nature.*—2000.—405, N 6788.—P. 823—826.

УДК 577.2

Надійшла до редакції 28.08.2000