

ВВЕДЕНИЕ

В 1979 г. вышел в свет Гематологический атлас профессора Михаила Гукасовича Абрамова, где и текст, и рисунки принадлежали автору. В предисловии давался ответ на естественный вопрос: почему в атласе – рисунки, а не фотографии. Дело в том, что недостаточное количество нужных автору клеток в одном поле зрения можно как-то подправить склеиванием фотографий, а вот дефект плоскостного фотографического изображения клетки, представляющей собой объемное образование, будь то в мазке или на срезе, непоправим. Ведь анализируя препарат, мы непрерывно работаем микровинтом, выявляя глубинные и поверхностные структуры. Наверное, многим приходилось замечать, как опытный специалист не может усидеть спокойно, разглядывая демонстрируемые ему изображения на экране или в другом окуляре, так как он должен работать микровинтом сам. Интересно было наблюдать консультации И.А. Кассирского: некоторое время он терпеливо слушал рассказ, потом, ничего не понимая, просил дать ему мазок и быстро успокаивался, получив в руки настоящие ключи к диагнозу. Вместе с тем рисунок неизбежно отражает не только то, что видит исследователь, но и то, что он знает и хочет видеть.

Отечественная гематология буквально выросла на рисованном атласе клеток крови Александра Николаевича Крюкова (1946 г.). Без его классического описания «бласти» гематологию представить себе невозможно. Однако некоторая часть клеток этого атласа теперь не упоминается и не встречается. Существенную роль играет в диагностике картина не только отдельных клеток, но и полей зрения при конкретных лейкозах. Это было сделано в атласе Симы Леонтьевны Лузковой (1961 г.). Надо сказать, что ни один из упомянутых атласов не утратил своего значения, хотя наиболее полно и ярко собственно опухоли системы крови даны у М.Г. Абрамова.

Тот атлас, обложку которого открыл читатель, – фотографический. Но в нем учтены дефекты простого фото, и иллюстрации представляют собой своеобразный синтез рисунка и прежнего фотоснимка, так как изображения, полученные на современной видеосистеме, состоящей из микроскопа с высокой разрешающей

способностью и цифровой камеры, в дальнейшем подвергались специальной обработке, позволившей видеть требуемые детали.

Если предыдущие атласы были либо целиком, либо в основном цитологическими, то здесь, особенно при лимфосаркомах, лимфогранулематозе, главенствующее место заняла гистология.

Значительную часть рабочего дня авторов занимают вопросы диагностики. Сохраняя традиции школы А.Н. Крюкова – И.А. Кассирского, многие из нас смотрят и больных, и препараты крови, костного мозга, лимфоузлов, не разделяя гистологические и цитологические. Так работали и А.Н. Крюков, и И.А. Кассирский. Трепанобиопсия костного мозга позволила характеризовать костномозговое кроветворение не только в цитологическом, но и в гистологическом плане. А.Н. Крюков, его ученик – И.А. Кассирский, ученик Кассирского – М.Г. Абрамов – терапевты широкого профиля, но терапевты, умевшие смотреть в микроскоп, за что далекие от нашей клиники специалисты называли их «гематологами», что абсолютно не соответствовало действительности.

С другой стороны, когда мы посмотрели на частоту расхождений в диагностике лимфосарком и лимфогранулематоза в лабораториях, где использовался только гистологический анализ, и коллективов, где сопоставляется гистологическая и цитологическая картина, оказалось, что в первом случае ошибки достигают 20–25%. Может показаться, что иммунофенотипирование, хромосомный анализ, молекулярный анализ, проточная цитофлуориметрия могут тут как-нибудь выручить и упростить диагностику. Получилось скорее наоборот: они прибавили трудностей. Каждый из упомянутых методов исследования имеет свою особую «нишу», где без него диагноз просто невозможно поставить, и очень важен во всем совокупном методическом диагностическом ансамбле.

Иммунофенотипическая и цитогенетическая панели ставятся не «вслепую», а на основании предположительного диагноза, основанного на клинике, гистологии и цитологии. Поэтому высокотехнологические методы не могут замещать классическую морфологию, а являются вспомогательными. Иммунофенотипирование и хромо-

сомный анализ привели к выделению ранее неизвестных форм, послужив отправной позицией, заставившей увидеть и клинические особенности этих опухолей, а затем разработать и специфические терапевтические подходы. В общем, найти какой-то один методический ключ к диагностике всех лимфом не удалось. В результате современная диагностика лимфатических (да и других) опухолей превратилась в сложнейшее конструирование законченного образа болезни, где все детали должны друг другу соответствовать. Но даже соблюдая эти правила, при полноценном оснащении, именно в группе лимфатических опухолей, в том числе и на их начальном этапе, мы сплошь и рядом сталкиваемся с невозможностью отнести заболевание к известным формам. В чем тут дело?

Опухоли лимфатической системы чрезвычайно разнообразны как в своих клинических проявлениях, так и в морфологии слагающих их элементов. Это разнообразие в немалой степени обусловлено сложностью самой лимфатической системы, организация которой стала понятной лишь сейчас.

В последние годы онкогематология выделилась в самостоятельную область медицины со своей терминологией, подходами к диагностике и лечению. Надо ли рассматривать гемобласты отдельно от других новообразований человека? Такой подход представляется логичным. Только постоянно циркулирующие родоначальные клетки крови обладают способностью образовывать колонии везде, где у взрослых, детей или эмбрионов возможно кроветворение. Именно этим свойством родоначальных кроветворных клеток – в норме присутствовать повсеместно – объясняется характерная особенность гемобластозов: уже при первых клинических проявлениях заболевания опухолевыми клетками могут быть обсеменены многие органы и ткани.

Чем же выделяются опухоли лимфатической системы, почему необходимо рассматривать их отдельно от других гемобластозов? Для ответа на это вопрос достаточно взглянуть на схему кроветворения (рис. 1). На ней видно, что дифференцировка лимфоцитов, в отличие от дифференцировки клеток миелоидного ряда, не приводит к необратимому подавлению их способности к пролиферации. Дифференцированные лимфоциты остаются морфологически зрелыми в лимфоузлах, коже, кишечнике и других органах до встречи с антигеном. Если такая встреча происходит, то запускается новый цикл деления и дифференцировки лимфоцитов, которые вновь проходят морфологические стадии про-

лимфоцитов, бластов, иммунобластов. В связи с этим отличить реактивную лимфоидную гиперплазию от опухолевой бывает не всегда просто.

Даем несколько определений. Под **опухолью** авторы понимают плохо контролируемую организмом плюсткань, возникшую из одной мутировавшей клетки, потомство которой – клон потеряло ограничения в количестве делений; в своем росте опухоль не зависит от вызвавшей ее причины и не является результатом воспаления или накопления неметаболизированных продуктов.

Опухоли бывают доброкачественными и злокачественными. **Доброкачественная опухоль** характеризуется размножением клеток, сохраняющих морфологические черты нормальных зрелых элементов; доброкачественная опухоль в течение долгого времени не меняет ни особенностей своего роста, ни особенностей реакции на цитостатическую терапию.

Важнейшее отличие **злокачественной опухоли** от доброкачественной заключается в потере стабильности генома. Это приводит к повышенной мутабельности клеток опухоли, появлению в рамках исходного клона новых субклонов, отбору среди них наиболее автономных. Морфологически этот процесс характеризуется нарастанием признаков клеточного полиморфизма и атипизма. Закономерно доброкачественная опухоль трансформируется в злокачественную, обратное развитие – невозможно.

Атипизм – клетки злокачественной опухоли, в частности, лимфатической опухоли имеют «портрет», которого не бывает у клеток нормального лимфопозза: неправильная, часто уродливая форма клеток, ядер с бластной, волокнистой, глыбчатой, гранулярной структурой хроматина, множественными ядрышками часто неправильной формы, вакуолизацией цитоплазмы и ядра, наличием свободно лежащих обрывков цитоплазмы (цитоплазмоклазия).

Полиморфизм – разнообразие опухолевых клеток по форме и размерам, в конкретном случае выраженное в большей или меньшей степени.

Традиционно все злокачественные опухоли из эпителия называются раками, а злокачественные опухоли соединительнотканного происхождения – саркомами. Все опухоли системы крови, т.е. те, клеточным источником которых является стволовая кроветворная клетка или ее потомство, относят к **гемобластозам**. В прошлом их нередко называли ретикулезами.

Гемобластозы, исходно поражающие костный мозг, называют **лейкозами**. Доброкачественные опухоли лимфатической природы, внекостномозговые или преимущественно внекостномозговые мы называем **лимфомами** с уточнением топики, происхождения. Например, «лимфома из клеток маргинальной (или мантий-

ной) зоны». Злокачественные внекостномозговые опухоли лимфатической природы называем **лимфосаркомами**. Хотя граница лимфом-лейкозов, лимфосарком-лейкозов бывает не всегда отчетлива, приведенное разделение гемобластозов оправдано специфическими ответами на ту или иную программу терапии.

ОПУХОЛЕВАЯ ПРОГРЕССИЯ

Изучая поведение злокачественной опухоли молочных желез у мышей, много лет тому назад английский исследователь Фулдс выдвинул концепцию опухолевой прогрессии, под которой автор понимал сумму качественных изменений в поведении опухоли [1]. Ее основные положения заключаются в следующем:

1. Злокачественные новообразования в своем росте и развитии претерпевают ряд необратимых изменений, а возникающие в опухоли новые качества не связаны ни со скоростью ее роста, ни с ее величиной.
2. При множественной локализации опухоли прогрессия в разных очагах совершается независимо, также независимо происходит и изменение различных свойств одной и той же опухоли.
3. В течение жизни индивидуума прогрессия не всегда достигает конечной стадии своего развития.
4. Первая клиническая манифестация опухоли возможна на любой стадии прогрессии.
5. Прогрессия может иметь место как в растущих, так и в латентных опухолях.

Естественно, Фулдс не знал о клональности опухолевого роста.

В гематологию представление об опухолевой прогрессии было введено А.И. Воробьевым (1965), но сразу было оговорено, что опухоли клональны, а в основе прогрессии лежит отбор появляющихся в результате повторных мутаций наиболее автономных субклонов. В дальнейшем проблемы опухолевой прогрессии разрабатывались в ряде исследований [А.И. Воробьев, 1965, 1967, 1968; Е.К. Пяткин, 1967, 1968; Р.П. Юргутис, 1968; Е.И. Баратащук, 1971; А.В. Захарова, 1971; В.С. Шапот, 1977] [2–5].

Опухолевая прогрессия присуща злокачественным новообразованиям и отсутствует в доброкачественных опухолях. Именно наличие или отсутствие опухолевой прогрессии отличает злокачественную опухоль от доброкачественной. В основе прогрессии лежит повышенная мутабельность клеток, которая и «поставляет»

для отбора множество разнообразных субклонов.

Молекулярные механизмы, лежащие в основе опухолевой прогрессии, в значительной мере связаны с белками, регулирующими процесс программируемой клеточной гибели – апоптоз. Существует две группы таких белков – проапоптотические и антиапоптотические. Антиапоптотические белки при повышенном уровне своей экспрессии препятствуют вступлению мутировавших клеток в апоптоз, тогда как проапоптотические, наоборот, облегчают гибель клетки в апоптозе при нарушениях ее генома. Апоптоз запускается в ответ на самые разные нарушения, но, прежде всего, – на образование разрывов в молекуле ДНК. По-видимому, существует определенный уровень нарушений, которые клетка в состоянии пережить; превышение этого уровня приводит клетку к программируемой гибели – апоптозу. Регуляцию поведения клеток можно представить следующим образом: гиперэкспрессия антиапоптотических генов будет защищать клетки от апоптоза даже при большом количестве аномалий, а недостаточная их экспрессия или повышенная экспрессия проапоптотических белков отправляет клетку в апоптоз при любых нарушениях. Один из механизмов защиты организма от сохранения клеток с поврежденным геномом реализуется через ген р53, продукт которого играет ключевую роль в регуляции программируемой клеточной гибели. Пониженный уровень экспрессии белка р53 или любое другое нарушение (например, мутация этого гена) выключает гибель мутировавших клеток. Это приводит к сохранению и накоплению мутировавших клеток, накоплению субклонов, что и сопровождается переходом доброкачественной опухоли в злокачественную стадию.

Таким образом, современное представление об опухолевой прогрессии существенно отличается от первоначального следующими положениями: во-первых, доказана клональность опухолей; во-вторых, показано, что в основе

прогрессии лежит повышенная мутабельность генома опухолевых клеток, в результате которой в рамках первоначального опухолевого клона появляются субклоны с новыми свойствами.

Сказанное справедливо для любого опухолевого роста. Однако приходится иметь в виду, что в отличие от всех остальных клеток организма, клетки лимфатической системы в своей дифференцировке проходят стадию гипермутабельности, биологическим смыслом которой является, в частности для В-клеток, создание разнообразных модификаций гена иммуноглобулина. В результате для организма появляется возможность вырабатывать любые возможные конфигурации антител, которые найдут себе соответствующую «комплементарную» конфигурацию антигена. Лимфоцит, обладающий высокоспецифичным для конкретного антигена антителом, получит «право» на дальнейшую дифференцировку. Он станет «родоначальником» соответствующего клона. И хотя этот лимфоцит – мутант, он не будет уничтожен системой проапоптотических генов. Лимфоциты же, продуцирующие «ненужные» антитела (не имеющие соответствующего антигена), будут уничтожены включением системы апоптоза. Таких бесполезных мутантов будет среди лимфоцитов огромное большинство, и их «прикончат» макрофаги. Именно поэтому в центре размножения фолликула лимфоузла, где проходит процесс гипермутабельности лимфоцитов, так много макрофагов. В мантийной зоне, куда отправятся сохранившиеся В-лимфоциты, т.е. те клетки, которые способны к выработке высокоаффинных антител к соответствующему антигену, макрофагов не видно. Следовательно, на весь период гипермутабельности лимфоцитов система проапоптотических генов в них парализована, но должна включаться после окончания этой фазы лимфоцитарной дифференцировки. Антагонистом системы проапоптотических генов является система антиапоптотических генов, в частности, *bcl2*.

Вероятно, существование фазы гипермутабельности при нормальной дифференцировке лимфоцитов лежит в основе огромного разнообразия именно лимфатических опухолей.

Однако представленная схема не объясняет первого этапа онкогенеза, когда почему-то «разрешено» появиться именно опухолевому клону мутантных клеток, когда другие мутанты системой гена *p53* уничтожаются. Почему не отправлена в апоптоз исходная клетка этого клона? Почему сохраняется ее потомство при нормально функционирующем гене *p53*?

Невнимание к доброкачественной стадии опухолевого роста, по-видимому, отодвинуло эту исходную и важнейшую стадию на задний план. Моноклоновая стадия, когда мутантный клон существует долго, при некоторых опухолях – десятилетия, представляет собой отдельную проблему онкогенеза. Вполне естественным является вопрос: а может ли наступить стадия злокачественной опухоли, минуя стадию доброкачественную. С точки зрения клинической, утвердительный ответ очевиден, но теоретическая сторона проблемы не ясна.

Таким образом, механизм опухолевой прогрессии можно представить следующим образом. Любая клетка с необратимыми повреждениями генома, но нормально работающей системой апоптоза будет уничтожена в первом же клеточном цикле или даст коротко живущий клон, который затем бесследно исчезнет. Если же в клетке произошли нарушения в системе генов – регуляторов апоптоза, то вероятность программируемой гибели ее потомства снижается. Тем самым создаются условия для сохранения потомства мутировавшей клетки. И если эта клетка к тому же утратила способность всех нормальных клеток к ограничению количества делений, возникнет клон аномальных «бессмертных» клеток. Это уже – опухоль, но опухоль доброкачественная. В том случае, если в одной или нескольких клетках этого клона произойдут дополнительные мутации, то появятся и станут накапливаться субклоны новых вариантов опухолевых клеток. В результате возникнет новая фаза опухолевого роста (в сущности, новая опухоль) – злокачественная. Эти клетки в большинстве случаев обнаруживают некое митотическое преимущество перед исходным клоном. Именно по этой причине нередко перерождение доброкачественной опухоли в злокачественную характеризуется резким уменьшением клеток исходной опухоли. Примером может быть бластный криз разных лейкозов. Постепенно происходит отбор наиболее автономных субклонов, обладающих, в частности, способностью к имплантации в прежде интактные ткани и органы (метастазирование), к уходу из-под контроля ранее эффективных цитостатиков. Внешне прогрессия проявляется изменением клинической картины болезни, появлением метастазов в ранее интактных органах, развитием устойчивости к проводимому лечению.

Как правило, программы лечения доброкачественных опухолей неэффективны при развившихся из них опухолях злокачественных. Вместе с тем многочисленные попытки лечить доб-

рокачественную стадию по программам лечения злокачественных стадий (опухолей) сколько-нибудь стойких ремиссий не дают. Почему? Ответа на этот вопрос пока нет.

На рис. 2 дана схема развития опухоли из моноклоновой к поликлоновой стадии. Обведена зона наших терапевтических успехов в лечении злокачественной стадии болезни. Представленным соображениям соответствует мысль, по крайней мере, в лечении лимфосарком: сосредоточить максимум цитостатических усилий на первом цикле лечения, ограничивая перерывы между введением препаратов интервалами, необходимыми для обязательного минимально достаточного восстановления кроветворения.

Следует подчеркнуть, что при одной и той же форме опухолевого роста молекулярные механизмы нарушения функции регуляторов апоптоза у разных больных могут быть разными и, наоборот, в разных опухолях бывают одинаковые нарушения. Например, повышенный уровень экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 характерен практически для всех зрелоклеточных опухолей лимфатической системы, а мутации гена p53 найдены примерно в половине всех опухолей человека, в частности, в рефрактерных к лечению лимфосаркомах.

Лучший пример онкогенеза – хронический миелолейкоз, при котором все опухолевые клетки несут исходный признак – Ph-хромосому, появившуюся в результате транслокации t(9;22)(q34;q11).

Описанная транслокация обуславливает образование химерного гена BCR/ABL. Продукт

этого гена обладает мощным антиапоптотическим действием. Под его «прикрытием» клетки хронического миелолейкоза выживают даже тогда, когда в них происходят повторные мутации. В результате рано или поздно появятся лейкозные клетки не только с Ph-хромосомой, но и с дополнительными или недостающими (существенно реже) хромосомами, дающие свое потомство – субклоны в рамках основного Ph-позитивного клона. Поскольку пролиферация клеток, несущих химерный ген BCR/ABL, ничем не ограничена, постепенно будет нарастать разнокачественность опухолевых клеток. Преимущество в росте получают те из них, которые в силу случайных причин окажутся наименее зависимыми от системы нормальной регуляции гемопоэза или наиболее устойчивыми к лекарственным препаратам. В результате будет нарастать рефрактерность к проводимому лечению, опухолевые клетки потеряют способность к дифференцировке и разовьется бластный криз (либо появятся очаги саркомного роста).

В свое время (1985 г.) закономерности опухолевой прогрессии гемобластозов были сформулированы следующим образом [6].

1. Гемобластозы, как правило, проходят две стадии: моноклоновую (доброкачественную) и сменяющую ее поликлоновую (злокачественную); при разных формах гемобластозов смена стадий происходит с неодинаковой частотой и через разные промежутки времени.
2. Важнейшей особенностью гемобластозов яв-

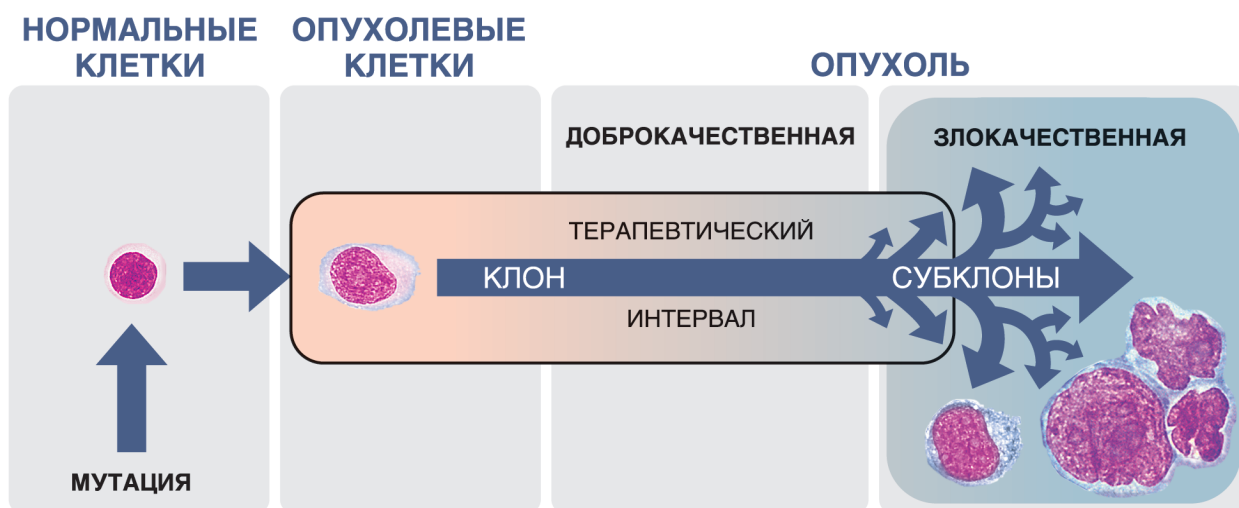


Рис. 2. Схема опухолевой прогрессии.

ляется угнетение нормальных ростков кроветворения, в первую очередь нормального гематопоэза опухолевых клеток.

3. Закономерна смена дифференцированных клеток, составляющих опухоль при хронических лейкозах, бластными или саркомными, определяющими развитие либо бластного криза, либо гематосаркомы.
4. Иммуноглобулинсекретирующая лимфатическая или плазмочитарная опухоль может потерять способность к секреции, что сопровождается качественными изменениями в поведении опухоли.
5. Форма ядра и цитоплазмы бластных или саркомных клеток претерпевает скачкообразные или постепенные изменения от округлой к неправильной и большей по размерам.
5. Все внекостномозговые гемобластозы (не лейкемические) способны метастазировать в костный мозг, т.е. лейкемизироваться.
6. Метастазы гемобластозов вне органов кроветворения отражают появление нового, адаптированного к данной ткани субклона, метастазы ведут себя в разных органах независимо, нередко они имеют разную чувствительность к полихимиотерапии и разную морфологию опухолевых клеток.
7. В условиях современной цитостатической терапии появление резистентности к ранее эффективному лечению опухоли означает качественно новый этап ее развития; в рецидиве опухоль иногда вновь оказывается чувствительной к прежней цитостатической терапии, если пролиферируют клетки опухолевого клона, доминировавшего до развития рецидива.

Фулдс подчеркивал независимость прогрессии в разных очагах опухолевого роста. Нет оснований сомневаться в принципиальной возможности появления новых опухолевых вариантов, новых субклонов в метастазах какой-либо опухоли. Вместе с тем, опыт изучения лимфогранулематоза, гематосарком показал, что способность к прогрессии значительно больше выражена в очаге первичного роста, чем в «дочерних», метастатических очагах. Так, например, рефрактерный к прежде эффективным схемам полихимиотерапии рецидив лимфобластной саркомы, лимфогранулематоза чаще наблюдается в той группе лимфоузлов, которые были вовлечены с самого начала заболевания [7].

Зрелоклеточные опухоли лимфатической системы на доброкачественной стадии своего развития характеризуются совокупностью следующих признаков:

1. Морфологической зрелостью опухолевых клеток и их однообразием, т.е. отсутствием атипизма и полиморфизма.
2. Стабильностью клинической картины и медленным увеличением опухолевой массы (постепенное нарастание лимфоцитоза, размеров лимфоузлов, селезенки и других очагов первичного поражения).
3. Отсутствием субклонов при кариологическом анализе (а если определяются два субклона – стабильным их существованием).

Саркомная трансформация зрелоклеточной лимфатической опухоли клинически достаточно очерчена и заключается в появлении качественных изменений течения опухоли – признаков опухолевой прогрессии:

1. Появлении одного или группы очень плотных лимфоузлов; образование плотного неподвижного конгломерата; прорастание опухоли в соседние ткани и органы (жировую клетчатку, кожу, печень, легкое и другие нелимфатические органы), что может сопровождаться симптомами сдавления вен, мочеточников, нервных стволов и блокады лимфооттока.
2. Вовлечении лимфоузлов нетипичной для доброкачественной лимфатической опухоли локализации (кубитальных, подколенных); при хронических лейкозах и лимфомах с исходной локализацией опухолевых очагов в лимфоузлах и селезенке – появления экстранодальных метастазов (например, в коже, серозных и слизистых оболочках, легком, головном или спинном мозге и других органах и тканях).
3. Развитии устойчивости к прежде эффективному лечению.
4. Нарастании угнетения нормального кроветворения.
5. Омоложении клеточного состава опухоли, нарастание ее пролиферативной активности (увеличение числа митозов, количества Ki-67 или PCNA-позитивных клеток).
6. При секретирующих опухолях – иногда в прекращении секреции, изменении качественного состава парапротеина (появление дополнительных моноклонов).
7. Появлении множественных хромосомных aberrаций.