

# ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РОСТ ОПУХОЛИ И ПОДХОДЫ К НЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОМУ МЕТОДУ ЕЕ ЛЕЧЕНИЯ. АЛЬТЕРНАТИВНОЕ МНЕНИЕ

**Ф.В. Доненко**

Лаборатория клеточного иммунитета ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Цель исследования.** Провести систематический анализ данных, имеющихся в современной литературе, о факторах, влияющих на рост опухоли и подходы к не цитотоксическому методу ее лечения.

**Материал и методы.** В обзор включены данные зарубежных и отечественных статей по данной теме.

**Результаты.** В реальность ускорения роста опухоли после удаления первичного опухолевого узла мы начинаем верить, когда наблюдаем за развитием рецидивов и метастазов опухоли. Кажется невероятным, что фактор, способный специфически ускорять деление миллионов опухолевых клеток, нельзя не то что померить количественно, но даже зарегистрировать его наличие в сыворотке крови. Приведены данные, что опухолеспецифические белки являются антипротеазами (серпинами) и именно они защищают опухолевые клетки от катепсинов иммунокомпетентных клеток. Поэтому специфическая антипротеазная-протеазная активность сыворотки крови является необходимым условием роста опухоли в организме. Обнаружена фракция сыворотки крови животных и людей, которая способна сдвигать равновесие в сторону регрессии опухоли. Была получена регрессия по крайней мере двух опухолей: асцитной формы карциномы Эрлиха и солидной аденокарциномы яичников мыши CaO1. Излеченные мыши жили без признаков опухоли не менее года. На гистологических регрессирующей опухоли не было отмечено никакой клеточной иммунной реакции. Автор предполагает, что данный подход можно использовать для лечения онкологических заболеваний.

**Заключение.** Представленные данные подчеркивают необходимость проведения дальнейших исследований в направлении изучения факторов, влияющих на рост опухоли, и разработки подходов к не цитотоксическому методу ее лечения.

**Ключевые слова:** излечение опухоли, белки сыворотки крови, равновесие протеаза-антипротеаза.

## FACTORS AFFECTING TUMOR GROWTH AND APPROACHES TO NON-CYTOTOXIC METHOD OF ITS TREATMENT. ALTERNATIVE OPINION

**F.V. Donenko**

Laboratory of Cellular Immunity of Federal State Budgetary Institution "N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

**Objective of the study** is to carry out an analysis of the data available in current literature on the factors affecting tumor growth and approaches to non-cytotoxic methods of its treatment.

**Materials and Methods.** The review comprises the data of foreign and Russian academic articles on the subject.

**Results.** We start to believe in the reality of tumor growth acceleration after the removal of primary tumor node, when we observe the development of recurrence and tumor metastasis. It seems incredible that a factor capable to specifically accelerate the division of millions of tumor cells, not only can't be measured quantitatively, but it's not even possible to detect its presence in blood serum. The article provides the evidence that tumor-specific proteins are antiproteases (serpins) and it is they which protect tumor cells from cathepsins of immunocompetent cells. So specific antiprotease-protease activity of blood serum is a necessary condition of tumor growth in the body. A fraction of human and animal blood serum which is capable of shifting the equilibrium towards tumor regression, has been discovered. Regression of at least two tumors was achieved: Ehrlich ascites carcinoma and solid ovarian adenocarcinoma of the mouse CaO1. Mice that had been treated lived without any signs of tumor for at least a year. No cellular immune response was observed in histological tumor regression. The author suggests that this approach can be used for the treatment of oncologic diseases.

**Conclusion.** The data presented in the article underscore the need for further investigation of the factors affecting tumor growth and development of the approaches to non-cytotoxic method of its treatment.

**Keywords:** cure of the tumor; blood serum proteins, protease-antiprotease equilibrium.

*Ускорение роста опухоли после удаления первичного узла. Сывороточный опухоль-специфический фактор*

В современной онкологии есть явления, которые были открыты и описаны более ста лет назад, но и по сей день остаются неизученными. Они не утратили своей актуальности, но из-за их загадочности им практически не уделяют внимания, так как абсолютно непонятно, с чего начать их изучение. В настоящем обзоре будут подробно описаны два таких явления:

1) ускорение роста опухоли после удаления первичного опухолевого узла;

2) сывороточный опухоль-специфический фактор.

Во Всесоюзном онкологическом научном центре в 80-х годах прошлого столетия основатель учреждения и его бессменный руководитель академик Н.Н. Блохин часто рассказывал об этом явлении в качестве примера «краха амбициозности американцев». По его словам, к 200-летию образования США власти этой страны решили избавить человечество от онкологических заболеваний. Для этого были выделены рекордные на тот момент бюджетные средства в 1 млрд долларов и определены основные направления в научном поиске. Приоритетным было выбрано одно явление — ускорение роста опухоли после удаления первичного опухолевого узла. Почему именно это явление было выбрано ключевым для поиска путей лечения опухолей? Потому что оно объединяло в себе центральную проблему всех опухолей различного генеза — рецидивирование болезни.

Действительно, опухолевые клетки различного генеза имеют различную морфологию, определяют различное течение заболевания, различную чувствительность к цитостатикам или облучению. Поэтому необходимо подбирать условия лечения каждой опухоли индивидуально. Накопленные научные данные позволяли утверждать, что механизм рецидивирования у всех опухолей общий [18, 19, 20, 21]. Поэтому логическое умозаключение было простым: подавив рецидив, вылечим опухоль. Нужно только изучить механизм развития рецидива.

Американские исследователи настолько были уверены в том, что к юбилею страны

решат проблему лечения онкологических заболеваний, что всем старшим научным сотрудникам Онкологического центра в СССР регулярно доставляли журналы со статьями Национального онкологического центра в Бетезде, чтобы ни у какого советского ученого не было сомнений в лидерстве американской науки [22].

Специально для решения этой научной проблемы была создана лаборатория, которая просуществовала до 2000 года. И хотя поставленную задачу она не выполнила и за эти 40 лет опубликовала только одну полноценную статью, именно этот научный труд является наиболее полным и последовательным из-за объема вложенных средств в исследование этого явления [11].

Результаты этих работ обескураживают. Исследователи изучали на мышах шесть перевиваемых опухолевых штаммов. Каждой мышке исследуемый опухолевый штамм перевивали таким образом, чтобы у нее образовывалось два опухолевых узла. Эти узлы различались по размеру. Различия в размере достигались за счет того, что исходное количество опухолевых клеток в одном инокуляте было в 10 раз больше, чем в другом. При достижении опухолевым узлом крупного размера (1000 мм<sup>3</sup>) его удаляли и изучали реакцию более мелкого узла на удаление. В контрольной группе животных лишь имитировали хирургическое вмешательство, но опухолевый узел не удаляли.

Показали, что после удаления крупного опухолевого узла в мелком узле возрастает количество митозов. Это увеличение числа митозов было не одинаковым, а зависело от исходных характеристик опухоли. Если исходно опухоль имела высокий митотический индекс, то удаление первичного узла увеличивало количество митозов в остаточной опухоли в 1,5–2 раза. Если же исходно опухоль имела низкий митотический индекс, то удаление первичного опухолевого узла увеличивало митотический индекс остаточной опухоли на 10–15%. В контрольной группе мышей имитация хирургического вмешательства не приводила к изменению числа митозов в остаточной опухоли. Максимальное увеличение числа митозов в остаточной опухоли наблюдалось через 24 ч после операции,

а затем снижалось. Если у животных с удаленной опухолью собрать кровь на пике стимуляции митозов и ввести ее неоперированным животным с соответствующей опухолью, то также наблюдается возрастание количества митозов. Это возрастание числа митозов было специфичным, т.е. оно наблюдалось только у мышей с тем типом опухоли, которая была удалена.

Явление ускорения роста опухоли после удаления первичного опухолевого узла объяснялось существованием сывороточного опухолевого стимулирующего фактора (СОСФ). В эксперименте на животных показали, что в крови содержится СОСФ. Казалось бы, дело за малым. Сыворотку с идентифицированной активностью СОСФ необходимо разделить на фракции, определить, в какой фракции содержится активность, продолжить очистку этой фракции до полной очистки и идентификации СОСФ. Однако следующая публикация этих авторов вышла только через 10 лет. Из этой публикации стало понятно, что очистить и идентифицировать СОСФ им не удалось.

Резонанс от этой статьи был как среди онкологов-экспериментаторов, так и среди клинических онкологов. Научные сотрудники-экспериментаторы беспрекословно приняли описанные в статье эффекты и использовали их своей работе. Так, удаление первичного опухолевого узла стало использоваться для моделирования индукции метастазирования опухолей [2, 5, 6, 14, 15, 36]. А ускорение деления клеток использовалось для быстрого получения резистентных к цитостатикам клеток. Если в стандартных условиях для получения резистентных к цитостатику клеток требовался как минимум год, то использование эффекта ускорения сокращало получение резистентного штамма до 3 мес [22, 23].

В клинике результаты статьи были восприняты неоднозначно. Клиницисты, которые были воспитаны на догмате абластики в онкологии, были дезориентированы известием о существовании СОСФ в крови. Ведь это заведомо компонент опухолевого роста, который невозможно удалить из крови больного. Тем не менее все клиницисты признали существование СОСФ [24, 26, 27, 28, 35]. Только их признания имели различное выражение.

Почему же американским ученым не удалось установить природу СОСФ? С нашей точки зрения, причин две:

1) неудача связана с тем, что их экспериментальная модель была очень травматична для животных;

2) они зарегистрировали не ускорение роста опухоли после удаления первичного узла, а кратковременную блокировку роста опухоли, а поскольку искали эффект, которого нет, то они его и не нашли.

Процедура удаления опухоли сопровождалась наркозом, кровопотерей, образованием раневой поверхности, нарушением контактного торможения клеток тканей организма. Можно и нужно упростить изучение СОСФ в эксперименте. Для этого достаточно взять асцитную форму опухоли. В этом случае для индукции СОСФ нет необходимости в хирургическом вмешательстве для удаления злокачественных клеток. При асцитной форме опухоли достаточно просто отобрать шприцем часть асцита, содержащего взвесь опухолевых клеток. Нет хирургической или химической травмы, раневой поверхности, контактного торможения опухолевых клеток, нет изменения концентрации опухолевых клеток в асците, так как они удаляются совместно с асцитической жидкостью.

По второй причине неудачного поиска отметим следующее: если опухоль ускоряется в росте и растет быстрее, то гибель организма от опухоли тоже должна наблюдаться быстрее. А в реальности этого не наблюдается. Например, если мышам перевить меланому В16, то эта опухоль вызывает гибель животных от 35-го по 45-й день после перевивки опухоли. На 20-й день роста у части животных можно удалить крупный первичный узел этой опухоли. Казалось бы, гибель оперированных животных должна сдвинуться на 20 дней. Но в реальности средняя продолжительность жизни оперированных и не оперированных животных не отличается. То есть лечебный эффект в онкологии не зависит от количества удаленных опухолевых клеток [15].

Учитывая вышесказанное и результаты, полученные в США, была выбрана другая модель для изучения этого явления — модель асцитной формы карциномы Эрлиха. Анализ асцитиче-

ских клеток проводили методом проточной цитофлуорометрии. Данная модель позволила зафиксировать четыре новых экспериментальных факта [10].

Первый факт состоит в том, что удаление опухолевых клеток вызывает морфологические изменения в оставшихся клетках карциномы в ранние сроки — в течение 0,5–1 ч после процедуры. Этот факт позволяет утверждать, что выработка СОСФ — это очень динамичный процесс, схож по динамичности со свертывающей-антисвертывающей системой крови.

Второй факт состоит в том, что морфологические изменения в оставшихся опухолевых клетках количественные, т.е. чем большее количество асцита удаляется из брюшной полости, тем в большем количестве оставшихся клеток карциномы отмечаются морфологические изменения.

Третий факт состоит в том, что чем большее количество асцита удалено, тем выше активность СОСФ. Например, для карциномы Эрлиха в контроле митотический индекс опухоли составляет 16%, но при максимально полном удалении асцита митотический индекс опухоли достигает 90%! То есть процент делящихся клеток возрастает в 5 раз.

Четвертый установленный экспериментальный факт состоит в том, высокая активность СОСФ по увеличению синтеза ДНК регистрируется только в течение 24 ч. после удаления опухоли. Очевидно, что за это время удаленный объем опухоли восстановиться не успеет. Логично предположить, что СОСФ вырабатывается опухоленосителем постоянно и поглощается опухолью в определенном количестве. Именно эта постоянная выработка определяет митотический индекс опухоли. После удаления опухолевого узла поглощение СОСФ снижается, и его концентрация в сыворотке крови повышается в результате неизменной его выработки. Но такое повышение СОСФ не безгранично, и в организме включается обратная связь, которая блокирует выработку СОСФ. Учитывая продолжительность клеточного цикла мышиных клеток, можно ожидать, что блокировка выработки СОСФ начинается через 5 ч после элиминации опухолевых клеток.

Таким образом, использование новой экспериментальной модели изучения СОСФ позволило установить новые экспериментальные данные и поставило новые вопросы.

1. Мы имеем дело не с ускорением роста опухоли, а с кратковременной компенсаторной блокировкой роста опухоли. Это блокировка локального кровотока в опухоли развивается через 5–6 ч. Остается неясным характер блокирующего явления. Эта блокировка быстро обратима или нет?

2. Обладает ли СОСФ опухолевой специфичностью? То есть может ли СОСФ, образовавшийся в ответ на удаления карциномы, вызывать метастазирование меланомы?

3. Исходный митотический индекс опухоли определяется исходным уровнем СОСФ или опухоль может расти без СОСФ? А СОСФ образуется только при удалении первичного опухолевого узла.

4. Изменяется ли туморогенная способность штаммов опухолевых клеток через 5 ч после удаления первичного опухолевого узла?

5. Как проявляет свою активность СОСФ в экспериментальной химиотерапии?

6. Какие белки сыворотки крови опосредуют активность СОСФ?

### *Особенности блокирующего эффекта прекращения выработки СОСФ.*

#### *Краш-синдром*

Для проверки обратимости блокирующего эффекта прекращения выработки СОСФ был поставлен следующий эксперимент. Мышам подкожно инокулировали клетки карциномы Эрлиха. После того как опухолевый узел достигал объема 1000 мм<sup>3</sup>, узел оттягивали и формировали кожную складку вокруг опухоли. На основании кожной складки накладывали мягкий зажим. Мягкий зажим был сделан таким образом, что имел зазор в 2,5–3 мм. Размер зазора соответствовал толщине кожной складки. Таким образом, зажим не блокировал кровообращение в опухолевом узле, но замедлял его. Контрольным животным накладывали зажим на кожную складку без опухолевого узла. Через 5 ч зажим снимали. Через 12 ч все животные, у которых зажим был наложен

на опухолевый узел, погибали. На вскрытии павших животных была обнаружена картина краш-синдрома, животные погибали от полиорганной недостаточности.

Полученные результаты можно интерпретировать как необратимость блокировки выработки СОСФ. Поскольку СОСФ, как было показано ранее, стимулирует митотическую активность клеток, то его блокировка, в свою очередь, блокирует деление клеток в организме. Очевидно, что нарушение деления клеток в метаболически активных органах организма (почки, печень, легкие) может приводить и приводит к их необратимому повреждению и гибели животных.

Полученный результат также свидетельствует о том, что СОСФ является фактором, регулирующим гомеостаз организма посредством регуляции числа делящихся клеток как в организме в целом, так и в отдельном органе. Очевидно, что у мышей без опухоли СОСФ должен отсутствовать.

В таком случае возникает вопрос: в течение какого времени после перевивки опухолевых клеток мыши в организме начинается выработка СОСФ [5]? Ответить на него поможет анализ опыта экспериментальной химиотерапии.

### *Как проявляет свою активность СОСФ в экспериментальной химиотерапии?*

Как известно, поиск новых противоопухолевых препаратов начинается с отбора цитотоксических субстанций. Затем отобранные субстанции изучают на противоопухолевую активность на сигнальных перевиваемых штаммах опухолей мышей. Оценивают эффект действия потенциальных противоопухолевых препаратов с помощью общепринятых критериев. Эти критерии и условия их применения описаны в совместной советско-американской монографии [22]. Если провести их логический анализ, то становится понятно, что они противоречат друг другу.

Первый критерий, предложенный в монографии, называется критерием увеличения продолжительности жизни (УПЖ) [22]. Логика проста и не вызывает вопросов. Есть мышь с перевитой опухолью. Ей вводят противоопу-

холевый препарат. Препарат вызывает гибель опухолевых клеток. И леченная мышь живет дольше по сравнению с нелеченной, т.е. наблюдается увеличение продолжительности жизни животного в результате лечения. Чем больше опухолевых клеток погибло, тем дольше живет животное. Продолжительность жизни животного зависит от количества погибших опухолевых клеток [5, 7].

Второй критерий, который предлагает данная монография, называется критерий торможения роста опухоли (ТРО). Логика его непонятна и вызывает вопросы. Есть мышь с перевитой опухолью. Ей вводят противоопухолевый препарат. Препарат вызывает гибель опухолевых клеток. И рост опухоли тормозится. Например, торможение опухоли составляет 100% с 10-го по 20-й день после трансплантации опухолевых клеток. Это значит, что с 10-го по 20-й день наблюдения визуально опухоль у мыши не определялась. Однако увеличения продолжительности жизни леченных животных не наблюдается. Ситуация полностью тождественна ситуации с хирургическим удалением первичного узла меланомы В16, которая была описана ранее. И эффект также тождественен. Уничтожение опухолевых клеток не приводит к увеличению продолжительности жизни леченных животных, т.е. лечебный эффект не зависит от количества элиминированных клеток меланомы В16 [5, 7].

Возникает вопрос: существуют ли различия во временных интервалах при проведении экспериментов, полностью меняющие стратегию лечения опухолей? Различие только одно — это временной промежуток между инокуляцией опухолевых клеток в мышь и началом лечения. Если временной промежуток меньше 48 ч, то лечебный эффект измеряется критерием УПЖ. Если временной промежуток больше 72 ч, то лечебный эффект определяется критерием ТРО [22].

Можно сделать вывод, что после инокуляции опухолевых клеток в мышь в течение 24–48 ч организм животного воспринимает опухолевые клетки как чужие и пытается их уничтожить. Препарат также уничтожает эти чужеродные клетки, и чем меньше опухолевых

клеток уцелеет в этой борьбе, тем дольше мышшь будет жить, т.е. мышшь отдельно, опухолевые клетки отдельно. Спустя 72 ч после инокуляции опухолевых клеток организм животного перестает воспринимать опухолевые клетки как чужие. Оставшиеся к этому времени в живых опухолевые клетки приняты им на «баланс» как свои стволовые. Поэтому уничтожение опухолевых клеток не актуально. Организм начал продукцию СОСФ, и сывороточный фактор начал поддерживать гомеостаз опухоли в организме животного.

В заключение отметим, что именно критерий ТРО используется наиболее часто для поиска новых противоопухолевых препаратов. Поэтому все противоопухолевые препараты, используемые сейчас в клинике, могут тормозить рост опухоли, но...

***Обладает ли СОСФ опухолевой специфичностью?***

Специфичность СОСФ можно доказать довольно простым экспериментом. Мышам-гибридам F1 пересадили в задние конечности меланому В16 (в правую конечность) и карциному Эрлиха (в левую конечность) [2]. Обе опухоли обладают высоким метастатическим потенциалом. Меланома В16 метастазирует в легкие. Карцинома Эрлиха метастазирует в брыжеечные лимфоузлы. Затем, после достижения опухолями размера около 1000 мм<sup>3</sup>, их удаляют. В первой группе удаляют правую конечность и спустя 18 дней наблюдают образование метастазов меланомы в легких и отсутствие метастазов в брыжеечных лимфоузлах. Во второй группе животных удаляют левую конечность и спустя 18 дней наблюдают образование метастазов карциномы в брыжеечных лимфоузлах и отсутствие метастазов меланомы в легких. В третьей группе удаляют обе опухоли и спустя 18 дней наблюдают образование метастазов меланомы в легких и метастазов карциномы Эрлиха в брыжеечных лимфоузлах. В четвертой группе первичные опухолевые узлы не удаляют. Метастазирование опухолей не происходит [2].

Данный эксперимент полностью согласуется с вышесказанным. Для специфической

индукции роста метастазов необходимо удалить первичный опухолевый узел. Удаление опухолевого узла приводит к росту метастазов.

***Изменяется ли туморогенная способность штаммов опухолевых клеток через 5 ч после удаления первичного опухолевого узла?***

Для того чтобы получить ответ на этот вопрос, был поставлен следующий эксперимент. Мышам перевивали асцитную форму карциномы Эрлиха. Затем, на 10-й день после перевивки опухоли, у животных отбирали не менее 5 мл асцитической жидкости (первичное удаление). Асцитическая жидкость в этот период времени наполовину состояла из опухолевых клеток. Поэтому отбор асцитической жидкости можно было рассматривать как удаление первичного опухолевого узла размером 1000–2000 мм<sup>3</sup>. После чего, через 3, 5 и 8 ч у животных отбирали асцитическую жидкость повторно, разводили в 10 раз в физиологическом растворе и вводили по 0,2 мл на мышшь внутрибрюшинно. Рост опухоли оценивали по накоплению асцита через 14 дней.

Было показано, что асцитная форма карциномы Эрлиха развивалась в 100% случаев, если асцит для трансплантации был взят первично, через 3 и 8 ч. Если асцит был взят через 5 ч после первичного удаления асцита, то в 90% опухолевого роста не наблюдалось.

Данный эксперимент хорошо согласуется с результатами, приведенными ранее о блокировании выработки СОСФ через 5 часов после удаления первичного опухолевого узла. Однако помимо клеток карциномы асцитическая жидкость содержала иммунокомпетентные клетки. Поэтому возник вопрос: блокировка выработки СОСФ снижает туморогенность опухоли за счет подавления роста собственно клеток карциномы, или эффект опосредован через иммунокомпетентные клетки [8, 10]?

Для ответа на этот вопрос был поставлен следующий эксперимент [3]. Асцитическую жидкость, взятую через 5 ч после первичного отбора, инкубировали 30 мин в пластиковых чашках в СО<sub>2</sub>-инкубаторе. За это время часть иммунокомпетентных клеток прилипла

к пластику. Было показано, что отсутствие прилипших клеток при перевивке опухоли полностью восстанавливало туморогенную способность карциномы Эрлиха. Данный результат свидетельствовал о действии СОСФ на рост опухоли опосредовано через иммунокомпетентные клетки. Кроме того, он позволил провести идентификацию СОСФ как серпины [9].

Еще одним важным результатом данной работы явился тот факт, что мыши, у которых опухоль не развилась, были резистентными к повторной перевивке опухолевых клеток. Эти результаты были доложены на ученом совете института и были отвергнуты как невозможные. Была создана комиссия по проверке этого явления. Явление было воспроизведено «третьими лицами» [3, 8].

В статье американских исследователей был описан еще один очень важный эффект [11]. Введение сыворотки крови животных с удаленной опухолью животным с остаточной опухолью увеличивало в ней число митозов. И этот эффект был опухолеспецифичным, он был показан для шести различных опухолей СЗН, МХТ, МI, MCS4, CDS and 3LL. Если же сыворотку крови с этой специфичной активностью вводить животным с остаточной опухолью, то увеличение числа митозов наблюдалось во всех фракциях, которые были изучены американскими учеными. И этот эффект уже не был опухолеспецифичным [11]. Фактически появление этой неспецифической активности стимулирует митозы во всех фракциях и привело к неудаче работы по идентификации СОСФ. Действительно, как идентифицировать СОСФ, если активность есть во всех фракциях и она неспецифическая.

Такие результаты говорили о том, что выбранные методы исследования непригодны для решения поставленной задачи. Используемые фракции сыворотки крови сами обладают способностью влиять на деление опухолевых клеток. Данный эксперимент позволял обходить факт неспецифичности, активируя клетки различными фракциями *in vitro*. А затем, вводя активные клетки животным, изучать изменения в росте опухоли.

### *Какие белки сыворотки крови опосредуют активность СОСФ*

Выше был приведен пример эксперимента противоопухолевой активации клеток мышей, включающий этап *in vitro* (30-минутная инкубация асцитической жидкости на плашках) [3, 8, 9]. Использование подобного подхода позволило провести идентификацию СОСФ.

Логика эксперимента состояла в следующем. Организм мыши с опухолью представляет сбалансированную систему. Удаление опухоли приводит к нарушению равновесия, и происходит увеличение концентрации СОСФ, которое стремится это равновесие восстановить. Однако для того, чтобы нарушить равновесие, необязательно удалять опухоль. Достаточно взять иммунокомпетентные клетки от мышей без опухоли и различные белковые фракции асцитической жидкости и проинкубировать их 5 ч. Такая инкубация должна вызвать реакцию в клетках здоровой мыши на восстановление баланса «здоровья» против опухоли. Проанализировав состав активной фракции и поглощенные белки, можно будет сказать, какой белок выполняет функции СОСФ.

Был поставлен следующий эксперимент. Каждая из шести фракций асцитической жидкости инкубировалась с лейкоцитами здоровой мыши. Фракции отличались по составу белков. Первая фракция содержала белки выше 300 кДа, вторая — от 300 до 100 кДа, третья — от 100 до 50 кДа, четвертая — менее 50 кДа, пятая фракция содержала гликозилированные белки, шестая фракция была контрольная. Лейкоциты здоровых мышей инкубировали с этими фракциями 5 ч. Затем их отмывали центрифугированием и вводили интактным мышам. Спустя две недели всем мышам перевивали карциному Эрлиха, рост которой оценивали через две недели после перевивки. Белки названных фракций после инкубации разделяли с помощью электрофореза и оценивали изменение белкового состава до и после инкубации с клетками.

После инкубации клеток в этих фракциях перестал определяться альфа-антитрипсин, и в то же время была обнаружена секреция в среду инкубации катепсина L1. При анализе белковых полос методом протеомного анализа

был обнаружен комплекс катепсина с анти-трипсином. Поэтому поглощение клетками антитрипсина было интерпретировано как его участие в блокировке роста опухоли. Следовательно, СОСФ относится к антипротеазам, а реализация его активности происходит при взаимодействии с катепсинами иммунокомпетентных клеток. Было установлено, что мыши, которые получили иммунокомпетентные клетки, контактировавшие с белками первой и третьей фракции, приобрели резистентность к карциноме Эрлиха [8, 9].

Объяснить полученные результаты можно следующим образом. В организме существует система, регулирующая количество клеток и тканей многоклеточных организмов. В определенной степени данная регуловка осуществляется взаимодействием протеаз-антипротеаз (серпинов). То есть принципы ее работы сходны с принципами работы свертывающей-антисвертывающей системы крови, но они более глобальны и в то же время локальны для тканей и органов. Печень вырабатывает серпины (антипротеазы), а иммунные клетки, ассоциированные с органами и тканями организма, секретируют свой специфический только для этого органа набор протеаз (катепсинов). Серпины печени специфически количественно защищают ткани и органы организма (в том числе и опухоль) от действия протеаз, позволяя строго определенному количеству клеток делиться. Это строго определенное количество делящихся клеток и формирует митотический индекс опухоли.

Удаление первичного узла приводит к уменьшению количества делящихся клеток на фоне стабильной продукции серпинов печенью, что приводит к увеличению процента делящихся клеток в остаточной опухоли, хотя абсолютное количество делящихся клеток опухоли не меняется. Именно поэтому удаление опухолевых клеток не приводит к увеличению продолжительности жизни леченных животных. То есть речь идет о химической реакции и химическом равновесии, которое регулируется не на уровне простых молекул, как это было в неорганической химии, а на уровне крупных белков и клеток. И результатом этого равновесия является многоклеточный организм.

Чтобы было легче понять специфичность уровня регуляции процесса, приведем такой пример. Простой одноклеточный микроорганизм *Klebsiella pneumoniae* секретирует протеазу размером около 20 кДа [33]. Эта протеаза весьма эффективно разрушает белки млекопитающих и птиц, но не гидролизует белки микроорганизма. Биологическое значение этого эффекта очевидно. Бактерии опасно секретировать ферменты, которые ее уничтожат. Но существование этого механизма означает, что даже у одноклеточных существует «иммунная» система, распознающая «свой — чужой». И эта иммунная система — протеазы. Известно, что для реализации протеазной активности белку достаточно иметь вес всего 6 кДа, т.е. 70% протеазы клебсиеллы — это система распознавания. Протеазы млекопитающих имеют вес свыше 100 кДа, т.е. свыше 90% молекулы протеаз млекопитающих — это система распознавания «свой — чужой» [5].

Интересно, что справедливой является и обратная ситуация. Серпины — это строго специфические антипротеазы. Не секрет, что существуют внекишечные паразиты. Каким образом они «обходят» иммунную систему? Показано, что плоские гельминты шистосомы и эхинококки на 10–20% состоят из белка с высокой степенью гомологии к серпину человека [32]. То есть гельминт вырабатывает серпин, который специфически защищает его от протеаз иммунокомпетентных клеток. И совсем неожиданным является тот факт, что трансплантированная реципиенту печень пользуется той же защитой от иммунной системы хозяина, продуцируя серпины и тем самым защищая самое себя. Именно благодаря такой продукции серпинов у 30% больных с трансплантированной печенью иммунодепрессивная терапия не проводится [14].

Ранее в работах А.Г. Бабаевой было показано, что удаление одного из парных органов в организме крыс приводит к увеличению митотической активности клеток в оставшемся органе. Причем временные интервалы увеличения митотической активности (в ее работах максимум митотической активности отмечается через 17 ч) сопоставимы с временными интервалами



увеличения митотической активности после удаления опухоли.

Среди современных работ, которые подтверждают существование системы количественной регуляции роста тканей в организме, стоит упомянуть такой вид косметологических операций, как липосакция. После операции липосакции развивается состояние липоматоза. В литературе по понятным причинам не удалось найти описания роста липом в подкожной клетчатке, но факты, когда эти липомы растут в пищеводе, трахее, под капсулой почки и угрожают жизни пациента, скрыть гораздо сложнее [29, 30, 31]. Жировая клетка, по сути, приобретает свойства злокачественной (рецидивирование и метастазирование) [14].

Развитие краш-синдрома связано с тем, что происходит кратковременное нарушение кровоснабжения органа (около 5 ч), которое приводит к снижению выработки серпина печенью. При восстановлении кровоснабжения органа общее количество серпина, вырабатываемого печенью, не может защитить органы и ткани организма от катепсинов иммунокомпетентных клеток, так как эта регуляция строго количественная. В результате массивной атаки протеазами иммунных клеток на делящиеся клетки организма происходит их гибель.

### *Специфичность катепсинов иммунокомпетентных клеток по отношению к перевиваемым штаммам опухолей*

Чтобы доказать специфичность серпинов, для каждой опухоли был поставлен эксперимент на животных [1]. Для этого был использован описанный выше способ инкубации лейкоцитов с белками сыворотки крови мышей с меланомой и без опухоли. Было сформировано четыре группы (по пять мышей в каждой) в зависимости от источника получения катепсина. Клетки меланомы В16 инкубировали с полученными катепсинами, а затем перевивали их подкожно в левую подмышечную область. В первой группе мышам вводили клетки меланомы В16, инкубированные с катепсином, полученным от иммунокомпетентных клеток здоровых мышей, во второй группе — от мышей

с меланомой В16, в третьей группе — от мышей с удаленной меланомой В16, в четвертой группе — от мышей с удаленной карциномой Эрлиха.

Через 30 сут после трансплантации клеток меланомы В16 по одному животному из каждой группы выводили из эксперимента для регистрации пигментных пятен. Оставшихся четырех мышей наблюдали в течение года для регистрации развития опухоли.

У мыши, которой трансплантировали клетки меланомы В16, полученные после инкубации с катепсином, выделенным от интактного животного, в левой подмышечной области развился опухолевый узел. Однако, несмотря на развившийся узел, пигментация в подкожной клетчатке отсутствовала.

У мыши, которой трансплантировали клетки меланомы В16, предварительно инкубированные с катепсином, полученным от мыши с меланомой В16, развился большой подкожный опухолевый узел в левой подмышечной области с выраженными явлениями гипостаза. Тем не менее развития пигментации подкожной клетчатки клетками меланомы В16 не наблюдалось.

Мышей из третьей группы, которым трансплантировали клетки меланомы В16, предварительно инкубированные с катепсином, полученным от мышей с удаленной меланомой В16, выводили из эксперимента в разные сроки: через 30 сут и один год. Однако ни у одной мыши не наблюдалось развитие опухолевого узла, но наблюдалось развитие пигментации подкожной жировой клетчатки клетками меланомы В16.

У мышей четвертой группы, которым трансплантировали клетки меланомы В16, инкубированные с катепсином, полученным от мышей с удаленной карциномой Эрлиха, наблюдалось развитие опухолевого узла в левой подмышечной области. Средняя продолжительность жизни мышей в первой, второй и четвертой группах, у которых развивался опухолевый узел, составляла чуть больше 30 сут и достоверно не различалась. В третьей группе, где наблюдалось развитие только пигментных пятен, средняя продолжительность жизни была более года.

Способность клеток формировать опухолевый узел в системе *in vivo* является абсолютным критерием злокачественности опухолевых клеток. Меланома B16 — одна из самых злокачественных трансплантируемых опухолевых штаммов. Размер клеток меланомы B16 таков, что пигментное пятно размером 1 мм<sup>2</sup> содержит порядка 1 млн опухолевых клеток. Размер пигментных пятен достигал 6 см<sup>2</sup>. Минимальная прививочная доза клеток меланомы, которая гарантированно формирует опухолевый узел, — 25 000 клеток/мышь. Пигментные пятна имеют размер, значительно превышающий 1 мм<sup>2</sup>, следовательно, их клетки способны сформировать опухолевый узел [12]. Однако формирование опухолевого узла не происходит, что указывает на то, что мы имеем дело не с опухолевыми клетками, а с меланоцитами. Хотя сам факт формирования крупного пигментного пятна свидетельствует о том, что клетки имеют высокую пролиферативную активность. Формирование пигментного пятна клетками меланомы B16 описано впервые.

Полученные результаты позволяют сделать несколько выводов. Первый вывод состоит в том, что в организме-опухоленосителе содержатся иммунокомпетентные клетки, вырабатывающие катепсины, которые способны полностью подавить рост даже такой агрессивной опухоли как меланома B16. Однако у мышей с опухолью секреция таких катепсинов при обычном росте опухоли не наблюдается. Для того чтобы началась активная секреция катепсинов с противоопухолевой активностью, необходимо нарушить баланс организм — опухоль, в котором развивается опухоль — меланома B16. Но даже нарушение баланса организм — опухоль индуцирует выработку катепсинов с противоопухолевой активностью в строго определенные временные промежутки (через 5 ч после нарушения равновесия и только в течение 2 ч). Почему явление наблюдается в такие определенные промежутки времени, не ясно. Но существование этого явления предъясняет серьезные требования к разрабатываемым клеточным вакцинам. Современные разработчики клеточных вакцин (ЛАК-вакцины, дендритные

вакцины, CAR-вакцины) вообще не рассматривают влияние временного фактора на активность клеток.

#### *Физико-химический аспект роста опухоли*

Экспериментальные факты, полученные ранее, указывают на то, что именно организм хозяина подстраивается под опухоль, создавая условия для ее роста, а не наоборот. Например, СОСФ — это серпин, который почти полностью регулирует скорость роста опухоли. Однако одним этим фактором «уступка» организма опухоли не ограничивается.

Внутренняя среда организма представляет собой концентрированный, насыщенный водный раствор. Малейшие изменения концентрации макромолекул (обезвоживание организма) проводят к их ассоциации. Самый известный пример агрегации биологических структур — это образование монетных столбиков эритроцитами крови. Эти монетные столбики представляют собой осадок, образующийся при повышении концентрации эритроцитов [25]. То есть в данном случае биологический комплекс образуется в присутствии нормальных антигенных детерминант при повышении их концентрации, так как при повышении концентрации молекул взаимодействие сдвигается в сторону ассоциации молекул при неизменной константе.

При росте опухоли также происходит повышение количества (а, следовательно, концентрации) антигенных детерминант, локализованных на поверхности опухолевых клеток. В этом случае, исходя из незыблемости констант взаимодействия, так же должно происходить образование комплексов биологических макромолекул. Следовательно, опухоль в организме расти не может без так называемых уступок организма. Для сохранения гомеостаза и создания условий для роста опухолей в организме должны произойти изменения, которые будут блокировать нежелательные взаимодействия макромолекул.

Наиболее яркая адаптационная реакция на рост опухоли наблюдается в крови мышей. У здоровых мышей в крови не регистрируются белки острой фазы [16]. После трансплантации

животным асцитной формы карциномы Эрлиха в сыворотке крови появляется 14 новых белков. Эти белки, по сути, создают условия для роста опухоли, связываясь с теми макромолекулами опухоли, которые образуют опасные для организма комплексы. Препятствовать образованию таких комплексов могут также изменения конформации сывороточных белков крови. К изменению конформации белковых молекул приводит, в частности, нарушение их гликозилирования [10].

Обнаружить изменение конформации белков сыворотки у мышей с меланомой В16 позволило использование оригинального подхода. Два белка сыворотки крови — альбумин и интер-альфа-антитрипсин — были выделены из крови интактной мыши и мыши с меланомой В16 [13]. Белки выделены в физиологических не денатурирующих условиях. Затем белки подвергнуты семитрипсинолизу. Протеаза гидролизует белки по доступным сайтам. Поэтому при одинаковой укладке аминокислотной последовательности сайты доступности этой последовательности для протеаз тоже должны совпадать. Было показано, что только примерно половина пептидов альбумина и серпина у мышей с опухолью и без была одинаковой. Но если объяснить изменение в структуре интер-альфа-антитрипсина изменением его гликозилирования, то альбумин относится к белкам, которые не гликозилированы. Поэтому изменения в его структуре имеют иную биохимическую природу.

Таким образом, рост опухоли в организме требует включения защитных механизмов, хотя, по сути, речь идет об уступчивости большого организма. Эти механизмы скрывают заболевание от организма. Подходы к лечению опухолей, возможно, заключаются в блокировке защитных механизмов.

### *Излечение карциномы Эрлиха после введения белков сыворотки крови*

Возможно ли заблокировать защитные механизмы? К белкам острой фазы относятся сывороточные амилоиды А1 и А2. Концентрация этих белков возрастает на фоне различных аутоиммунных заболеваний, повышаясь практиче-

ски безгранично. Избыточное количество белка откладывается в различных органах и приводит к развитию амилоидоза. Данный факт можно интерпретировать как отсутствие обратной связи и блокировки синтеза этих белков. Следовательно, такой защитный механизм заблокировать нельзя.

Выработка белка СОСФ после удаления первичного опухолевого узла, как было показано ранее, блокируется уже через 5 ч после хирургического вмешательства. За это времени в печени мыши синтезируется около 200 мг белков. В конкретной же фракции их будет намного меньше. Поэтому для поиска активной фракции, блокирующей СОСФ, можно применить слепой поиск, разбив сыворотку крови на различные фракции и вводя их животным с опухолью. Такая фракция была найдена. Это фракция, содержащая белки 300–400 кДа при очистке ее методом гель-фильтрации.

При проведении SDS гель-электрофореза данная фракция содержала белки 15, 65, 68 и 100 кDa. При проведении MALDI-TOF анализа в ней были определены гаптоглобин, сывороточный альбумин белок гомологичный  $\alpha$ -фетопротеину и гемоглобин- $\alpha$ . Введение этой фракции мышам с асцитной формой карциномы Эрлиха вызывало полную регрессию опухоли и излечение животных [8]. Если же клетки карциномы Эрлиха инкубировать с белками этой фракции в системе *in vitro*, то гибели клеток не наблюдалось. Этот факт дает нам право утверждать, что лечебный эффект белков этой фракции связан с блокировкой выработки СОСФ [3, 8].

Существует также другое объяснение развития противоопухолевого эффекта после введения белков сыворотки крови. Если рассматривать жизнь как химическую реакцию, то образование опухоли можно рассматривать как один из ее продуктов. В этом случае, согласно принципу Ле Шателье, удаление этого продукта будет сдвигать равновесие химической реакции в сторону его образования, т.е. в сторону ускоренного роста рецидива опухоли [6]. В этом случае количество белков в фракции не играет роли, так как для ее удаления важно сдвинуть равновесие химической реакции. Соответственно, ни-

какого фактора, опосредующего данное явление, нет. Это явление — проявление принципа Ле Шателье для химической реакции.

***Излечение мышей с распространенной аденокарциномой яичников CaO1 с помощью белков сыворотки крови***

Аналогичный результат по излечению опухоли был получен и для солидной опухоли аденокарциномы яичников CaO1 [4, 17, 34]. Белки сыворотки крови вводили в течение 10 дней, не отмечая никакого эффекта от введения. После 10-го введения рост опухоли замедлился, а затем объем опухоли начал уменьшаться. Когда объем опухоли уменьшился на 50%, опухолевый узел исследовали гистологически. Гистологическое исследование опухолевого узла мышей с аденокарциномой CaO1, получавших сыворотку крови мышей с той же опухолью, продемонстрировало типичную структуру аденокарциномы: опухолевые клетки сгруппированы в круглые образования, сами клетки крупные, с базофильными ядрами. На срезах опухолевого узла мышей с аденокарциномой CaO1, получавших сыворотку крови мышей через 24 ч после удаления опухоли, типичная структура аденокарциномы узла отсутствовала, опухолевые клетки располагались хаотично. При минимальном 10-кратном увеличении объектива было видно замещение участков опухолевой ткани соединительнотканными образованиями в опухолевом узле. Однако

на срезах не отмечалось инфильтрации опухоли иммунными клетками.

Таким образом, в экспериментах на животных с опухолью удается регистрировать полную регрессию как солидной, так и асцитной опухолей после введения белков сыворотки крови.

***Послесловие***

Предварительные результаты по изучению СОСФ активности в сыворотке крови человека показали, что белковая фракция сыворотки крови человека с перечисленными выше характеристиками способна вызывать регрессию опухоли человека. Таким образом, противоопухолевая активность и у человека, и у мышей определяется во фракциях сыворотки крови от 300 до 400 кДа и ее необходимо изучать.

Следует также понимать, что тканевой метаболизм у мелких животных примерно в 32 раза выше, чем у человека. Поэтому при действии СОСФ в человеческом организме будут, вероятно, в первую очередь наблюдаться другие эффекты. И эти эффекты будут связаны не с прямым противоопухолевым действием СОСФ (уменьшение линейных размеров опухоли), а с прекращением ее роста и снижением давления ее на ткани, т.е. прежде всего будет отмечаться уменьшение симптомов дискомфорта от высокого тургора опухолевого узла и снижение болевых ощущений.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Зайчикова С.Г., Доненко Ф.В., Кормош Н.Г., Киселевский М.В. Трансформация клеток злокачественной меланомы В16 в меланоциты под воздействием катепсина L1. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2020, Том 169. № 2. С. 217–220.
2. Ситдикова С.М., Аманджолов Б.С., Киселевский М.В., Доненко Ф.В. Специфичность рецидивирования и метастазирования экспериментальных перевиваемых опухолей карциномы Эрлиха и меланомы В16 // Бюл. exper. биол. 2007. Т. 143, № 1. С. 86–88.
3. Ситдикова С.М., Аманджолов Б.С., Серебрякова М.В., Жданович М.Ю., Киселевский М.В., Доненко Ф.В. Особенности взаимодействия гемоглобина с белками сыворотки крови мышей с карциномой Эрлиха // Бюл. exper. биол. 2006. Т. 141, № 5. С. 563–566.
4. Ситдикова С.М., Киселевский М.В., Сельчук В.Ю., Аманджолов Б.С., Курбатова Е.А., Доненко Ф.В. Оценка эффективности иммунотерапии карциномы яичников мышей CAO-1 Вакцинами на основе дендритных клеток // Бюл. exper. биол. 2009. Т. 147, № 2. С. 187–189.
5. Donenko F.V., Kiselevskii M.V. Efferth T. Quantitative regulation of melanoma growth in the host by tumor-specific serpins in blood serum is a main reason for inefficient tumor treatment // Breakthroughs in melanoma research / Ed. Y. Tanaka. Intech, 2011. P. 509–532.
6. Donenko F.V., Kiselewskii M.V., Efferth T. Surgical removal of primary tumors fosters distant metastasis. 7 May 2018. URL: <https://stm.sciencemag.org/content/10/436/eaan3464/tab-e-letters>

7. *Donenko F.V., Sitdikova S.M., Kabieva A.O., Moroz L.V.* The characteristics of Ehrlich carcinoma recurrence and metastasis // *Biull. Eksp. Biol. Med.* 1992. Vol. 114, N 12. P. 652–654.
8. *Donenko F.V., Sitdikova S.M., Syrtsev A.V., Gradyushko A.T., Kiselevsky M.V., Serebryakova M.V., Efferth T.* Hemoglobin-associated proteins isolated from blood serum of Ehrlich carcinoma-bearing mice // *Int.J. Oncol.* 2008. Vol. 32, N 4. P. 885–893. doi: 10.3892/ijo.32.4.885
9. *Donenko F.V., Ziganshin R.H., Anisimova N.Y., Voyushin K.E., Sitdikova S.M., Amandzholov B.S., Kiselevskii M.V., Efferth T.* Identification of serpin (alpha-1-antitrypsin) as serum growth inhibitory factor in murine ehrlich carcinoma by proteomics // *CancerGenomics Proteomics.* 2010. Vol. 7, N 3. P. 147–156.
10. *Donenko F.V., Ziganshin R.K., Sitdikova S.M., Amandzholov B.S., Kiselevskii M.V., Efferth T.* Induction of resistance to murine tumor development is associated with alterations in glycosylation of blood serum proteins // *Mol. Med. Rep.* 2009. Vol. 2, N 3. P. 487–495. doi: 10.3892/mmr\_00000126
11. *Fisher B., Gunduz N., Coyle J., Rudock C., Saffer E.* Presence of a growth-stimulating factor in serum following primary tumor removal in mice // *Cancer Res.* 1989. Vol. 49, N 8. P. 1996–2001.
12. *Shubina I. Zh., Akhmatova N.K., Donenko F.V. and Kiselevskii M.V.* Experimental Evaluation of Combined Immunotherapy for Tumors *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, Vol. 157, No. 5, 620–622. DOI 10.1007/s10517-014-2629-3
13. *Kormosh N.G., Davidova T.V., Kopyltsov V.N., Serebryakova M.V., Kabieva A.O., Voyushin K.E., Sitdikova S.M., Amandzholov B.S., Kiselevskii M.V., Donenko F.V.* Conformational changes in inter- $\alpha$ -trypsin inhibitor heavy chain 4 activate its tumor-specific activity in mice with B16 melanoma // *Mol. Med. Rep.* 2015. Vol. 12, N 3. P. 4483–4493. doi: 10.3892/mmr.2015.3961
14. *Доненко Ф.В., Кабиева А.О., Эфферт Т.* Сывороточные опухолеспецифические факторы — необходимое условие роста опухоли в организме клиническая лабораторная диагностика. 2013. № 10. С. 13–15.
15. *Donenko F.V., Kormosh N.G., Efferth T., Kiselevski M.V.* Tumor-Specific Blood Serum Factors as Basis of Tumor Dormancy *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 2014, 3, 1–3 ISSN: 1927–3037/14 © 2014 Lifescience Global
16. *Kormosh N.G., Ziganshin R. Kh., Shender V.O., Voyushin K.E. and Donenko F.V.* Changes in the Serum Protein Composition in Mice with Transplanted Ehrlich's Carcinoma *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, Vol. 158, No. 4, February, 2015 489–492, DOI 10.1007/s10517-015-2791-2
17. *Доненко Ф.В., Ситдикова С.М., Должикова Ю.И., Лебедин Ю.С.* Излечение мышей с распространенной аденокарциномой яичников CaO1 с помощью белков сыворотки крови. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2021, Том 172. № 8. С. 2–6.
18. *Gunduz, N., Fisher, B., and Saffer, E.A.* Effect of surgical removal on the growth and kinetics of residual tumor. *Cancer Res.*, 39: 3861–3865, 1979.
19. *Fisher B., Saffer E.A., and Deutsch M.* Influence of irradiation of a primary tumor on the labeling index and estrogen receptor index in a distant tumor focus. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 12: 879–885, 1986.
20. *Simpson-Herren, L., Sanford, A.H., and Holmquist, J.P.* Effects of surgery on the cell kinetics of residual tumor. *Cancer Treat. Rep.*, 60: 1749–1760, 1976.
21. *Fisher, B., Saffer, E.A., Rudock, C., Coyle, J., and Gunduz, N.* Effect of local or systemic treatment prior to primary tumor removal on the production and utilization of a serum growth stimulating factor. *Cancer Res.*, 49: 2002–2004. 1989.
22. *Goldin A., Kline I. and Sofina Z.P.* (eds.) (1980): *Experimental Evaluation of Antitumor Drugs in the USA and USSR and Clinical Correlations.* National Cancer Institute Monograph 55. NIH Publication no. 1933. U.S. Department of Health and Human Services. National Institutes of Health, NCI, Bethesda, Maryland.
22. *Donenko F.V., Moroz L.V.* (1995). Phenomenon of tumor growth stability in the host's body. New approach to growth and treatment of tumors. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* No. 4, pp. 14–16.
23. *Donenko F.V., Sitdikova S.M., Moroz L.V.* (1997). The role of serum humoral factors in metastasis and recurrence of Ehrlich carcinoma in mice. *Biull Eksp Biol Med.* Vol.124, No. 10, pp.443–445.
24. *Peeters C.F., de Waal R.M., Wobbles T., Westphal J.R. and Ruers T.J.* (2006). Outgrowth of human liver metastases after resection of the primary colorectal tumor: a shift in the balance between apoptosis and proliferation *Int J Cancer* Vol. 119, pp. 1249–1253.
25. *Moore K., Thompson C. and Trainer P.* (2003). Disorders of water balance. *Clin Med* Vol. 3, pp. 28–33.
26. *Haxhija E.Q., Yang H., Spencer A.U., Sun X. and Teitelbaum D.H.* (2007). Intestinal epithelial cell proliferation is dependent on the site of massive small bowel resection. *Pediatr Surg Int* Vol. 23, pp. 379–390.
27. *Juno R.J., Williams J.L., Knott A.W., Erwin C.R., O'Brien D.P. and Warner B.W.* (2002). A serum factor after intestinal resection stimulates epidermal growth factor receptor signaling and proliferation in intestinal epithelial cells. *Surgery* Vol. 132, pp. 377–383.

28. Nelson L.A., O'Brien D.P., Kemp C.J., Williams J.L., Dunke-Jacobs E., Erwin C.R. and Warner B.W. (2002). Intestinal and hepatic response to combined partial hepatectomy and small bowel resection in mice. *Am J Surg* Vol. 183, pp. 435–440.
29. Ginat D.T., Bhatt S. and Dogra V.S. (2008). Replacement lipomatosis of the kidney: sonographic features. *J Ultrasound Med* Vol. 27, pp. 1393–1395.
30. Puttarajappa C. and Dhoble A. (2008). Mediastinal lipomatosis as a cause of low voltage complexes on electrocardiogram and widened mediastinum: A case report. *Cases J1*, p. 171.
31. Goshtasby P., Brooks G. and Fielding L.P. (2006). Lipomatous disorder of the peri-trochanteric soft tissue: case report and review. *Curr Surg* Vol. 63, pp. 338–344.
32. Yan Y., Liu S., Song G., Xu Y. and Dissous C. (2005). Characterization of novel vaccine candidate and serine proteinase inhibitor from *Schistosoma japonicum* (Sj serpin). *Vet Parasitol* Vol. 131, pp. 53–60.
33. Trishin A.V., Zhdanovich M.Iu., Savvateeva L.V., Toptygin A.Iu., Donenko F.V., Kiselevskii M.V., Kurbatova E.A., Gruber I.M., Elkina S.I. and Kalina N.G. (2004). Protease activity of *Klebsiella pneumoniae* of different virulence. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* Vol. 4, pp. 7–11.
34. Sitdikova S.M., Kiselevskii M.V., Sel'chuk V.Y., Amandzholov B.S., Kurbatova E.A., Donenko F.V. (2009). Evaluation of immunotherapy efficiency in mouse CaO-1 ovarian carcinoma treated by vaccines based on dendritic cells. *Bull Exp Biol Med*. Vol.147, No. 2, pp. 226–228.
35. Pretzsch Elise Operative Trauma and Blood Loss — Impact on Tumor Growth and Recurrence *Shock*. 2021; 55(4): 455–464.
36. Demicheli R. The effects of surgery on tumor growth: a century of investigations. *Ann. Oncol.* 2008, Pages 1821–1828.

## АВТОРЫ

*Доненко Федор Витальевич*, доктор медицинских наук, профессор, лаборатория клеточного иммунитета ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, e-mail: donenko.f20010@yandex.ru

*Donenko Fedor V.*, M.D., Ph.D in Medical Sciences, Professor, Laboratory of Cellular Immunity of Federal State Budgetary Institution “N.N.Blokhin National Medical Research Center of Oncology” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, 115522, Kashirskoye highway, 24, e-mail: donenko.f20010@yandex.ru