

## ЛЕКЦІЯ

<sup>2</sup> Окунцев Дмитрий Витальевич,  
<sup>1</sup> Крутилина Нина Ивановна

*ГУО «Белорусская  
медицинская академия  
последипломного образования»,  
Минск,*

*<sup>2</sup>УЗ «Гомельский областной  
клинический онкологический  
диспансер»*

## Механизмы развития и возможности лечения лучевых фиброзов

Mechanisms of radiation fibrosis development  
and possibility of treatment

Изменение регулирования нормальных регенеративных процессов в ответ на действие физических, химических и биологических патогенных факторов приводит к нарушению синтеза внеклеточной матрицы с развитием патологического фиброза. Процессы, происходящие после облучения, имеют много общего с механизмами фиброзных болезней, затрагивающих сердце, кожу, легкие, почки, желудочно-кишечный тракт и печень. Среди факторов, запускающих механизм фиброза, наиболее изученным является фактор роста 1 (TGFB1), вырабатываемый различными мезенхимальными и эпителиальными клетками, стимулирующий трансформацию фибробластов и других типов клеток в миофибробласты. Для инициирования фиброза необходимо воспаление, но в дальнейшем секреция TGFB1 не имеет значения для регулирования фиброгенеза. В обзоре рассмотрена роль воспаления, происхождение и механизмы активации миофибробластов, а также вклад гипоксии и повреждения капилляров в контексте радиотерапии. Более близкое взаимодействие между учеными, исследующими фиброз, и лучевыми онкологами является перспективным для разработки и внедрения в практику новых терапевтических стратегий, направленных на лечение и предупреждение постлучевых фиброзов.

**Ключевые слова:** лучевая терапия, лучевые повреждения, фиброз, патогенез.

Зміна регулювання нормальних регенеративних процесів у відповідь на дію фізичних, хімічних і біологічних патогенних факторів призводить до порушення синтезу позаклітинної матриці з розвитком патологічного фіброзу. Процеси, що відбуваються після опромінення, мають багато спільного з механізмами фіброзних хвороб, що стосуються серця, шкіри, легені, нирок, шлунково-кишкового тракту і печінки. Серед факторів, які запускають механізм фіброзу, найбільш вивченим є фактор росту 1 (TGFB1), що виробляється різними мезенхімальними і епітеліальними клітинами і стимулює трансформацію фібробластів та інших типів клітин у міофібробласти. Для ініціювання фіброзу необхідне запалення, але надалі секреція TGFB1 не має значення для регулювання фіброгенезу. В огляді розглянута роль запалення, походження і механізми активації міофібробластів, а також внесок гіпоксії та ушкодження капілярів у контексті радіотерапії. Більш близька взаємодія між ученими, які досліджують фіброз, і променевими онкологами є перспективною для розробки і впровадження в практику нових терапевтичних стратегій, спрямованих на лікування й запобігання післяпроменевим фіброзам.

**Ключові слова:** променева терапія, променеві ушкодження, фіброз, патогенез.

Фиброз — лимитирующее дозу осложнение лучевой терапии (ЛТ), развивающееся после облучения опухоли практически любой локализации. Радиационный онколог чаще всего встречается с радиоиндуцированными изменениями кожи и подкожной клетчатки, которые, на первый взгляд, кроме косметических проблем, не имеют важного клинического значения. Однако, несмотря на «безобидность» постлучевых

Changing in regulation of normal regenerative processes in response to physical, chemical and biological effects of toxins results in violation of extracellular matrix synthesis with development of pathological fibrosis. The processes occurring after irradiation have much in common with the mechanisms of fibrotic diseases affecting the heart, skin, lungs, kidneys, gastrointestinal tract and liver. Among the factors triggering the mechanism of fibrosis, growth factor 1 (TGFB1), produced by a variety of mesenchymal and epithelial cells and stimulating transformation of fibroblasts and other types of cells into myofibroblasts, has been most extensively investigated. To initiate fibrosis, inflammation is necessary, but further secretion of TGFB1 is irrelevant for fibrogenesis control. This review features the role of inflammation as well as the origin and mechanisms of activation of myofibroblasts. The contribution of hypoxia and damage to the capillaries are considered in the context of radiotherapy. A closer cooperation between the scientists investigating fibrosis and radiation oncologists is promising for development and introduction of new therapeutic strategies for treatment and prevention of post-radiation fibrosis.

**Key words:** radiation therapy, radiation damage, fibrosis, pathogenesis.

фиброзов (ПЛФ), они являются причиной нарушения функций паренхиматозных органов, изменения диффузии молекул через мембраны, что приводит к синдрому мальабсорбции, стриктурам в полых органах и другим грозным осложнениям [1]. Традиционные радиобиологические модели, описывающие реакции нормальных тканей, основаны на анализе летальности клеток и связывают время появления явления клинических синдромов и

степень их тяжести с пролиферативной кинетикой определенных специфических групп клеток, но они не оценивают вероятность и степень тяжести развития фиброза в органах риска [2, 3].

Фиброз представляет собой чрезмерное накопление коллагена и других компонентов внеклеточной матрицы (ВКМ) после поломки в нормальном балансе ее синтеза и деградации. Тканевая ВКМ состоит из смеси белков (коллаген и эластин), гликопротеидов и протеогликанов (фибронектин, ламинин и тенасцин), гликозаминогликанов (гепарин и хондроитинсульфат), лежащих в геле гиалуроновой кислоты, состоящем из длинных цепей полисахаридов. У человека известны 42 гена, отвечающих за синтез коллагена. Некоторые из них кодируют синтез молекул проколлагена, другие определяют соединение этих молекул и формирование длинных спиралей коллагена. Спирали формируют различные пространственные структуры, которые и являются собственно ВКМ. На сегодняшний день определены приблизительно 40 типов коллагена, из них самыми распространенными у человека являются тип I и тип III [4]. Выполняя опорную функцию, ВКМ является местом закрепления клеток тканей и средой для диффундирующих сигнальных молекул, включая ферменты, регулирующие синтез ВКМ и ее распад. Внеклеточная матрица — основной резервуар для цитокинов, обладающих плеiotропным эффектом [5]. Восстановление ВКМ в процессе нормальной репарации ран является результатом сложного регулирования и взаимодействия белков и ферментов, отвечающих за синтез и разрушение ВКМ, включая структурные белки, протеазы, расщепляющие белки и ингибиторы протеаз.

В многочисленной литературе можно найти описание и оценку клинических и патологических данных о радиационном фиброзе, что за прошедшие десятилетия было суммировано в авторитетных учебниках [6, 7]. Большинство экспериментальных данных получено на животных, однако их биология отличается от биологии человека. Данные *in vitro* на культурах клеток и других моделях также информативны, но они не могут осветить сложные процессы, происходящие в ткани [8, 9]. Системная биология — новая дисциплина, и в этом кратком обзоре литературы мы не ставили задачу показать все ее преиму-

щества. Первая половина данной статьи освещает процессы, происходящие при нерадиационных заболеваниях, в основе которых лежат фиброзные поражения в тканях на уровне клетки, не рассматривая подробно молекулярные механизмы патогенеза. Такая структура изложения не отражает все патофизиологические события, потому что именно молекулярные процессы являются первичными и именно они активизируют изменения на уровне клетки. Но авторы ориентировали данное исследование на практических врачей, а не патофизиологов, и посчитали, что чрезмерное увлечение описанием молекулярных механизмов патогенеза нецелесообразно по практическим соображениям. Вторая половина обзора посвящена особенностям радиационного фиброза с акцентом на клинический контекст настолько, насколько позволила доступная нам литература.

### **Патогенез нерадиационных фиброзных болезней.**

#### **Связь воспаления и фиброза**

Фиброз — распространенный и универсальный ответ на широкий диапазон физических, химических и биологических повреждающих агентов, включая хирургию, различные препараты, вирусные инфекции, аутоиммунные реакции, связанные с воспалением. Необходимо отличать врожденный иммунный ответ, в котором нейтрофилы, макрофаги, Т-киллеры и система комплемента реагируют на чужеродные антигены без предшествующей экспозиции, с развитием адаптивного иммунного ответа, результатом которого является распознавание этих антигенов лимфоцитами и дендроцитами. Классические симптомы острого воспаления (покраснение, температура, боль и отек) в зоне, например, хирургической раны также отражают врожденный иммунный ответ, который вызывает коагуляцию, вазодилатацию, увеличение капиллярной проницаемости и миграцию нейтрофилов и макрофагов в течение нескольких минут. Ранняя воспалительная фаза (несколько часов или дней) сменяется фазой регенерации, с вовлечением эндотелиальных клеток и миофибробластов, которые стимулируют ангиогенез и формирование ВКМ (рисунок 1).

Забегаая вперед, необходимо подчеркнуть, что вазодилатация и повышенная проницаемость

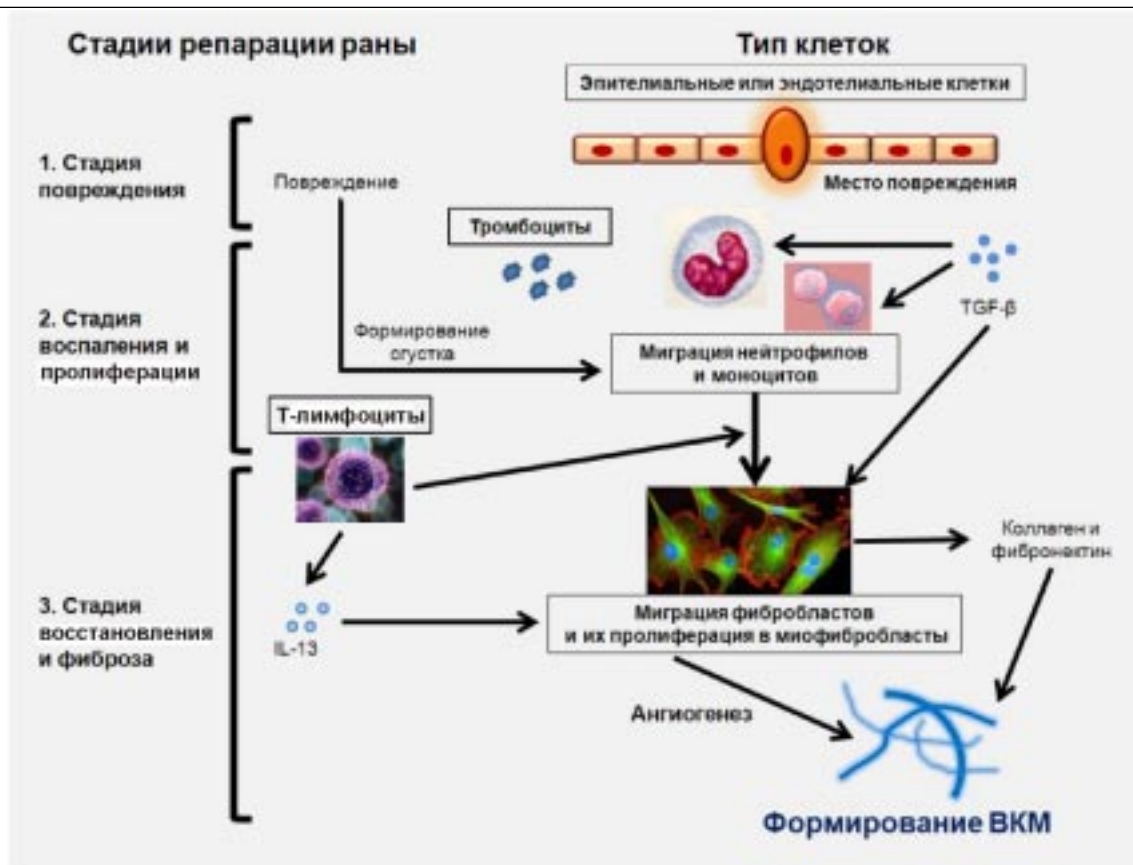


Рисунок 1. Схема, демонстрирующая типы клеток, вовлеченных в различные фазы заживления хирургической раны. Важно отметить, что начальный сигнал может исходить и от эпителиальных и от эндотелиальных клеток. (Thomas A.W. Fibrotic Disease and the TH1/TH2 Paradigm 4:583–594), copyright 2012) [22].

Fig. 1. Diagram showing cell types involved in various phases of surgical wound healing. It is important that the initial signal may originate from both epithelial cells and endothelial cells. (Thomas A.W. Fibrotic Disease and the TH1/TH2 Paradigm 4:583–594), copyright 2012) [22].

стенки сосудов являются признаками, которые также обнаруживаются через несколько минут после радиационного воздействия, а острые воспалительные реакции в эндотелии являются важнейшими и определяющими факторами радиационного фиброза. В рубцующихся ранах иммуниты (нейтрофилы, лимфоциты, моноциты и макрофаги) секретируют цитокины, которые стимулируют фибробласты и другие клетки-предшественники с их дифференцировкой в миофибробласты, которые синтезируют коллаген и металлопротеиназы. В конечной фазе рубцевания миофибробласты и клетки воспаления подвергаются апоптозу, в результате формируется гиподенная рубцовая ткань [10, 11]. В отличие от этого, при хронических заболеваниях, в основе которых лежат фиброзные процессы (фиброзные болезни — ФБ), клетки хронического воспаления (макрофаги, моноциты, лимфоциты и тучные клетки) являются характерной особенностью.

Важный вопрос состоит в том, является ли воспаление универсальным механизмом инициализации фиброза, и если да, то является ли воспаление фактором, регулирующим и поддерживающим его развитие? Это особенно важно, если воспаление является терапевтической целью. В процессе заживления раны начинает синтезироваться белок, названный серологическим амилоидным белком (serum amyloid protein — SAP), который, как и С-реактивный белок, связываясь с рецепторами на мембране предшественников фибробластов, блокирует фиброгенез [12], а также вызывает фагоцитоз погибших клеток макрофагами, удаляя тем самым источники профиброзных цитокинов [13]. Человеческий рекомбинантный белок (human recombinant protein — rhSAP), по данным клинических испытаний, ингибирует фиброз легкого у мышей, получавших блеомицин, в классической модели фиброза легкого [14, 15]. Этот эффект rhSAP доказывает взаимосвязь между воспалением и фиброзом. Лизо-

фосфатидиловая кислота (lysophosphatidic acid — LPA) является другим важнейшим медиатором воспаления. Это липид, выделяющийся при разрушении клеток, который действует как хемоаттрактант для фибробластов, стимулируя их движение к месту дефекта. Концентрация LPA повышена в промывной жидкости бронхов у пациентов с идиопатическим фиброзом легких, и является активатором профиброзных механизмов. У мышей, с недостатком рецепторов для LPA, не развивается фиброз легкого после введения блеомицина, что еще раз доказывает связь между воспалением и фиброзом [16]. Простагландин F<sub>2a</sub> и простаноид F (F prostanoid — FP) действуют как мощные фиброгенные медиаторы в модели блеомицинового фиброза легких [17, 18]. Наконец, у человеческого плода отсутствует способность развивать воспалительную реакцию во время всего гестационного периода, и это, как предполагают, поясняет отсутствие рубцевания в период эмбрионального развития [19].

Однако, с другой стороны, стероиды и нестероидные противовоспалительные средства не в состоянии остановить человеческий идиопатический пневмонит, вызывающий прогрессирующий фиброз. Этот факт свидетельствует о том, что связь между воспалением и фиброзом не всегда является причинной, или о том, что воспаление необходимо только для инициализации фиброза. Фиброзы легких после применения блеомицина в этом контексте являются моделью идиопатического фиброза легких у человека. Блеомицин вызывает воспалительную инфильтрацию легких, которая заканчивается на 9-й день, переходя в фазу фиброза, которая, в свою очередь, регулируется фактором роста (transforming growth factor — TGF $\beta$ 1) с экспрессией гена проколлагена и последующим развитием фиброза легких [20]. Преднизолон эффективен только во время воспалительной фазы между 1–9-м днями. Если лечение начинается позже, то стероиды не предотвращают фиброз [21]. Это говорит о том, что воспаление является только пусковым фактором, а дальнейшее развитие фиброза определяется другими механизмами. Иным экспериментальным подтверждением этого факта является имплантация яиц шистосомоза (кровяного сосальщика из рода *Schistosoma*) в мочевого пузыря мышши. В результате развиваются характерные воспалительные

гранулемы, представляющие собой инфильтраты макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов и плазматических клеток, трансформирующихся в дальнейшем в фиброз мочевого пузыря [22]. Фиброз регулируется интерлейкином-13 (interleukin — IL-13), мощным профиброзным цитокином, секретируемым T-лимфоцитами. У мышей, у которых отсутствует IL-13, не развивается фиброз мочевого пузыря в ответ на шистосоматозное воспаление. Таким образом, экспериментальные данные свидетельствуют о том, что воспаление играет роль только пускового механизма фиброза. Клинический вывод, учитывая этот факт, состоит в том, что противовоспалительная или иммунная стратегия лечения должна разрабатываться как можно раньше [23].

Ведущая роль в развитии рубцевания и фиброза принадлежит миофибробластам, развивающимся из фибробластов [24]. Последние представляют собой гетерогенную группу клеток со специализированными функциями. В нормальных условиях фибробласты отвечают за обновление ВКМ и поддерживают сеть ее волокон. При выбросе цитокинов воспалительными и другими типами клеток фибробласты дифференцируются в миофибробласты. Этот процесс называется активацией и связан он с синтезированием ими специфического белка, так называемого «гладкомышечного актина» (a-smooth muscle actin — aSMA), который имеет выраженную способность к сокращению и этим определяет название миофибробластов [25]. Миофибробласты производят коллаген (особенно тип I и III), фибронектины и другие молекулы ВКМ [26, 27]. Волокна aSMA связываются с клетками и ВКМ, сокращаясь, сдвигают края раны друг с другом, как бы склеивая их. Механическая травма — сильнейший стимул для активации фибробласта и его трансформации в миофибробласт. После заживления раны миофибробласты подвергаются апоптозу [28], поэтому зрелая рубцовая ткань относительно бесклеточная, а поздние контрактуры и деформации рубцов происходят не из-за сокращения aSMA, а из-за реконструкции уже образованной внеклеточной матрицы [29].

Фибробласты не единственные источники миофибробластов — эпителиальные, эндотелиальные и гладкомышечные клетки являются их альтернативными прародителями, способными

к миграции через базальную мембрану в экспериментальных системах [30]. Миоциты сосудов являются источниками миофибробластов при атеросклерозе [25] и, как будет показано ниже, при пострадиационном фиброзе в артериях и желудочно-кишечном тракте человека [31]. У мышей фиброз легкого после внутривенного введения блеомицина на 80% провоцируют мезенхимальные клетки, а фиброз после подкожной инъекции в том же самом штамме мышей вызывается миофибробластами, развивающимися исключительно из фибробластов [32]. Моноциты являются предшественниками миофибробластов при системном склерозе у человека [33].

Активация предшественников миофибробластов регулируется специфическими медиаторами, самым известным из которых является TGF $\beta$ 1, синтезируемый различными клетками [27, 34]. Непосредственный источник TGF $\beta$ 1 — внеклеточный резервуар, где медиатор хранится в неактивной форме (LTGF $\beta$ 1), связанный с ВКМ. Активация TGF $\beta$ 1 происходит с помощью протеаз (плазмина и тромбина), а также, возможно, с помощью ионизированного кислорода, образующегося под действием ионизирующего излучения [5]. Активированный TGF $\beta$ 1 связывается с мембранными рецепторами (киназы серина/треонина типа I и II) предшественников миофибробластов [35, 36]. Пути передачи сигнала в различных тканях могут быть разными, но самое важное, что в результате происходит активация различных предшественников миофибробласта и запускается биохимический процесс синтеза ВКМ [37–39].

TGF $\beta$ 1 не единственный фиброгенный цитокин. При хронических воспалительных заболеваниях фиброгенез как часть адаптивного иммунного ответа стимулируется интерлейкинами IL-4 и IL-13, секретируемыми T-лимфоцитами [22, 40]. Баланс между IL-4 и IL-13 определяет, какие процессы будут доминировать в развитии реакции органа на повреждение: фиброз, или репарация/регенерация [22, 41, 42]. Например, уровень IL-4 повышен в промывной жидкости бронхов у пациентов с идиопатическим фиброзом легкого, и в ткани легкого у больных фиброзирующим альвеолитом [43, 44]. У крыс с пострадиационным фиброзом легких после облучения единственной дозой 20 Гр IL-4 резко повышает-

ся спустя приблизительно 80 дней, что совпадает со временем фиброзной фазы [45]. Доказательством этого является и то, что у мышей, у которых отсутствует IL-4, фиброз легкого после введения блеомицина не начинается, даже если у них развивается более тяжелое воспаление [46].

В дополнение к TGF $\beta$ 1 и лимфоцитарным интерлейкинам, основным фактором роста фибробластов (fibroblast growth factor — bFGF), тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor — PDGF), инсулиноподобный фактор роста (insulin growth factor — IGF), некоторые хемокины, например, эндотелин-1 (endothelin-1 — ET-1) и фактор роста соединительной ткани (connective tissue growth factor — CTGF) также являются мощными фиброгенными медиаторами [24, 47, 48].

Хотя активация предшественников миофибробластов интерлейкинами IL-4 и IL-13 является ведущей в фиброгенезе при адаптивном иммунном ответе на чужеродные или аутоантигены, активация его с помощью TGF $\beta$ 1, вероятно, более характерна для радиационного фиброза, учитывая, что присутствие лимфоцитарных инфильтратов тканей в зоне постлучевых изменений не характерно [6, 7]. Функции TGF $\beta$ 1 наиболее изучены и являются основной цепью передачи сигналов, стимулирующих синтез фактора роста соединительной ткани (CTGF), который вызывает пролиферацию фибробластов и производство ВКМ [49]. CTGF синтезируется фибробластами и секретируется во внутритканевое пространство, где связывается с молекулами ВКМ. В дальнейшем CTGF связывается с мембранными рецепторами клеток и активизирует каскад биохимических реакций [50]. Среди широкого диапазона клеточных эффектов *in vitro*, включая стимуляцию миграции фибробластов и их пролиферации, при фиброгенезе этот фактор работает совместно с другими факторами роста, такими как bFGF, PDGF и TGF $\beta$ 1. Этот механизм наиболее изучен при системном склерозе, где эффекты, вызываемые CTGF, подобны описанным при радиационном фиброзе [37]. В нормальной коже CTGF не определяется, однако его концентрация высока в культурах фибробластов, активированных TGF $\beta$ 1 и некоторыми другими цитокинами. Необходимо подчеркнуть, что между CTGF и TGF $\beta$ 1 имеется четко выраженная обратная связь: синтез CTGF, который первично

стимулируется TGF $\beta$ 1, в дальнейшем происходит при чрезвычайно низких концентрациях TGF $\beta$ 1 [51]. Аутокринный механизм обратной связи, поддерживающий CTGF-управляемый фиброгенез и фактическое отсутствие при этом TGF $\beta$ 1, очень важен для пострадиационного фиброза. Кроме этого, стимуляция CTGF и других цитокинов может объяснить разобщение воспаления и фиброза — первично запущенный TGF $\beta$ 1, в дальнейшем фиброз развивается независимо от воспаления.

Кроме описанного механизма имеются другие пути стимуляции фиброгенеза, включая PDGF/PDGFR, IGF/IGFR, EGF/EGFR, TNF- $\alpha$  и FGF-2 [52]. Так, PDGF (тромбоцитарный фактор роста) представляет группу структурно и функционально связанных факторов роста, включая PDGF-A, -B, -C и -D, которые главным образом предназначаются для мезенхимальных клеток. Активация их фиброгенного действия происходит после гомодимеризации молекул этих факторов, при этом синтезируются PDGF-AA, PDGF-BB, которые связываются с определенными мембранными рецепторами (PDGFR- $\alpha$  и PDGFR- $\beta$ ).

С высокими уровнями PDGF/PDGFR коррелирует развитие фиброза прежде всего в легком, печени, коже, а также при почечном и сердечном фиброзе [53, 54]. Для этих органов характерна высокая экспрессия PDGF/PDGFR, вызывающая пролиферацию и дифференцирование мезенхимальных клеток в миофибробласты, в конечном итоге, секретирующих ВКМ. В легких, дерме и сердце PDGF секретируются активизированными мезенхимальными клетками (фибробласты, мезангиальные и звездообразные клетки), макрофагами и клетками воспаления [53]. В экспериментальных моделях комбинация генетического или фармакологического подавления секреции PDGF представляется перспективным подходом подавления фиброза [55]. Доказательство этому модель радиоиндуцированного фиброза легкого у мышей чистой линии C57BL/6, у которых все четыре изоформы PDGF также, как PDGFR, были заблокированы ингибитором тимидинкиназы, при этом пострадиационный фиброз легкого не развивался [56]. В клинике этот подход не используется, но описанные механизмы пролиферации и фиброгенного дифференцирования, вызванного TGF $\beta$ 1 и CTGF, подтверждены при системном

склерозе [57] и идиопатическом фиброзе легкого [54].

### **Роль повреждения капилляров и хронической гипоксии**

Повреждение капилляров характерно для системного склероза (СС) и диабета. Системный склероз — хроническая фиброзная болезнь неизвестной этиологии, характеризующаяся периваскулярными воспалительными инфильтратами, сниженной капиллярной проницаемостью и массивным накоплением ВКМ в коже и внутренних органах. В патогенезе этой болезни пусковым механизмом является повреждение эндотелия сосудов аутоантителами, что стимулирует выпуск хемокинов и других факторов, включая эндотелин-1, PDGF, bFGF и VEGF, вызывающие миграцию и пролиферацию клеток воспаления, которые активизируют фибробласты [48].

Вторичная гипоксия, обычно развивающаяся после повреждения капилляров, является одним из звеньев механизма фиброза при СС [58–60]. У больных СС, чрескожные измерения подтверждают наличие гипоксии в фиброзно измененной коже [61, 62]. Исследования *in vitro* культуры миофибробласта, выделенной из кожи больного СС, выявили, что гипоксия стимулирует TGF $\beta$ 1-зависимый синтез коллагена и других белков ВКМ [60].

### **Роль перекисных свободных радикалов**

Перекисные свободные радикалы (ПСР) также могут быть пусковым механизмом фиброгенеза. Они постоянно образуются в митохондриях всех типов клеток организма. Суперокисный анион и перекись водорода в процессе реакции с молекулярным кислородом могут становиться источниками свободного гидроксильного радикала ( $\cdot$ O) — самого мощного биологического оксиданта. В норме эти радикалы нейтрализуются ферментными антиоксидантами (суперокисная дисмутаза и каталаза). Перекисные свободные радикалы производятся всеми клетками и в организме выполняют важные физиологические функции, являясь частью фагоцитарных оборонных механизмов. В связи с тем, что ПСР являются очень короткоживущими и их невозможно наблюдать непосредственно, но продукты реакций окисления ими ДНК, липидов и белков используются в качестве индикатора их действия. Потенциально вредные эффекты ПСР в норме

уравновешиваются эндогенными системами ферментов антиоксидантов и пищевыми антиоксидантами, впрочем, этот баланс нарушается при определенных болезнях, создавая условия для развития состояния, называемого «оксидантным стрессом» [63]. Неосредственная химическая причина этого состояния — окислительное повреждение белков, липидов и ДНК, последствиями которых являются блокирование клеточного цикла, нарушение дифференцировки клеток, их старение и апоптоз. Оксидантный стресс, как доказано, играет важную роль в иницировании и/или прогрессировании широкого диапазона фиброзных болезней, включая атеросклероз, кардиосклероз, идиопатический фиброз легкого и системный склероз с полиорганным фиброзом [64, 65].

Источники ПСР менее важны, чем механизмы их профиброзного действия. На молекулярном уровне они регулируют широкий диапазон клеточных функций, действуя как молекулы-посредники в эндоплазме клеток и обладают способностью прямо влиять на транскрипцию ДНК [66]. При оксидантном стрессе, независимо от уровня гипоксии, ПСР активируют фактор 1-альфа (HIF1a) [67]. В свою очередь, HIF1a вызывает экспрессию нескольких фиброгенных генов [60]. Иным действием ПСР, которое, как предполагается, имеет прямое отношение к фиброзу, является активация внеклеточного TGF $\beta$ 1 [68]. Кроме того, ПСР связаны с адаптивным иммунным ответом, они регулируют дифференцирование двух фенотипов Т-лимфоцитов (CD4+ и Thy-2), ответственных за секрецию цитокинов IL-4 и IL-13 [69]. Этот механизм может превалировать при развитии атеросклероза, когда клетки хронического воспаления накапливаются в зоне поврежденного эндотелия и фагоцитируют частицы липида из кровотока, которые в дальнейшем окисляются под действием перекисных радикалов [70]. Продукты окисления липидов стимулируют секрецию фиброгенных цитокинов, действующих как хемоаттанты и митогены, стимулирующие дифференцировку гладкомышечных клеток в стенке сосуда [71]. Как было показано выше, гладкомышечные клетки могут дифференцироваться в миофибробласты, ответственные за секрецию ВКМ при атеросклерозе. Проблема состоит в том, чтобы определить, какие из этих

механизмов действия ПСР являются наиболее важными в патогенезе радиационного фиброза.

### **Патогенез радиационного фиброза**

Природа и причины, вызывающие болезни человека, в основе которых лежит фиброз, спорны, но они точно известны для радиационного фиброза. Прямое повреждение ДНК, белков и липидов является первым действием ионизирующего излучения на клетки и ткани. Последующий nekrosis клеток является биологической реакцией на первичное радиационное воздействие, но сублетальные повреждения клеток также важно учитывать, потому что для фиброгенеза необходимы функционирующие клетки. Прямое действие ПСР на внеклеточную матрицу является причиной фиброгенеза, поскольку они способны активизировать цитокины, депонированные в ВКМ. Аргументы, касающиеся относительной важности первичного повреждения эпителиальных или эндотелиальных клеток, летальных или сублетальных повреждений, апоптотической или митотической радиационной смерти клетки, пока остаются предметом дискуссий. Но все эти причины и следствия в принципе сводятся к единому клиническому синдрому, патогенез которого следует тем же общим механизмам синтеза и деградации ВКМ. Поэтому можно ожидать, что стратегии лечения и фармацевтические препараты, эффективные при неонкологических фиброзных болезнях, будут эффективны и при радиационном фиброзе (РФ).

### **Морфологические изменения после лучевой терапии**

Классические патогистологические данные после облучения описывают фиброз во многих органах [6]. Клиническим последствием этого является снижение функции органов (мышц, легкого, сердца), развитие стриктур (полых органов), ухудшение газообмена (альвеолы, капилляры). К органам, в которых не развивается фиброз, относятся только центральная нервная система, костный мозг и кости [72]. Микроскопически фиброз выглядит как диффузное поражение, связанное с развитием внутритканевой сети фибрина, с повреждением капилляров и нарушением микроциркуляции, причем эти изменения обнаруживаются через много лет после облучения и прогрессируют со временем. Фиброз в интима и

мышечном слое артерий вызывает деформацию и сужение просвета сосудов, что дополнительно способствует фиброзу паренхимы органа так же, как атрофии при ишемической гипоксии.

Изучение морфологических изменений у людей ограничено доступностью облученных тканей и чаще всего возможно при аутопсии или после хирургического удаления. При изучении в световом микроскопе описаны сосудистые изменения, развивающиеся в течение нескольких недель после облучения, включая сужение и облитерацию капилляров, набухание эндотелия с очагами фибрина и эндотелиальной гиперплазией. Ранние воспалительные изменения в сосудистой сети, поддающиеся обнаружению в течение нескольких минут после облучения у животных, будут обсуждаться ниже. Эндотелиальная гиперплазия замечена также в крупных сосудах, причем и в артериях и в венах. Уменьшение количества капилляров вызывает ишемию ткани, что также является одной из причин развития и прогрессирования фиброза. Накопление макрофагов под интимой описывается как типичная морфологическая картина хронического радиационного васкулита, напоминая при этом морфологические особенности атеросклероза, в котором макрофаги — основной источник синтеза фиброгенных цитокинов [73, 74]. Среди клеток в фиброзной ткани характерны фибробласты, которые могут выглядеть атипичными, с причудливыми формами, различных размеров с гиперхромными, полиплоидными ядрами. Характерная особенность позднего лучевого поражения — это отсутствие клеточной воспалительной реакции, что подвергает сомнению роль адаптивных иммунных ответов [72]. Особый случай — вторичный радиационный фиброз. Он стимулируется гипоксией и инфекцией в эпителиальных поверхностях, включая кожу и слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), и напоминает рубцевание хирургических ран.

#### **Регуляция синтеза коллагена при радиационном фиброзе**

Спустя 7–40 недель после предоперационной лучевой терапии в слизистой оболочке прямой кишки человека обнаруживается увеличение уровня TGF $\beta$ 1, который отсутствовал в необлученной ткани у больных контрольной группы

[75]. Исследователи обнаружили повышенный уровень TGF $\beta$ 1, включая неактивный цитокин, связанный с ВКМ как скрытый комплекс (LTGF $\beta$ ). В другой публикации при исследовании облученной подвздошной и толстой кишки фиброз подслизистой и серозной оболочек, мышечного слоя, был связан с повышенным уровнем LTGF $\beta$ 1 и белка CTGF, что было отмечено при исследовании тканей у 16 пациентов, оперированных по поводу стеноза толстой кишки после облучения таза [76, 77]. При этом уровни TGF $\beta$ 1 статистически значимо не отличались в облученной и необлученной кишке, а фенотип фибробластов напоминал фенотип при системном склерозе, при котором также отмечаются высокие уровни синтеза коллагена, несмотря на низкие уровни TGF $\beta$ 1 [51]. Повышение экспрессии CTGF обнаружено в миофибробластах облученной кишки, при этом сохраняются некоторые особенности их гладкомышечного происхождения, как при атеросклерозе [25, 76, 78]. Sassi M. et al. при исследовании облученного желудочно-кишечного тракта у 22 пациентов через 1–75 месяцев после ЛТ сообщили о повышенном содержании коллагена в стенках тонкой кишки [79].

Benyahia B. и Magdelenat H. информируют о морфологических признаках накопления коллагена в коже у 24 из 30 пациентов, через 3–11 лет после облучения молочной железы (МЖ) суммарной очаговой дозой (СОД) 55 Гр за 30 фракций в течение 6 недель [80]. Большинство фибробластов показало внутриядерное окрашивание на TGF $\beta$ 1, которое отсутствовало в необлученной коже. Дополнительные свидетельства нарушения метаболизма ВКМ после ЛТ были получены при исследовании уровней коллагена и N- и C-концевых пептидов коллагена (N- and C-terminal collagen peptide — P1NP и P1CP) при анализе тканевой жидкости, полученной из кожи пациентов после ЛТ [81]. При этом P1NP и P1CP являются концевыми молекулами противоположных концов молекул проколлагена, и их наличие является надежным индикатором синтеза нового коллагена. При исследовании кожи МЖ через 1–5 лет после облучения в СОД 50 Гр за 25 фракций было обнаружено двукратное увеличение темпов синтеза коллагена типов I и III в первые годы, так же, как и признаки дегградации коллагена [82]. Эта же группа исследователей сообщила об увеличении



количества фибробластов и числа тучных клеток [83] в верхнем слое кожи.

Повышение темпов распада ВКМ, как и ее синтеза, — особенность хронического фиброза, которая обнаруживается спустя 2 недели после начала ЛТ области таза, с увеличенным уровнем металлопротеиназы (metalloproteinase — MMP2), что свидетельствует о начале перестройке ВКМ [79, 84]. Нарушение регуляции обмена ВКМ обнаружено в кровеносных сосудах, о чем сообщают Milliat F. et al. при исследовании удаленных тканей прямой кишки 38 пациентов с аденокарциномой [85]. Операция выполнена через 5–7 недель после предоперационной ЛТ в СОД 45 Гр при разовой очаговой дозе (РОД) 1,8–2,0 за фракцию. Сосудистые изменения включали дистрофию мышечного и гиперплазию слизистого слоя, с интенсивной иммуногистохимической окраской на коллаген I и III типов и видимой пролиферацией гладкомышечных клеток. Развиваются ли со временем эти острые и подострые изменения в хронический фиброз, пока не установлено.

В итоге можно сделать вывод, что постлучевой фиброз у людей также связан с увеличенным синтезом коллагена и последовательной активацией ключевых фиброгенных факторов роста и цитокинов, включая TGF $\beta$ 1 и CTGF. Хотя нельзя утверждать, что процессы нарушения регуляции обмена ВКМ, которые выявляются в первые несколько недель после ЛТ, ответственны и за осложнения, возникающие спустя несколько десятилетий, но, вероятно, патогенез молекулярных путей постлучевого фиброгенеза во многом идентичен фиброзным реакциям, обсуждаемым выше.

### **Роль фибробластов при радиационном фиброзе**

Фибробласты и миофибробласты, выделенные из зон фиброза у облученных пациентов, могут быть выделены в культуру тканей, где обнаружены существенные различия в их фенотипах. Например, фибробласты кожи облученных пациентов сложно культивировать *in vitro*, особенно полученные из зоны поздних фиброзных поражений. Они весьма гетерогенны, часто с низким пролиферативным потенциалом и ограниченной способностью к миграции [86, 87]. Кроме этого, отмечены выраженные повреждения

хромосом кожных фибробластов, изолированных в течение первого года после лучевой терапии у больных, перенесших облучение грудной стенки после мастэктомии [88]. Трудность культивирования фибробластов из облученной кожи в культуре ткани связана с остаточным повреждением ДНК и патоморфозом в результате воздействия ионизирующей радиации, которые приводят к нарушению клеточного цикла [89, 91, 92]. У этих фибробластов также обнаружены секреторные функции, связанные с индукцией TGF $\beta$ 1, регулирующего синтез коллагена. Herkind C. et al. облучали *in vitro* культуры кожных фибробластов, полученных при биопсии необлученной кожи [93]. Ученые сообщили о статистически значимой связи между митотическим индексом фибробластов перед облучением и степенью выраженности фиброза после мастэктомии у больных, которые подвергались послеоперационной ЛТ. Но исследование Russell N. S. et al., проведенное с 79 пациентами, не подтвердило эту связь после однократного облучения культуры фибробластов СОД 8 Гр *in vitro* [94]. Однако у 3 из них, у кого впоследствии не был диагностирован фиброз кожи, несмотря на высокие клинические факторы риска, был обнаружен низкий митотический индекс фибробластов, по сравнению с 36 пациентами с фиброзом кожи 2–3-й степени. Учитывая эти данные, можно предположить, что частота митозов может изменяться в зависимости от разных других факторов.

В отличие от облученной кожи, культуры фибробласта, выращенные *in vitro* из клеточного материала подвздошной кишки и толстой кишки у людей с радиационным энтеритом (16 больных) или без него (6 больных), обнаружены высокие уровни  $\alpha$ SMA [95, 96]. Миофибробласты также секретируют тропомиозин, характерный для гладкомышечных клеток. Являются ли эти клетки миофибробластами или только похожи на них, не выяснено и, вероятно, не имеет значения. Их важная особенность в том, что повышенная секреция ими CTGF и коллагена типа I подтверждена в культуре ткани и совпадает с результатами иммуногистохимического анализа образцов ткани тонкой кишки [76, 77]. Причины таких различий между миофибробластами, полученными из облученной кишки и кожи, не известны.

Пострадиационный фенотип человеческих кишечных миофибробластов интересен по терапевтическим причинам, так как он связан с передачей сигналов посредством киназ (ROCK — путь) [77], важной для патогенеза капиллярного кардиального спазма и легочной артериальной гипертензии [97–99]. Как показано выше, уровень CTGF зависит от TGF $\beta$ 1, секретируемого в нормальных фибробластах кожи, и остается высоким, несмотря на очень низкие уровни TGF $\beta$ 1 при системном склерозе и радиационном энтерите. Индукция CTGF миофибробластами, изолированными из облученной человеческой кишки, не зависит от TGF $\beta$ 1, и осуществляется посредством ROCK пути [76, 100]. Это немного отличается от пути активации синтеза CTGF через TGF $\beta$ 1 при системном склерозе [39, 48]. Активации ROCK пути объясняет торможение развития радиационного фиброза у крыс при использовании статинов, что открывает возможности для клинического использования этих препаратов [101, 102, 103].

TGF $\beta$ 1 — только один из нескольких профиброзных цитокинов, которые активизируют клетки предшественники миофибробластов. ВКМ является резервуаром неактивного TGF $\beta$ 1. Свободные перекисные радикалы, образующиеся в результате прямого действия ионизирующей радиации, являются непосредственными активаторами TGF $\beta$ 1 [68, 104]. Согласно этой модели, TGF $\beta$ 1, активизированный даже при небольшой дозе облучения, начинает процесс синтеза коллагена, который управляется аутокринной индукцией CTGF. Однако есть другой, не прямой механизм активации TGF $\beta$ 1. Так, транскрипция генов, регулирующих синтез TGF $\beta$ , может вызываться радиацией через индукцию транскрипционных факторов. При этом активация TGF $\beta$ 1 является результатом реакции на повреждение ДНК в кожных фибробластах [91, 92]. Как рано происходит активация TGF $\beta$ 1 при клиническом развитии радиационного фиброза, остается не выясненным. Но, вероятно, существует порог активации, поскольку введение до облучения растворимого рецептора TGF $\beta$ 1, подавляющего транскрипцию генов регулирующих синтез TGF $\beta$ 1, является одной из немногих стратегий, позволяющих статистически значимо уменьшить частоту и степень тяжести поздних пострадиаци-

ционных повреждений легких и кожи у мышей. Реальная проблема состоит в том, чтобы точно установить, через какое время после облучения эти фиброгенные сигналы начинают действовать [105, 106].

#### **Роль повреждения сосудов и гипоксии**

Одна из самых первых гипотез в области радиационной патологии постулировала сосудистое повреждение как основной патогенный сигнал, который предшествует фиброзу. Повреждение эндотелия сосудов — действительно характерная черта первичного действия радиации на нормальные ткани у животных и людей [6, 107–109]. У больных раком прямой кишки, основные морфологические изменения в крупных сосудах, включая около- и внутрисосудистый фиброз, гиперплазию интимы с облитерацией сосудов, были обнаружены во всех образцах удаленных тканей через несколько недель после предоперационной ЛТ в СОД = 45 Гр при РОД = 1,8–2,0 Гр за фракцию [85]. При исследовании ткани легких, удаленных хирургически или при аутопсии через 4–12 недель после ЛТ также обнаружены идентичные изменения [110]. Очень ранние изменения в капиллярной функции были изучены у грызунов при витальной микроскопии, подтвердившей развитие воспалительной реакции с инфильтрацией лейкоцитами периваскулярных тканей в течение нескольких часов после облучения [111, 112]. Изменения сосудистой проницаемости были связаны с накоплением фибрина в межсосудистом пространстве после однократного облучения у мышей, напоминая классическую картину фиброза, развивающегося через несколько лет в коже больных, получавших ЛТ [7, 113]. Кроме морфологических изменений, о которых сообщают при исследовании резецированных участков тонкой кишки у больных с пострадиационными стриктурами, в тканях обнаружено уменьшение эндотелиального тромбомодулина (thrombomodulin — ТМ) и увеличение ингибитора активатора плазминогена I (plasminogen activator inhibitor-1 — PAI-1) [114, 117].

Являются ли эти ранние изменения только начальной стадией хронического фиброза, не ясно. Учитывая ведущую роль процесса коагуляции при повреждении эндотелия сосудов, Wang J. et al. использовали ингибитор агрегации тром-

боцитов (препарат клопидогрел) с целью предупреждения развития энтеропатии при облучении крыс [115]. Авторы сообщили об уменьшении экспрессии TGF $\beta$ 1, синтеза коллагена и более быстром восстановлении острых лучевых повреждений облученных тканей через 2 недели после облучения, но через 26 недель появились признаки фиброза тканей. Та же самая группа ученых использовала антикоагулянт гирудин, с идентичными результатами [116]. Позже был исследован ингибитор активатора плазминогена-1 (РА1-1), который блокирует активацию плазминогена в плазмин. Хотя у генетически модифицированных мышей, с отсутствием белка РА1-1, наблюдалось статистически значимое уменьшение частоты и степени тяжести острого лучевого энтерита после однократного облучения в СОД 19 Гр, исследователи не выявили разницы в частоте и тяжести поздних лучевых повреждений кишечника [118]. В дополнение, фармакологическое торможение РА1-1 показало защитное действие только во время острой фазы лучевых реакций. Несмотря на высокий пострadiационный уровень ТМ-1, регистрируемый в облученном сердце крыс через 1 неделю и через 3 месяца,

блокирование рецепторов ТМ-1 не показало антифиброзную эффективность в сердце и кишке [99, 119] (рисунок 2).

Таким образом, методы лечения, направленные на попытку коррекции сосудистых нарушений, показывают эффективность защиты тканей от острого, и подострого лучевого поражения, но не предупреждают поздний лучевой фиброз. Если используемые препараты не являются радиопротекторами для опухолевых клеток, то это лечение может быть полезным для предупреждения и/или ослабления острой лучевой реакции (ОЛР), особенно при лечении тех локализаций, где ОЛР является дозолимитирующим фактором, например, при раке в области головы и шеи. Патогенез поздних лучевых повреждений сосудов не исследован ни у больных не в экспериментальных моделях, хотя в последнее время появляются исследования, затрагивающие эти аспекты [78, 120, 121]. Это — важная область молекулярной биологии и радиобиологии, в которой предстоит определить роль микроциркуляции, ВКМ, оксидантного стресса, гипоксии и воспаления.

Дефицит тромбомодулина после облучения приводит к накоплению тромбина, сильного

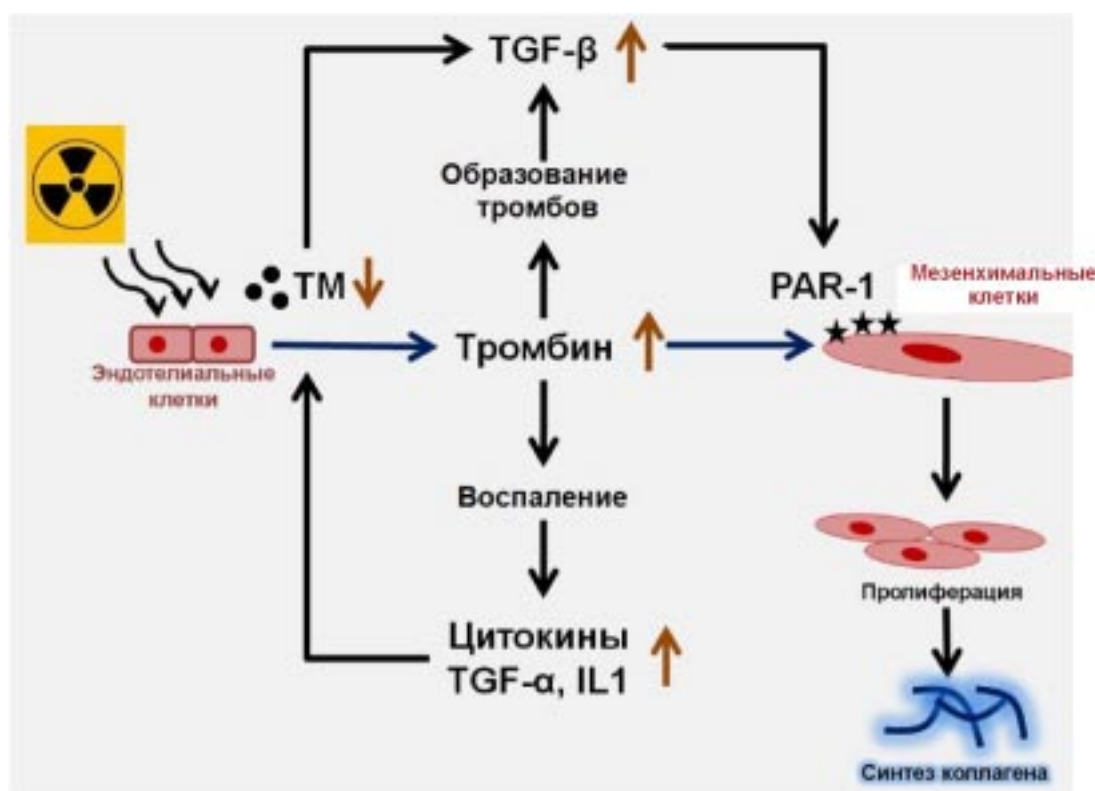


Рисунок 2. Схема, показывающая роль повреждения сосудов в патогенезе фиброза  
 Fig. 2. Diagram showing the role of vascular injury in the pathogenesis of fibrosis

прокоагулянта, вызывая депонирование фибрина в межкапиллярном пространстве и в стенках артерий и вен. Тромбин также обладает сильным воспалительным, митотическим и профиброгенным действием через TGF- $\beta$ -опосредованную активацию рецепторов PAR-1 на мембранах фибробластов и сосудистых гладкомышечных клетках, что вызывает их пролиферацию и синтез коллагена. Как предполагается, дефицит ТМ поддерживается обратной связью, под воздействием воспалительных цитокинов, включая IL-1 и TGF- $\alpha$ .

Атрофия капилляров и стеноз крупных сосудов неизбежно вызывают ишемию ткани и гипоксию. Прямое измерение кислородного потенциала с использованием платиновых электродов подтвердило гипоксию тканей у больных раком в области головы и шеи после радикальной ЛТ [122, 123]. Как показано выше, гипоксия может приводить к активации некоторых профиброзных механизмов, приводящих к повышенному синтезу коллагена и других белков ВКМ. В условиях гипоксии *in vitro* этот факт доказан, и представляет относительно несложную модель радиационного фиброза. Уменьшение гипоксии, вопреки надеждам, не предупреждает развития фиброза, но гипербарическая оксигенация используется уже в течение многих десятилетий, для лечения широкого диапазона лучевых поражений, включая осложнения с выраженным фиброзным компонентом, несмотря на небольшое число данных, основанных главным образом на маленьких нерандомизированных исследованиях [124]. Только в единственном рандомизированном исследовании, сообщено о репарации ПЛП прямой кишки после облучения таза [125]. Если результаты этого исследования подтвердятся другими авторами, то это откроет реальные перспективы регресса послелучевого фиброза. Предполагаемые механизмы действия гипербарической оксигенации включают уменьшение эндотелиальной адгезии, усиление эндотелиального фибринолиза, а также стимуляции ангиогенеза [126, 127, 128].

#### **Роль воспаления**

Как показано в первой половине обзора, воспаление часто необходимо для инициирования фиброза, а в дальнейшем фиброгенез возможен без его участия. При гистологическом исследова-

нии некроз альвеолярных клеток и наличие гистиоцитов (макрофагов), которые являются источниками профиброзных цитокинов и ПСР, наблюдается в течение нескольких недель после лучевой терапии легкого [129, 130]. Роль этих клеток воспаления в фиброзе неясна, но на основе данных экспериментальных исследований предполагается, что воспалительная фаза, возможно, не столь важна при развитии пострадиационного фиброза [131, 132]. Особенностью классической гистологической картины радиационного фиброза является незначительное количество клеток воспаления при отсутствии инфекции [72]. Роль инфекции более значима при развитии стриктур кишечника у человека, в которых обнаруживаются клетки воспаления, окружающие капилляры в подслизистом и мышечном слое, серозной оболочке, как было показано на примере 16 пациентов, оперированных в среднем через 8 месяцев (диапазон 1–52 месяца) после ЛТ [76]. В зоне радиационного воздействия в артериолах имела пролиферация интимы с наличием макрофагов с включениями липида, что напоминает гистологическую картину атеросклероза [110]. Интервал после ЛТ является важным при оценке степени клеточной инфильтрации, так как, например, в хирургических рубцах клетки воспаления подвергаются апоптозу после реконструкции ВКМ. В любом случае, клетки воспаления не единственные источники TGF $\beta$ 1 и воспалительных цитокинов. Тромбин также вызывает воспаление, внутрисосудистую коагуляцию, изменения сосудистой проницаемости и стимуляцию секреции цитокинов. Это вызывает сосудистый стаз и тромбоз капилляров сгустком фибрина, как описано в сообщении, основанном на аутопсии легкого, выполненной в промежутке от 30 дней до 5 лет после ЛТ [133].

#### **Роль оксидантного стресса**

Роль окислительного повреждения в развитии радиационного фиброза, вызываемого перекисными свободными радикалами, была доказана в эксперименте на животных, главным образом на мышцах, подвергнутых воздействию очень высоких однократных доз ионизирующей радиации [134, 135]. Механизмы действия оксидантного стресса и причинно-следственная связь его с фиброзом до конца не понятны [136]. Но есть убедительное доказательство, что антиоксидант-

ная терапия, после облучения однократной высокой дозой, значительно уменьшает тяжесть последующего фиброза в эксперименте на животных [136, 137, 138]. Главная проблема для клиницистов состоит в том, как использовать эти данные при фракционированной лучевой терапии, учитывая, что реакции клеток и тканей после однократного воздействия высокой дозы существенно отличаются от эффектов при фракционированном облучении. Клинические проявления оксидантного стресса при фракционированной лучевой терапии включают большой диапазон осложнений, включая фиброз. Первые исследования были основаны на использовании бычьей липосомальной суперокиси Меди/Цинка, а в более поздних испытаниях оценили эффект больших доз  $\alpha$ -токоферола в сочетании с пентоксифилином, хотя некоторые механизмы действия этих препаратов не связаны с их антиоксидантными свойствами [139, 140, 141]. В литературе имеются данные только двух исследований, одно включало 24 больных с фиброзом кожи МЖ, другое 68 — с выраженной лимфедемой руки. У всех больных был рак МЖ I–II стадии и в обоих исследованиях они получили послеоперационную ЛТ в СОД = 50 Гр. В первом исследовании имел место значительный терапевтический эффект, который выразился в уменьшении площади поверхности фиброза кожи. Результаты другого исследования не выявили положительной клинической динамики — объективными методами не зарегистрировано уменьшение объема руки [142, 143]. В дополнение, следует отметить, что клеточные и молекулярные механизмы фибролитического действия комбинации  $\alpha$ -токоферола с пентоксифилином не известны и несмотря на многочисленную литературу, в которой описана эффективность антиоксидантов в эксперименте на животных, роль оксидантного стресса при развитии радиоиндуцированного фиброза у человека остается не известной.

### Заключение

В данном обзоре мы не ставили перед собой задачу описать единственную, последовательную модель пострадиационного фиброза, и это не удивительно, так как фиброз — сложный процесс, включающий взаимодействие между многими типами клеток в отдельно взятом органе. Однако процессы, происходящие при развитии

болезней, в основе которых лежит фиброз, на сегодняшний день более или менее понятны. Данные свидетельствуют, что когда-то активизированные миофибробласты, возможно, уже не требуют паракринной стимуляции фиброгенными цитокинами, что обусловлено положительной аутокринной обратной связью. Если аутокринная активация TGF $\beta$ 1 и CTGF — общая особенность, то это говорит о том, что дальнейшее развитие фиброгенеза происходит уже без воспаления или дополнительных внешних стимулов.

Взаимосвязь между репарацией и фиброзом при заживлении ран, как было подчеркнуто, представляет пример пластичности и способности клеток и тканей изменять свой фенотип в зависимости от условий [144]. Дебаты относительно важности первичного повреждения эндотелиальных или паренхиматозных клеток в этиологии радиационного фиброза не имеют определяющего значения. Оба типа повреждения, вероятно, обеспечивают фиброгенные стимулы, а их приоритетная значимость определяется органом. Доказано, что сублетальные радиационные повреждения клеток также очень важны в патогенезе фиброза. Очень ранние изменения в эндотелии, приводящие к адгезии лейкоцитов и изменению сосудистой проницаемости, могут быть хорошими примерами этого, учитывая, что наличие фибрина в межкапиллярном пространстве при гистологическом исследовании тканей через много лет после ЛТ является признаком сохраняющейся гиперкоагуляции и повышенной сосудистой проницаемости.

Одна из удивительных особенностей моделей фиброза у животных — наличие множественных источников происхождения миофибробластов. У человека при радиационном фиброзе в артериях и кишечнике источниками миофибробластов являются гладкомышечные клетки. Самое простое объяснение этого состоит в том, что гладкомышечные клетки мышечной оболочки кишечника мигрируют в подслизистый слой, где под действием цитокинов трансформируются в миофибробласты. Такая трансформация в облученных артериях достоверно не доказана у человека, но доказана в моделях развития атеросклероза у животных.

Идентификация большого количества механизмов, начиная от начального стимула до син-

теза коллагена, предлагает, казалось бы, широкий диапазон терапевтических стратегий. Например, в эксперименте использование амилоидного белка (SAP) и нейтрализация лизофосфатидиловой кислоты защищает на самых ранних этапах от блеомицинового фиброза. У мышей с отсутствием IL-4 не развивается фиброз легкого после введения блеомицина [46]. Антитела к TGF $\beta$ 1, как показали исследования, позволяют уменьшить частоту и степень тяжести блеомицинового фиброза легких, а устойчивость мышей к фиброзу легкого при отсутствии у них гена Smad3 описана выше [145]. Естественная устойчивость мышей определенной линии к развитию блеомицинового фиброза легких связана с низким уровнем секреции CTGF, которая исчезает после трансфекции вирусной ДНК, содержащей ген CTGF [146]. Но, к сожалению, все эти экспериментальные эффекты до сих пор не нашли терапевтического применения при лечении или профилактике фиброза, в том числе и пострadiaционного у человека. Первое рандомизированное клиническое испытание человеческого рекомбинантного антитела TGF $\beta$ 1 (CAT-192) не показало клинического эффекта у больных с системным склерозом, более того, клинические результаты у больных, получавших CAT-192, оказались хуже, чем в контрольной группе [147].

Недостаточная эффективность терапии антителами к TGF $\beta$ 1, возможно, была обусловлена использованием недостаточных доз облучения, так как плейотропные эффекты TGF $\beta$ 1, являясь отражением его действия на широкий диапазон различных типов клеток, включая иммуноциты и эпителиальные клетки, связаны с высокой токсичностью препарата. В течение ближайших лет, вероятно, станут доступными перспективные препараты и научное сообщество должно быть готово проверить их в хорошо организованных клинических исследованиях. Как в медицине в целом, так и в онкологии, в частности, признание эффективности результатов применения новых препаратов должно быть основано на использовании биомаркеров, что является проблемой, и поэтому, прежде всего, необходима разработка объективных клинических систем оценки [148].

## Литература

1. O'Sullivan B, Levin W. Late radiation-related fibrosis: pathogenesis, manifestations, and current management // *Semin Radiat Oncol* 2003; 13:274–89.
2. Travis EL, Terry NH. Cell depletion and initial and chronic responses in normal tissues // *Front Radiat Ther Oncol* 1989;23:41–59.
3. Rubin P, Johnston CJ, Williams JP, McDonald S, Finkelstein JN. A perpetual cascade of cytokines postirradiation leads to pulmonary fibrosis // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;33:99–109.
4. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular biology of the cell*. New York: Garland Science, Taylor and Francis Group; 2008.
5. Barcellos-Hoff MH. How do tissues respond to damage at the cellular level? The role of cytokines in irradiated tissues // *Radiat Res* 1998;150:S109–20.
6. Rubin P, Casarett GW. *Clinical Radiation Pathology*, vol. 1 and 11. Philadelphia: WB Saunders Company; 1968.
7. Fajardo L-G, Berthrong M, Anderson RE. *Radiation pathology*. New York: Oxford University Press; 2001.
8. Ahn AC, Tewari M, Poon CS, Phillips RS. The limits of reductionism in medicine: could systems biology offer an alternative // *PLoS. Med* 2006;3:P. 208.
9. Peterson RT. Chemical biology and the limits of reductionism // *Nat Chem Biol* 2008;4:635–8.
10. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration // *Nature* 2008; 453:314–21.
11. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot // *Lancet* 2005;366:1736–43.
12. Mantovani A, Garlanda C, Doni A, Bottazzi B. Pentraxins in innate immunity: from C-reactive protein to the long pentraxin PTX3 // *J Clin Immunol* 2008;28:1–13.
13. Rovere P, Peri G, Fazzini F. et al. The long pentraxin PTX3 binds to apoptotic cells and regulates their clearance by antigen-presenting dendritic cells // *Blood* 2000;96:4300–4306.
14. Pilling D, Roife D, Wang M. et al. Reduction of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by serum amyloid P // *J Immunol* 2007;179:4035–4044.
15. Moeller A, Ask K, Warburton D, Gaudie J, Kolb M. The bleomycin animal model: a useful tool to investigate treatment options for idiopathic pulmonary fibrosis? // *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40:362–382.
16. Tager AM, LaCamera P, Shea BS. et al. The lysophosphatidic acid receptor LPA1 links pulmonary fibrosis to lung injury by mediating fibroblast recruitment and vascular leak // *Nat Med* 2008;14:45–54.
17. Oga T, Matsuoka T, Yao C. et al. Prostaglandin F(2 $\alpha$ ) receptor signaling facilitates bleomycin-induced pulmonary fibrosis independently of transforming growth factor-beta // *Nat Med* 2009;15:1426–1430.
18. Olman MA. Beyond TGF-beta: a prostaglandin promotes fibrosis // *Nat Med* 2009;15:1360–1361.
19. Hantash BM, Zhao L, Knowles JA, Lorenz HP. Adult and fetal wound healing // *Front Biosci* 2008;13:51–61.
20. Chaudhary N1, Schnapp A, Park JE. Pharmacologic differentiation of inflammation and fibrosis in the rat bleomycin model // *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:769–776.
21. Gras MP, Verrecchia F, Uitto J, Mauviel A. Down-regulation of human type V11 collagen (COL7A1) promoter activity by dexamethasone. Identification of a glucocorticoid receptor binding region // *Exp Dermatol* 2001;10:28–34.
22. Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm // *Nat Rev Immunol* 2004;4:583–594.
23. Nathan SD. Therapeutic management of idiopathic pulmonary fibrosis: an evidence-based approach // *Clin Chest Med* 2006;27:S27–35.
24. Abraham DJ, Eckes B, Rajkumar V, Krieg T. New developments in fibroblast and myofibroblast biology: implications for fibrosis and scleroderma // *Curr Rheumatol Rep* 2007;9:136–143.
25. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Galli A, Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G. The myofibroblast: one func-

- tion, multiple origins // *Am J Pathol* 2007;170:1807–1816.
26. Sime PJ, O'Reilly KM. Fibrosis of the lung and other tissues: new concepts in pathogenesis and treatment // *Clin Immunol* 2001; 99:308–319.
  27. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis // *J Pathol* 2008; 214:199–210.
  28. Desmouliere A, Redard M, Darby I, Gabbiani G. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar // *Am J Pathol* 1995; 146:56–66.
  29. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling // *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:349–363.
  30. Willis BC, duBois RM, Borok Z. Epithelial origin of myofibroblasts during fibrosis in the lung // *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:377–382.
  31. Graham MF. Pathogenesis of intestinal strictures in Crohn's disease - an update // *Inflamm Bowel Dis* 1995; 1:220–227.
  32. Boban I, Barisic-Dujmovic T, Clark SH. Parabiosis and transplantation models show no evidence of circulating dermal fibroblast progenitors in bleomycin-induced skin fibrosis // *J Cell Physiol* 2008;214:230–237.
  33. Postlethwaite AE, Shigemitsu H, Kanangat S. Cellular origins of fibroblasts: possible implications for organ fibrosis in systemic sclerosis // *Curr Opin Rheumatol* 2004;16:733–738.
  34. Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor-beta and fibrosis // *World J Gastroenterol* 2007; 13:3056–3062.
  35. Anscher MS, Chen L, Rabbani Z. et al. Recent progress in defining mechanisms and potential targets for prevention of normal tissue injury after radiation therapy // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005;62:255–259.
  36. Verrecchia F, Mauviel A, Farge D. Transforming growth factor-beta signaling through the Smad proteins: role in systemic sclerosis // *Autoimmun Rev* 2006; 5:563–569.
  37. Leask A, Denton CP, Abraham DJ. Insights into the molecular mechanism of chronic fibrosis: the role of connective tissue growth factor in scleroderma // *J Invest Dermatol* 2004;122:1–6.
  38. Heusinger-Ribeiro J, Eberlein M, Wahab NA, Goppelt-Strube M. Expression of connective tissue growth factor in human renal fibroblasts: regulatory roles of RhoA and cAMP // *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1853–1861.
  39. Akhmetshina A, Dees C, Pileckyte M. et al. Rho-associated kinases are crucial for myofibroblast differentiation and production of extracellular matrix in scleroderma fibroblasts // *Arthritis Rheum* 2008;58:2553–2564.
  40. Gordon S. Alternative activation of macrophages // *Nat Rev Immunol* 2003;3:23–35.
  41. Zhu Z, Homer RJ, Wang Z. et al. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production // *J Clin Invest* 1999; 103:779–788.
  42. Lee CG, Homer RJ, Zhu Z. et al. Interleukin-13 induces Tissue Fibrosis by Selectively Stimulating and Activating Transforming Growth Factor {beta}1 // *J. Exp. Med.* 2001;194:809–822.
  43. Emura M, Nagai S, Takeuchi M, Kitaichi M, Izumi T. In vitro production of B cell growth factor and B cell differentiation factor by peripheral blood mononuclear cells and bronchoalveolar lavage T lymphocytes from patients with idiopathic pulmonary fibrosis // *Clin Exp Immunol* 1990;82:133–139.
  44. Wallace WA, Ramage EA, Lamb D, Howie SE. A type 2 (Th2-like) pattern of immune response predominates in the pulmonary interstitium of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis (CFA) // *Clin Exp Immunol* 1995;101:436–441.
  45. Buttner C, Skupin A, Reimann T. et al. Local production of interleukin-4 during radiation-induced pneumonitis and pulmonary fibrosis in rats: macrophages as a prominent source of interleukin-4 // *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17:315–325.
  46. Huaux F, Liu T, McGarry B, Ullenbruch M, Phan SH. Dual roles of 1L-4 in lung injury and fibrosis // *J Immunol* 2003;170:2083–2092.
  47. Smith RE, Strieter RM, Phan SH. et al. Production and function of murine macrophage inflammatory protein-1 alpha in bleomycin-induced lung injury // *J Immunol* 1994;153:4704–4712.
  48. Abraham D, Distler O. How does endothelial cell injury start? The role of endothelin in systemic sclerosis // *Arthritis Res Ther* 2007;9:S2.
  49. Grotendorst GR, Okochi H, Hayashi N. A novel transforming growth factor beta response element controls the expression of the connective tissue growth factor gene // *Cell Growth Differ* 1996;7:469–480.
  50. Gressner OA, Gressner AM. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases // *Liver Int* 2008;28:1065–1079.
  51. Holmes A, Abraham DJ, Sa S, Shiwen X, Black CM, Leask A. CTGF and SMADs, maintenance of scleroderma phenotype is independent of SMAD signaling // *J Biol Chem* 2001;276:10594–10601.
  52. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine // *Genes Dev* 2008;22:1276–1312.
  53. Bonner JC. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases // *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15:255–273.
  54. Ingram JL, Bonner JC. EGF and PDGF receptor tyrosine kinases as therapeutic targets for chronic lung diseases // *Curr Mol Med* 2006;6:409–421.
  55. Zhuo Y, Zhang J, Laboy M, Lasky JA. Modulation of PDGF-C and PDGF-D expression during bleomycin-induced lung fibrosis // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;286:L182–188.
  56. Abdollahi A, Li M, Ping G. et al. Inhibition of platelet-derived growth factor signaling attenuates pulmonary fibrosis // *J Exp Med* 2005;201:925–935.
  57. Grotendorst GR, Rahmanie H, Duncan MR. Combinatorial signaling pathways determine fibroblast proliferation and myofibroblast differentiation // *FASEB J* 2004;18:469–479.
  58. Norman JT, Clark 1M, Garcia PL. Hypoxia promotes fibrogenesis in human renal fibroblasts // *Kidney Int* 2000;58:2351–2366.
  59. Fine LG, Bandyopadhyay D, Norman JT. Is there a common mechanism for the progression of different types of renal diseases other than proteinuria? Towards the unifying theme of chronic hypoxia // *Kidney Int Suppl* 2000;75:S22–26.
  60. Distler JH, Jungel A, Pileckyte M. et al. Hypoxia-induced increase in the production of extracellular matrix proteins in systemic sclerosis // *Arthritis Rheum* 2007;56:4203–4215.
  61. Silverstein JL, Steen VD, Medsger Jr TA, Falanga V. Cutaneous hypoxia in patients with systemic sclerosis (scleroderma) // *Arch Dermatol* 1988;124:1379–1382.
  62. Valentini G, Leonardo G, Moles DA. et al. Transcutaneous oxygen pressure in systemic sclerosis: evaluation at different sensor temperatures and relationship to skin perfusion // *Arch Dermatol Res* 1991;283:285–288.
  63. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44–84.
  64. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? // *Lancet* 1994;344:721–724.
  65. Murrell DF. A radical proposal for the pathogenesis of scleroderma // *J Am Acad Dermatol* 1993;28:78–85.
  66. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology // *Physiol Rev* 2007;87:245–313.

67. Dewhirst MW, Cao Y, Moeller B. Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response // *Nat Rev Cancer* 2008;8: 425–437.
68. Jobling MF, Mott JD, Finnegan MT. et al. Isoform-specific activation of latent [97 transforming growth factor beta (LTGF-beta) by reactive oxygen species // *Radiat Res* 2006;166:839–848.
69. Gabrielli A, Svegliati S, Moroncini G, Pomponio G, Santillo M, Avvedimento EV. Oxidative stress and the pathogenesis of scleroderma: the Murrell's hypothesis revisited // *Semin Immunopathol* 2008;30:329–337.
70. Packard RR, Lichtman AH Libby P. Innate and adaptive immunity in [99 atherosclerosis // *Semin Immunopathol* 2009.
71. Madamanchi NR, Hakim ZS, Runge MS. Oxidative stress in atherogenesis and arterial thrombosis: the disconnect between cellular studies and clinical outcomes // *J Thromb Haemost* 2005;3:254–267.
72. Fajardo L-G. *Morphological Patterns of Radiation Injury*. Basel: Karger; 1989.
73. Bennett DE, Million RR, Ackerman LV. Bilateral radiation pneumonitis, a complication of the radiotherapy of bronchogenic carcinoma. (Report and analysis of seven cases with autopsy) // *Cancer* 1969;23:1001–1018.
74. Margolis LW, Phillips TL. Whole-lung irradiation for metastatic tumor // *Radiology* 1969; 93:1173–1179.
75. Canney PA, Dean S. Transforming growth factor beta: a promoter of late connective tissue injury following radiotherapy? // *Br J Radiol* 1990; 63:620–623.
76. Vozenin-Brotons MC, Milliat F, Sabourin JC. et al. Fibrogenic signals in patients with radiation enteritis are associated with increased connective tissue growth factor expression // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 56:561–572.
77. Bourgier C, Haydont V, Milliat F. et al. Inhibition of Rho kinase modulates radiation induced fibrogenic phenotype in intestinal smooth muscle cells through alteration of the cytoskeleton and connective tissue growth factor expression // *Gut* 2005; 54:336–343.
78. Hoving S, Heeneman S, Gijbels MJ. et al. Single-dose and fractionated irradiation promote initiation and progression of atherosclerosis and induce an inflammatory plaque phenotype in ApoE(-/-) mice // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 71:848–857.
79. Strup-Perrot C, Mathe D, Linard C. et al. Global gene expression profiles reveal an increase in mRNA levels of collagens, MMPs, and TIMPs in late radiation enteritis // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287:G875–885.
80. Benyahia B Magdelenat H. Immunohistochemical characterization of human gamma-irradiated skin // *Bull Cancer/Radiother* 1993;80:126–134.
81. Autio P, Saarto T, Tenhunen M, Elomaa I, Risteli J, Lahtinen T. Demonstration of increased collagen synthesis in irradiated human skin in vivo // *Br J Cancer* 1998; 77:2331–2335.
82. Sassi M, Jukkola A, Rieki R. et al. Type 1 collagen turnover and cross-linking are increased in irradiated skin of breast cancer patients // *Radiother Oncol* 110 2001;58:317–323.
83. Rieki R, Harvima IT, Jukkola A, Risteli J, Oikarinen A. The production of [111 collagen and the activity of mast-cell chymase increase in human skin after irradiation therapy // *Exp Dermatol* 2004;13:364–371.
84. Hovdenak N, Wang J, Sung CC, Kelly T, Fajardo LF, Hauer-Jensen M. Clinical significance of increased gelatinolytic activity in the rectal mucosa during [112 external beam radiation therapy of prostate cancer // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;53:919–927.
85. Milliat F, Francois A, Isoir M. et al. Influence of endothelial cells on vascular smooth muscle cells phenotype after irradiation: implication in radiation- [114 induced vascular damages // *Am J Pathol* 2006; 169:1484–1495.
86. Rudolph R, Vande Berg J, Schneider JA, Fisher JC, Poolman WL. Slowed growth of cultured fibroblasts from human radiation wounds // *Plast Reconstr Surg* 1988; 82:669–677.
87. Delanian S, Martin MT, Bravard A, Luccioni C, Lefaix JL. Abnormal phenotype of cultured fibroblasts in human skin with chronic radiotherapy damage // *Radiother Oncol* 1997; 47:225–261.
88. Larramendy ML, Majander P, Saarto T. et al. Radiation therapy for breast [116 cancer and clonal chromosome translocations: a fluorescence in situ hybridization study // *Cancer Genet Cytogenet* 1998;100:57–62.
89. Di Leonardo A, Linke SP, Clarkin K, Wahl GM. DNA damage triggers a prolonged p53-dependent G1 arrest and long-term induction of Cip1 in normal human fibroblasts // *Genes Dev* 1994; 8:2540–2551.
90. DeSimone JN, Dolezalova H, Redpath JL, Stanbridge EJ. Prolonged cell cycle arrest in irradiated human diploid skin fibroblasts: the role of nutrient deprivation // *Radiat Res* 2000; 153:131–143.
91. Rodemann HP, Peterson HP, Schwenke K, von Wangenheim KH. Terminal differentiation of human fibroblasts is induced by radiation // *Scanning Microsc* 1991; 5:1135–1142 [discussion 1142–1133].
92. Bumann J, Santo-Holtje L, Loffler H, Bamberg M, Rodemann HP. Radiation-induced alterations of the proliferation dynamics of human skin fibroblasts after repeated irradiation in the subtherapeutic dose range // *Strahlenther Onkol* 1995; 171:35–41.
93. Herskind C, Bentzen SM, Overgaard J, Overgaard M, Bamberg M, Rodemann HP. Differentiation state of skin fibroblast cultures versus risk of subcutaneous fibrosis after radiotherapy // *Radiother Oncol* 1998; 47: 263–269.
94. Russell NS, Lara PC, Grummels A. et al. In vitro differentiation characteristics of human skin fibroblasts: correlations with radiotherapy-induced breast fibrosis in patients // *Int J Radiat Biol* 2000; 76:231–240.
95. Vozenin-Brotons MC, Milliat F, Linard C. et al. Gene expression profile in human late radiation enteritis obtained by high-density cDNA array [124 hybridization // *Radiat Res* 2004;161:299–311.
96. Haydont V, Mathe D, Bourgier C. et al. Induction of CTGF by TGF-beta1 in normal and radiation enteritis human smooth muscle cells: Smad/Rho [125 balance and therapeutic perspectives] // *Radiother Oncol* 2005; 76:219–225.
97. Shimokawa H Yasuda S. Myocardial ischemia: current concepts and future perspectives // *J Cardiol* 2008; 52:67–78.
98. Jernigan NL, Walker BR, Resta TC. Reactive oxygen species mediate RhoA/Rho kinase-induced Ca<sup>2+</sup> sensitization in pulmonary vascular smooth muscle following chronic hypoxia // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295:P.515–529.
99. Jullien N, Blirando K, Milliat F, Sabourin JC, Benderitter M, Francois A. Up-regulation of endothelin type a receptor in human and rat radiation proctitis: pre-clinical therapeutic approach with endothelin receptor blockade // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 74:528–538.
100. Haydont V, Riser BL, Aigueperse J, Vozenin-Brotons MC. Specific signals involved in the long-term maintenance of radiation-induced fibrogenic differentiation: a role for CCN2 and low concentration of TGF-beta1 // *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294:C1332–1341.
101. Gaugler MH, Vereycken-Holler V, Squiban C, Vandamme M, Vozenin-Brotons MC, Benderitter M. Pravastatin limits endothelial activation after irradiation and decreases the resulting inflammatory and thrombotic responses // *Radiat Res* 2005;163:479–487.
102. Haydont V, Bourgier C, Pocard M. et al. Pravastatin inhibits the Rho/CCN2/extracellular matrix cascade in human fibrosis explants and improves radiation-induced intestinal fibrosis in rats // *Clin Cancer Res* 2007; 13:5331–5340.
103. Holler V, Buard V, Gaugler MH. et al. Pravastatin limits radiation-induced vascular dysfunction in the skin // *J Invest Dermatol* 2009;129:1280–1291.
104. Barcellos-Hoff MH, Dix TA. Redox-mediated activation of latent transforming growth factor-beta 1 // *Mol Endocrinol* 1996;10:1077–1083.



105. Zheng H, Wang J, Koteliensky VE, Gotwals PJ, Hauer-Jensen M. Recombinant soluble transforming growth factor beta type II receptor ameliorates radiation enteropathy in mice // *Gastroenterology* 2000; 119:1286–1296.
106. Anscher MS, Thrasher B, Zgonjanin L. et al. Small molecular inhibitor of transforming growth factor-beta protects against development of radiation-induced lung injury // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008;71:829–837.
107. Fajardo LF. The unique physiology of endothelial cells and its implications in radiobiology // *Front Radiat Ther Oncol* 1989;23:96–112.
108. Hopewell JW, Young CM. Changes in the microcirculation of normal tissues after irradiation // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1978;4:53–58.
109. Hopewell JW, Calvo W, Jaenke R, Reinhold HS, Robbins ME, Whitehouse EM. Microvasculature and radiation damage // *Recent Results Cancer Res* 1993; 130:1–16.
110. Gross NJ. Pulmonary effects of radiation therapy // *Ann Intern Med* 1977;86:81–92.
111. Kimura H, Wu NZ, Dodge R. et al. Inhibition of radiation-induced up-regulation of leukocyte adhesion to endothelial cells with the platelet-activating factor inhibitor, BN52021 // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;33:627–633.
112. Molla M, Panes J. Radiation-induced intestinal inflammation // *World J Gastroenterol* 2007; 13:3043–3046.
113. Law MP. Vascular permeability and late radiation fibrosis in mouse lung // *Radiat Res* 1985;103:60–76.
114. Wang J, Zheng H, Ou X, Fink LM, Hauer-Jensen M. Deficiency of microvascular thrombomodulin and up-regulation of protease-activated receptor-1 in irradiated rat intestine: possible link between endothelial dysfunction and chronic radiation fibrosis // *Am J Pathol* 2002;160:2063–2072.
115. Wang J, Albertson CM, Zheng H, Fink LM, Herbert JM, Hauer-Jensen M. Short-term inhibition of ADP-induced platelet aggregation by clopidogrel ameliorates radiation-induced toxicity in rat small intestine // *Thromb Haemost* 2002;87:122–128.
116. Wang J, Zheng H, Ou X. et al. Hirudin ameliorates intestinal radiation toxicity in the rat: support for thrombin inhibition as strategy to minimize side-effects after radiation therapy and as countermeasure against radiation exposure // *J Thromb Haemost* 2004;2:2027–2035.
117. Richter KK, Fink LM, Hughes BM, Sung CC, Hauer-Jensen M. Is the loss of endothelial thrombomodulin involved in the mechanism of chronicity in late radiation enteropathy? // *Radiother Oncol* 1997;44:65–71.
118. Milliat F, Sabourin JC, Tarlet G. et al. Essential role of plasminogen activator inhibitor type-1 in radiation enteropathy // *Am J Pathol* 2008;172:691–701.
119. Boerma M, Wang J, Kulkarni A. et al. Influence of endothelin 1 receptor inhibition on functional, structural and molecular changes in the rat heart after irradiation // *Radiat Res* 2008;170:275–283.
120. Kruse JJ, Floom BG, te Poele JA, Russell NS, Stewart FA. Radiation-induced activation of TGF-beta signaling pathways in relation to vascular damage in mouse kidneys // *Radiat Res* 2009;171:188–197.
121. Scharpfenecker M, Kruse JJ, Sprong D, Russell NS, Ten Dijke P, Stewart FA. Ionizing radiation shifts the PAI-1/1D-1 balance and activates notch signaling in endothelial cells // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 73:506–513.
122. Marx RE, Johnson RP, Kline SN. Prevention of osteoradionecrosis: a randomized prospective clinical trial of hyperbaric oxygen versus penicillin // *J Am Dent Assoc* 1985;111:49–54.
123. Westbury CB, Pearson A, Nerurkar A. et al. Hypoxia can be detected in irradiated normal human tissue: a study using the hypoxic marker pimonidazole hydrochloride // *Br J Radiol* 2007;80:934–938.
124. Bennett MH, Feldmeier J, Hampson N, Smee R, Milross C. Hyperbaric oxygen therapy for late radiation tissue injury // *Cochrane Database Syst Rev* 2005: CD005005.
125. Clarke RE, Tenorio LM, Hussey JR. et al. Hyperbaric oxygen treatment of chronic refractory radiation proctitis: a randomized and controlled double-blind crossover trial with long-term follow-up // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008;72:134–143.
126. Buras J. Basic mechanisms of hyperbaric oxygen in the treatment of ischemia-reperfusion injury // *Int Anesthesiol Clin* 2000;38:91–109.
127. Radziwon P, Olszanski R, Tomaszewski R. et al. Decreased levels of PAI-1 and alpha 2-antiplasmin contribute to enhanced fibrinolytic activity in divers // *Thromb Res* 2007;121:235–240.
128. Thom SR, Bhopale VM, Velazquez OC, Goldstein LJ, Thom LH, Buerk DG. Stem cell mobilization by hyperbaric oxygen // *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290:H1378–1386.
129. Warren S, Spencer J. Radiation reaction in the lung // *Am J Roentgenol* 1940; 43:682–701.
130. Margolis LW, Phillips TL. Whole-lung irradiation for metastatic tumour // *Radiology* 1969;93:1173–1179.
131. Travis eL, Down JD. Repair in mouse lung after split doses of X rays // *Radiat Res* 1981;87:166–74.
132. Morgan GW, Breit SN. Radiation and the lung: a reevaluation of the mechanisms mediating pulmonary injury // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 31:361–369.
133. Jennings FL, Arden A. Development of radiation pneumonitis // *Arch Pathol* 1962; 74:101–110.
134. Zhao W, Diz DI, Robbins ME. Oxidative damage pathways in relation to normal tissue injury // *Br J Radiol* 2007; 80:S23–31.
135. Fleckenstein K, Zgonjanin L, Chen L. et al. Temporal onset of hypoxia and oxidative stress after pulmonary irradiation // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 68:196–204.
136. Jackson IL, Chen L, Batinic-Haberle I, Vujaskovic Z. Superoxide dismutase mimetic reduces hypoxia-induced O<sub>2</sub>-, TGF-beta, and VEGF production by macrophages // *Free Radic Res* 2007; 41:8–14.
137. Lefaix JL, Delanian S, Leplat JJ. et al. Successful treatment of radiation-induced fibrosis using Cu/Zn-SOD and Mn-SOD: an experimental study // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;35:305–312.
138. Lefaix JL, Delanian S, Vozenin MC, Leplat JJ, Tricaud Y, Martin M. Striking regression of subcutaneous fibrosis induced by high doses of gamma rays using a combination of pentoxifylline and alpha-tocopherol: an experimental study // *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;43:839–847.
139. Delanian S, Baillet F, Huart J, Lefaix JL, Maulard C, Housset M. Successful treatment of radiation-induced fibrosis using liposomal Cu/Zn superoxide dismutase: clinical trial // *Radiother Oncol* 1994;32:12–20.
140. Delanian S. Striking regression of radiation-induced fibrosis by a combination of pentoxifylline and tocopherol // *Br J Radiol* 1998;71:892–894.
141. Delanian S, Lefaix JL. Current management for late normal tissue injury: radiation-induced fibrosis and necrosis // *Semin Radiat Oncol* 2007;17:99–107.
142. Delanian S, Porcher R, Balla-Mekias S, Lefaix JL. Randomized, placebo-controlled trial of combined pentoxifylline and tocopherol for regression of superficial radiation-induced fibrosis // *J Clin Oncol* 2003;21: 2545–2550.
143. Gothard L, Cornes P, Earl J. et al. Double-blind placebo-controlled randomised trial of vitamin E and pentoxifylline in patients with chronic arm lymphoedema and fibrosis after surgery and radiotherapy for breast cancer // *Radiother Oncol* 2004;73:133–139.
144. Omenetti A, Porrello A, Jung Y. et al. Hedgehog signaling regulates epithelial-mesenchymal transition during biliary fibrosis in rodents and humans // *J Clin Invest* 2008;118:3331–3342.

- 
145. Giri SN, Hyde DM, Hollinger MA. *Effect of antibody to transforming growth factor beta on bleomycin induced accumulation of lung collagen in mice* // *Thorax* 1993;48:959–966.
146. Bonniaud P, Martin G, Margetts PJ. *et al. Connective tissue growth factor is crucial to inducing a profibrotic environment in «fibrosis-resistant» BALB/c mouse lungs* // *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:510–516.
147. Denton CP, Merkel PA, Furst DE. *et al. Recombinant human anti-transforming growth factor beta1 antibody therapy in systemic sclerosis: a multicenter, randomized, placebo-controlled phase I/II trial of CAT-192* // *Arthritis Rheum* 2007;56:323–333.
148. Kumar S., Kinders R, Rubinstein L. *et al. Compressing drug development timelines in oncology using phase «0» trials* // *Nat Rev Cancer* 2007;7:131–139.

Надходження до редакції 22.07.2013.

Прийнято 12.08.2013.

Адреса для листування:

Окунцев Дмитро Віталійович,  
вул. Мазурова, 67, корп. 2, кв. 154, Гомель, 246012,  
Білорусія.

Адрес для переписки:

Окунцев Дмитрий Витальевич,  
ул. Мазурова, 67, корп. 2, кв. 154, Гомель, 246012,  
Белоруссия.

E-mail: dima@grcoc.gomel.by