

# Молекулярные основы канцерогенеза. Часть 1.

# **Молекулярные основы канцерогенеза. Часть 1.**

**Злокачественная опухоль развивается в результате многочисленных изменений ДНК, которые приводят к неустранимым нарушениям структуры и функции клеток.**

**В результате клетки выходят из под регулирующего влияния организма, теряют способность к апоптозу и приобретают свойство беспредельного деления.**

- По утверждениям молекулярных биологов и генетиков рак это ситуация состоящая из генетической нестабильности, которая представлена пятью или шестью мутациями или другими изменениями генов, которая развивается в течении нескольких лет. Возникновение и развитие опухоли представляет собой сложный и продолжительный по времени процесс. Его принято делить на три последовательных этапа:  
инициация, промоция, прогрессия.

# Инициация

- заключается в возникновении стойких нарушений в генах, регулирующих жизнедеятельность клетки. В результате этих нарушений меняется структура и свойство клеток. Генотоксические агенты, воздействие которых необходимо для появления таких изменений называются инициаторами (химические, физические, биологические агенты).
- Инициированные состояния могут сохраняться на всю жизнь, даже после однократного контакта с клеткой. В некоторых семьях оно передается по наследству в виде наследственного дефекта генов.

# Промоция

- это активизация трансформированных клеток и приобретение ими свойств, присущих злокачественной опухоли. Воздействия одного промотора недостаточно для трансформации клетки. Для реализации токсического эффекта промоторов на клетку оно должно быть продолжительным и повторным.

# Прогрессия

- **ЭТОТ стойкие качественные изменения свойств опухоли, в результате которых повышается злокачественный потенциал опухолевых клеток.**

# Онкогены и гены-супрессоры

- **Гены, контролирующие жизнедеятельность и прохождение клеткой клеточного цикла, делятся на две различные по своей функции группы: онкогены и гены-супрессоры. К повреждению ДНК и злокачественной трансформации клетки могут привести нарушения генов обеих групп.**

# Онкогены

- -это гены, ускоряющие и нарушающие клеточный цикл, и способные вызвать образование опухоли. На сегодняшний день идентифицированы более 150 онкогенов.
- Они представляют собой гены, внесенные в клетку чужеродными вирусами или возникшие из обычных клеточных генов путем усиления или изменения их функции.
- Клеточные гены, из которых могут возникнуть онкогены, называются протоонкогенами.

# **Опухолевые супрессоры (синоним анти-онкогены)**

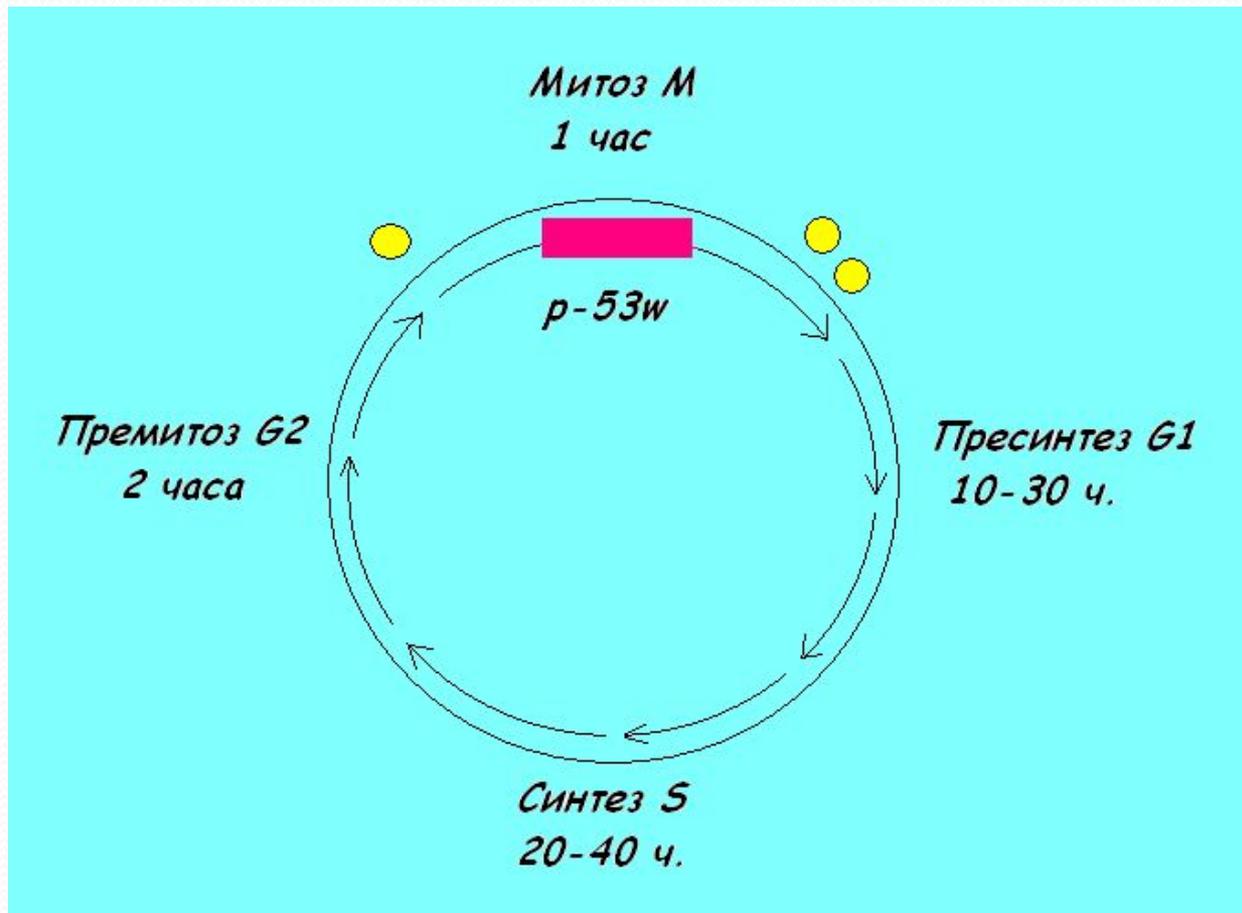
- **гены, функция которых заключается в ограничении интенсивности молекулярных реакций и подавлении поврежденных клеток.**
- **При нарушении этих генов резко повышается вероятность возникновения новообразований, а восстановление их функции может подавить рост опухоли.**

# Среди опухолевых супрессоров важную роль играет **ген p-53**.

- **Ген p-53** контролирует правильное прохождение клеточного цикла, дифференцировку клеток их моторную и миграционную способности, образование сосудистой сети, многие обменные процессы.

- **Ген p-53** регулирует процесс клеточного деления, останавливает клеточное деление с поврежденной ДНК и запускает сложный механизм репарации клетки и если это не возможно, то ликвидацию клетки.
- После ликвидации повреждений действие гена прекращается и клетка вновь начинает делиться.
- При не возможности ликвидировать повреждение ген p-53 активизирует программу апоптоза и клетка погибает. Таким образом, ликвидируется угроза возникновения опухоли.

# Клеточный цикл



- Мутантный ген **p-53** теряет способность подавлять опухолевый рост т.е не активизирует и не запускает процессы апоптоза – запрограммированной клеточной гибели после определенного количества клеточных делений.

Митоз М  
1 час

$r = 53\text{ м}$

Премитоз G2  
2 часа

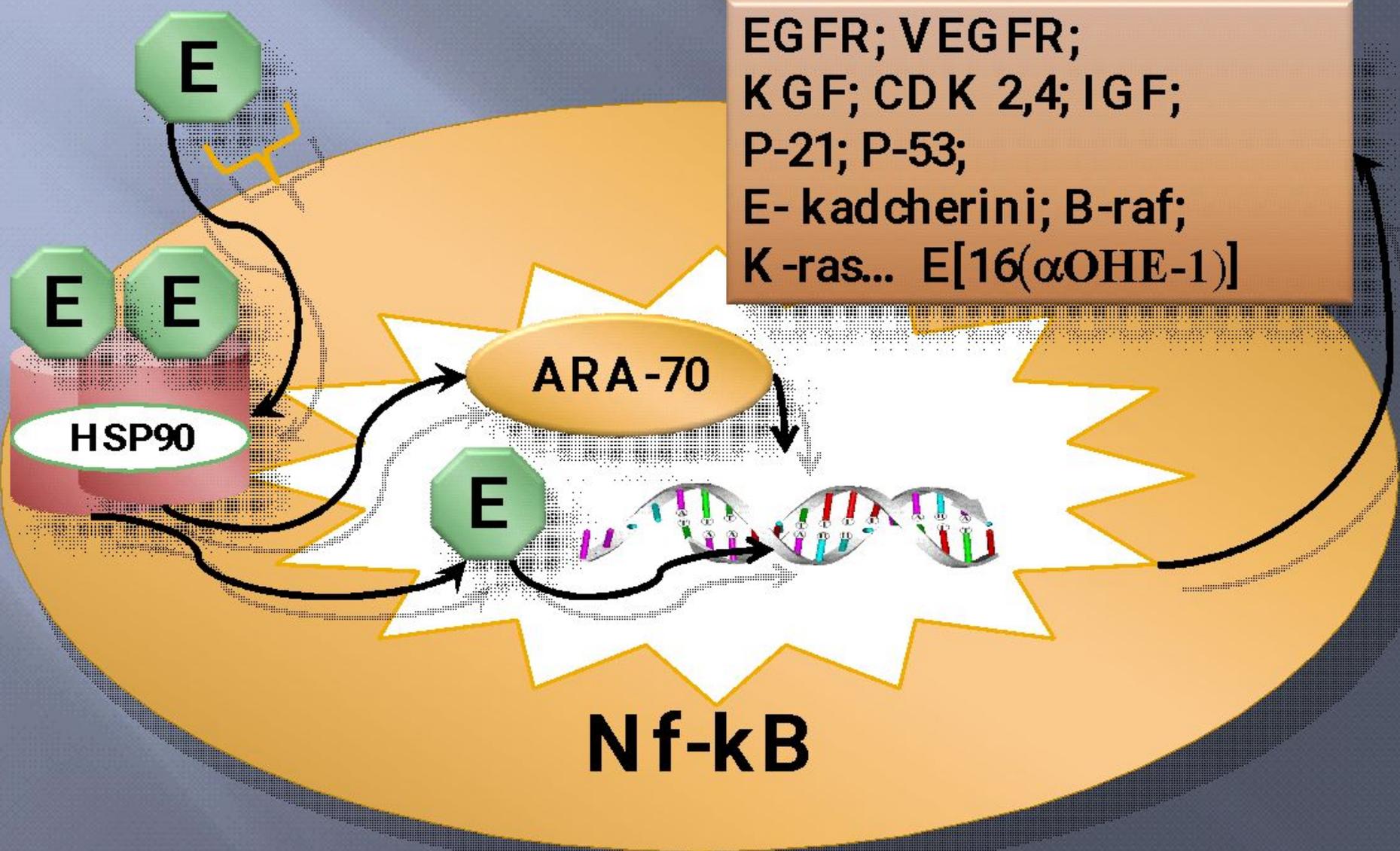
Пресинтез G1  
10-30 ч.

Синтез S  
20-40 ч.



- **На сегодняшний день установлены молекулярные механизмы возникновения злокачественных новообразований молочной железы и других гормонозависимых опухолей человека.**

# Эстрогеновый путь регуляции пролиферативного сигнала



TNF- $\alpha$

TNFR

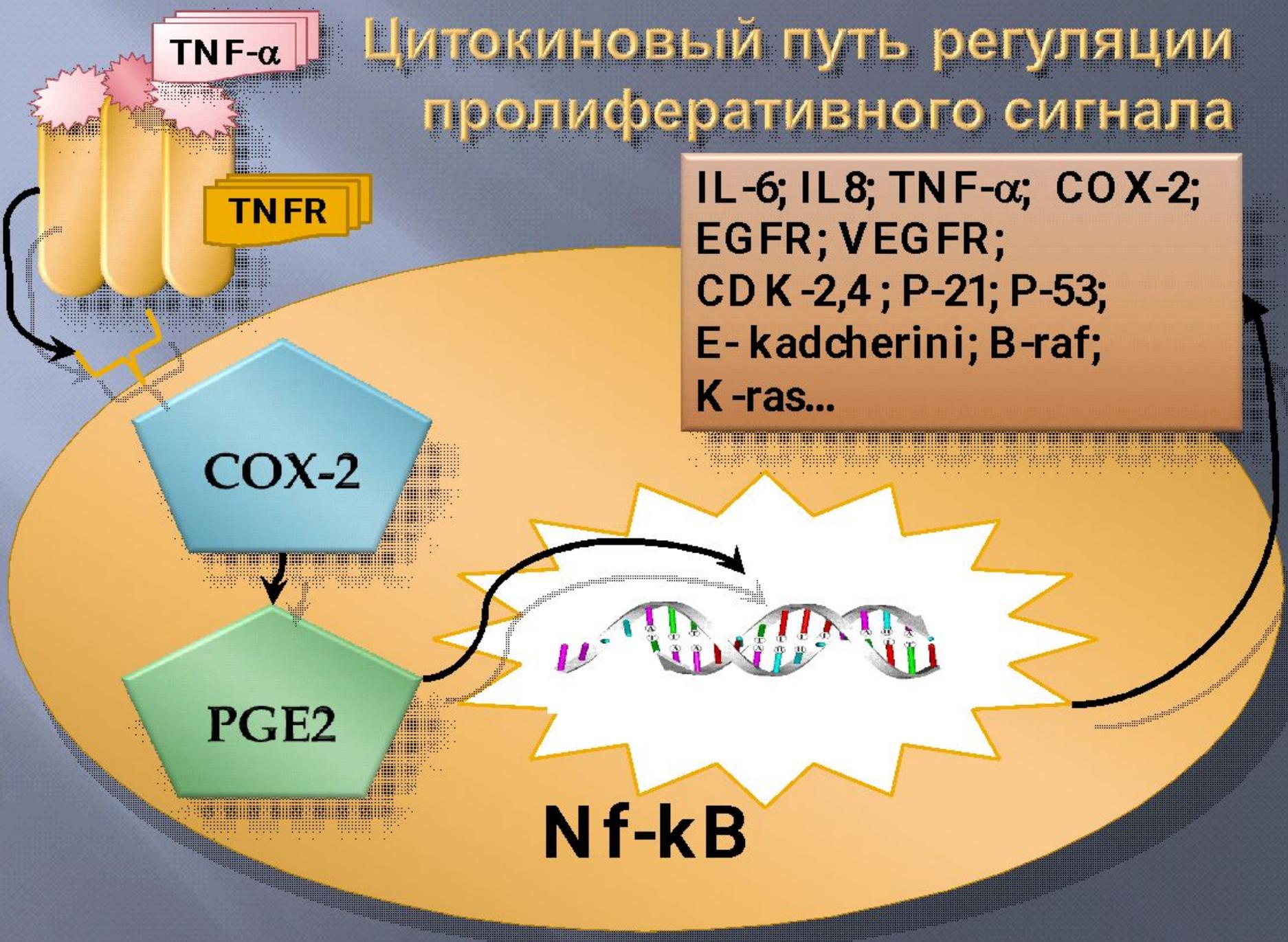
# Цитокиновый путь регуляции пролиферативного сигнала

IL-6; IL8; TNF- $\alpha$ ; COX-2;  
EGFR; VEGFR;  
CDK-2,4; P-21; P-53;  
E-kadherini; B-raf;  
K-ras...

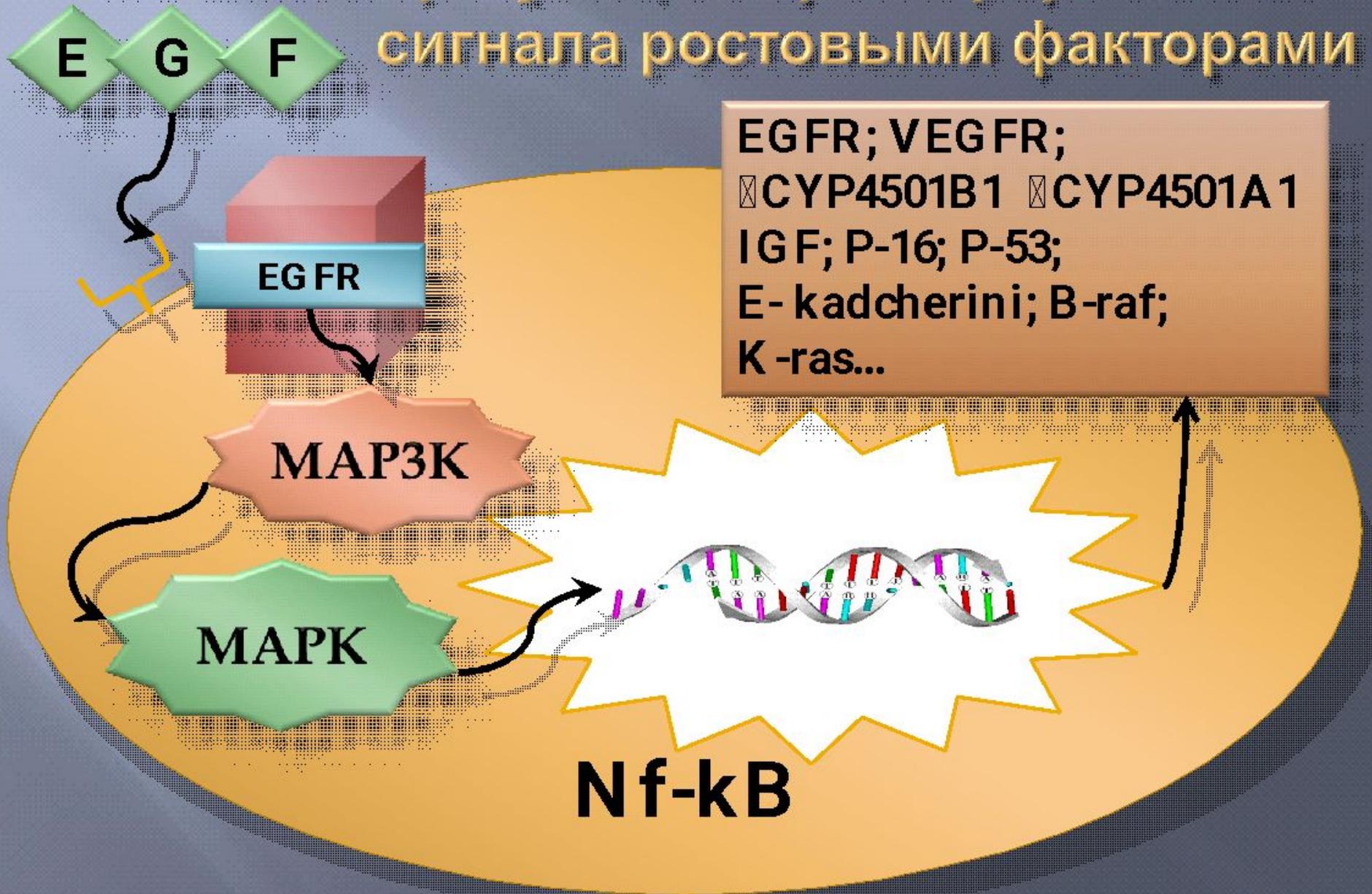
COX-2

PGE2

Nf-kB



# Механизм регуляции пролиферативного сигнала ростовыми факторами

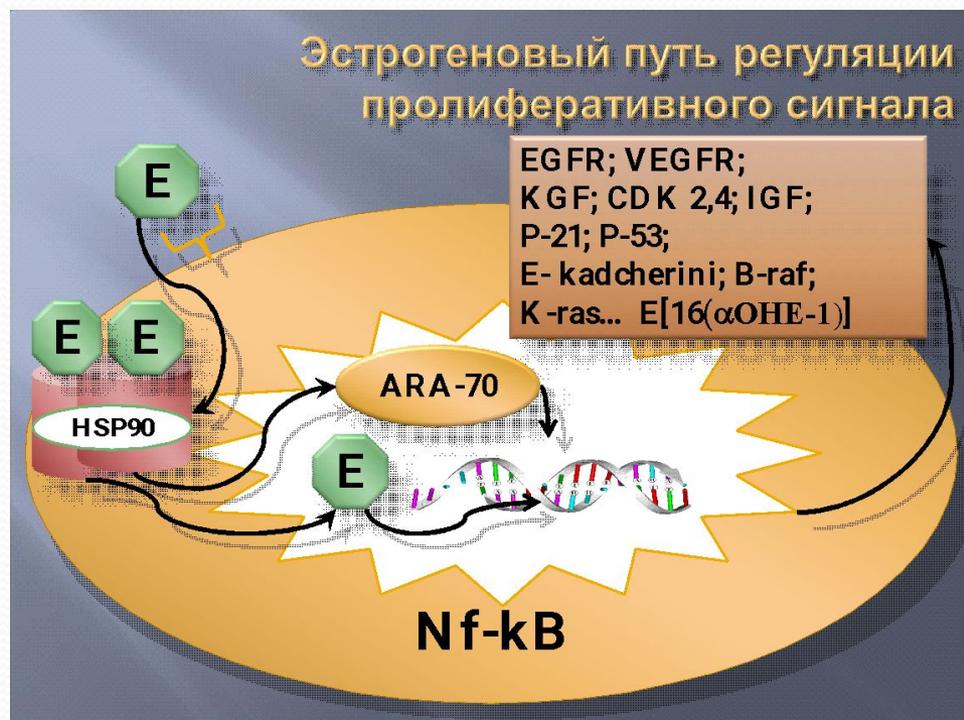


**Молекулярные основы  
канцерогенеза. Часть 2.**

# **Молекулярные основы канцерогенеза. Часть 2.**

- Механизмы возникновения злокачественных новообразований.**
- Современные методы диагностики в онкологии.**

# На сегодняшний день установлены молекулярные механизмы возникновения злокачественных новообразований.



TNF- $\alpha$

TNFR

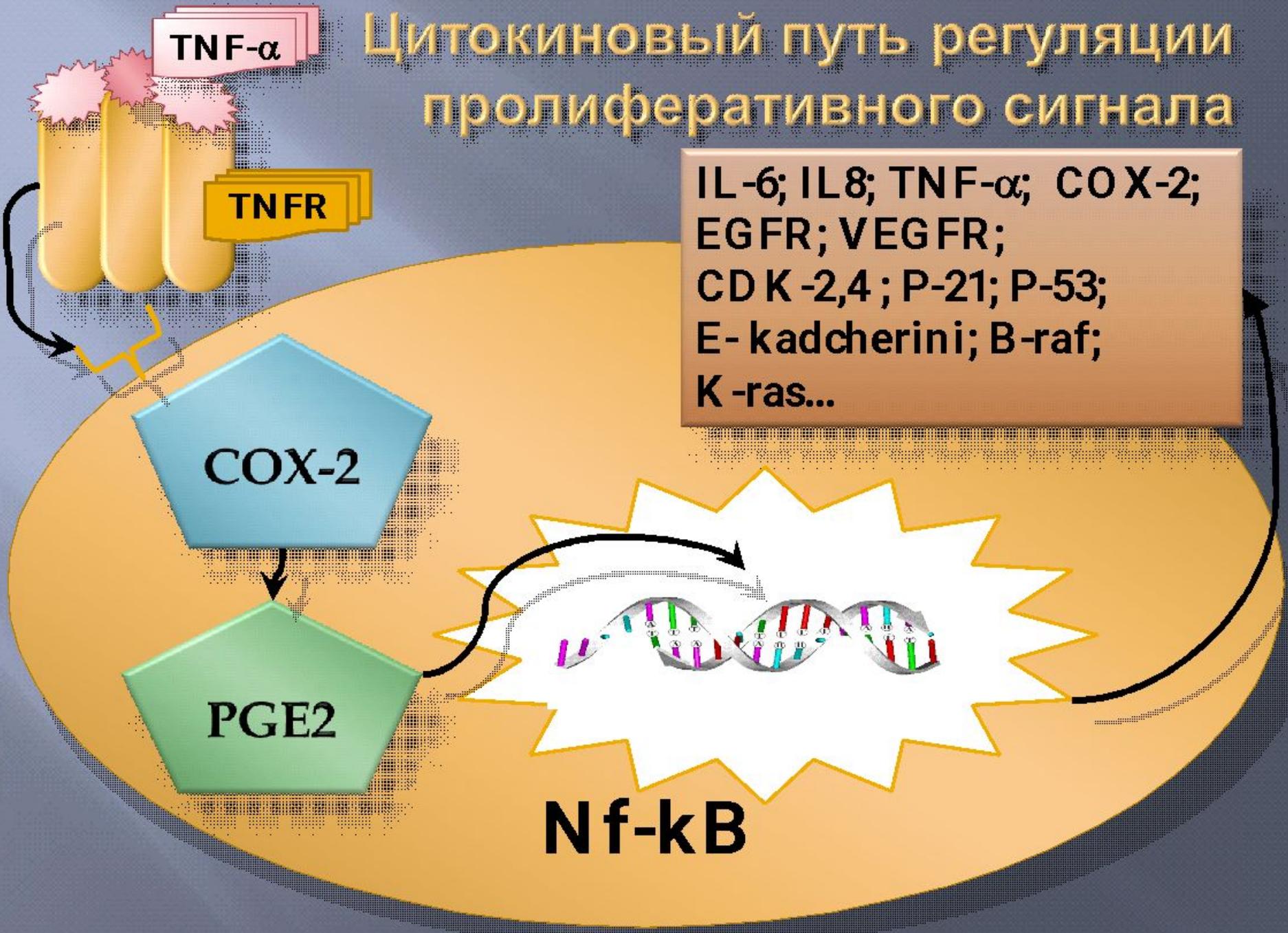
# Цитокиновый путь регуляции пролиферативного сигнала

IL-6; IL8; TNF- $\alpha$ ; COX-2;  
EGFR; VEGFR;  
CDK-2,4; P-21; P-53;  
E-kadherini; B-raf;  
K-ras...

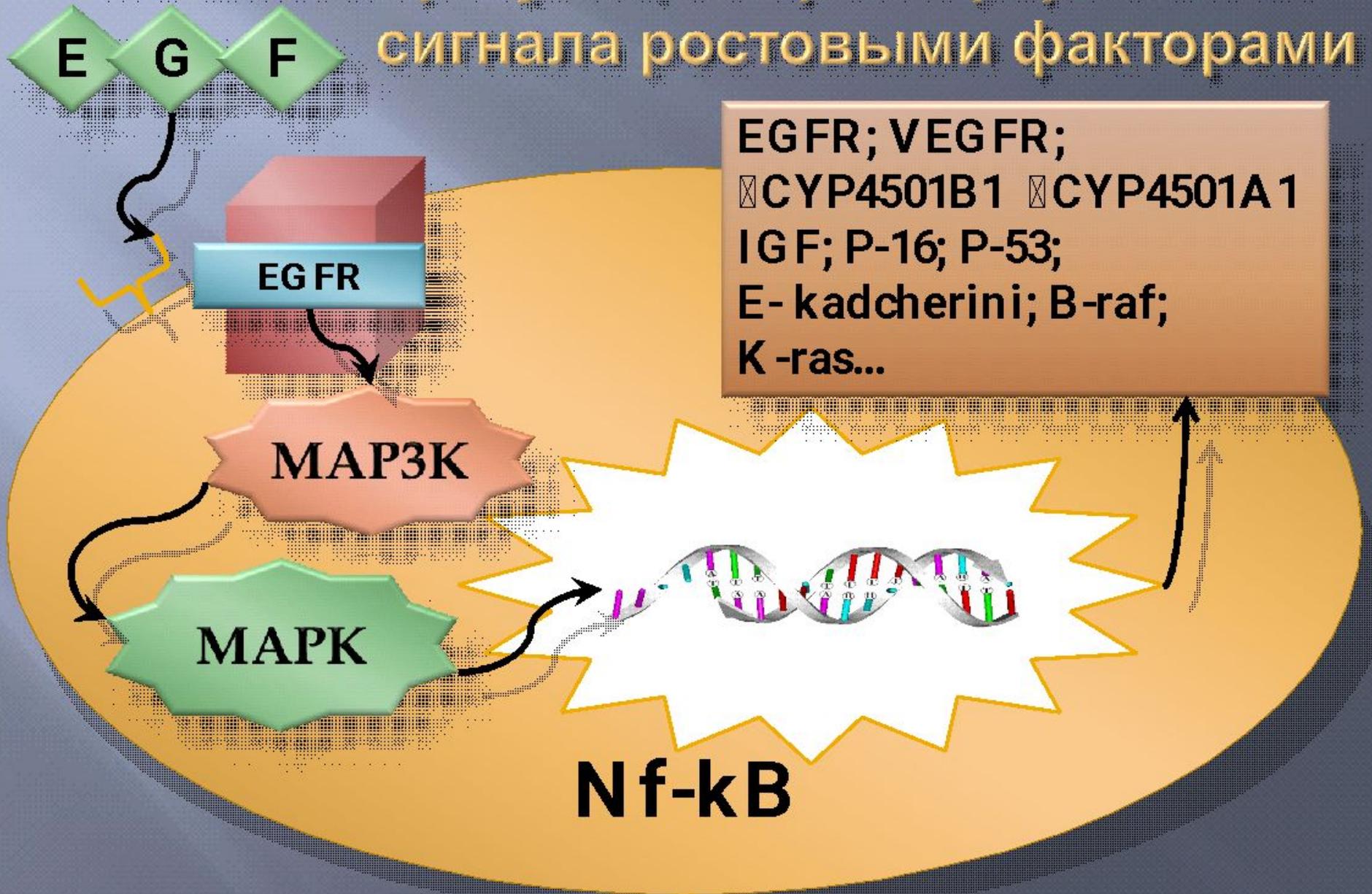
COX-2

PGE2

Nf-kB



# Механизм регуляции пролиферативного сигнала ростовыми факторами



# Иммуноферментный анализ (определение опухолевых маркеров):

- РЭА – раково-эмбриональный антиген - маркер всех злокачественных новообразований.  
(N муж. курящие = 0,5-6,3 нг/мл;  
некурящие = 0,37-3,3 нг/мл;  
N жен. курящие = 0,42-4,8 нг/мл;  
некурящие = 0,21-2,5 нг/мл.)
- АФП – альфа-фетопротейн – маркер первичного рака печени.  
(N = 0-6 МЕ/мл.).

# Иммуноферментный анализ (определение опухолевых маркеров):

- ХГЧ – хорионгонадотропический гормон человека.  
(N небеременные жен.=0,4-5,3 МЕ/мл.  
N здоровые муж.=0,4-2,5 МЕ/мл.),  
маркер хорионэпителиомы, опухолей яичка и яичников.
- СА – 15.3 – маркер рака молочной железы. (N=9,2-38 ед./мл.)
- СА 19.9 – маркер рака толстого кишечника и поджелудочной железы (N=2-33 ед./мл.)
- СА 125.5 – маркер рака яичника (N=1,9-16,3 ед./мл.)
- ПСА – простат специфический антиген – маркер рака предстательной железы (N=0-4 нг/мл.)

- CA-72.4 – маркер рака желудка (N=2,0-4,0 ед./мл.)
- NSE (нейрон-специфическая енолаза) – маркер мелкоклеточного рака легкого (N=0-12,5 нг/мл.)
- HE-4 – маркер гранулезоклеточного рака яичников, маркер дифференциальной диагностики между доброкачественными и злокачественными новообразованиями яичников.
- TRAP – 5b – маркер костных метастазов, резорбции костной ткани, эффективности терапии бисфосфонатами. (верхний предел N = женщины: 4.15 ед./л., мужчины: 4.82 ед./л)

# Иммуногистохимия.

- Иммуногистохимия – метод выявления экспрессии тех или иных белков, связанных с определенными органами, тканями, типами клеток, специфической функцией и пролиферативной активностью при помощи моно- и поликлональных антител.
- При помощи иммуногистохимического метода стало возможным классифицировать антигены, экспрессируемые клетками на несколько категорий:
  - а) антигены, которые выявляются только в определенных клетках (цитоспецифические антигены)

# Иммуногистохимия.

- б) антигены, которые экспрессируются широким рядом клеток определенного типа (например, эпителиального происхождения), но не выявляются в клетках другого типа т.е. тканеспецифические антигены.
- в) антигены, связанные с биологическими потенциями клеток внутри определенной ткани. Они характеризуют темп роста и прогноз течения опухоли.

# Иммуногистохимия.

Наиболее часто в онкологической практике используют такие маркеры как:

- Ki-67 – индекс пролиферации.
- Рецепторы эстрогенов РЭ и прогестеронов РП.
- Her-2-neu – патологический онкобелок на поверхности опухолевых клеток РМЖ.
- p-53, BCL-2 – маркеры апоптоза.
- EGFR, VEGFR – рецепторы ростовых факторов.

# Радиоизотопная сцинтиграфия.

- Дефект накопления радиоизотопа позволяет обнаружить метастазы в костный скелет и выявить патологию щитовидной железы. Для выявления костных метастазов используют радиоактивный технеций ( $^{99}\text{Tc}$ ), а сканирование щитовидной железы осуществляют с помощью радиоактивного йода ( $^{131}\text{I}$ ).

# Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ).

- ПЭТ – основан на создании позитронной метки молекул некоторых веществ, активно участвующих в клеточном метаболизме, чаще всего глюкозы.
- Метку создают с помощью радионуклида фтора ( $^{18}\text{F}$ ). В результате получают соединение 18-флюородеоксиглюкозу ( $^{18}\text{FDG}$ ). Препарат вводится парентерально, в клетках-мишенях он распределяется пропорционально активности метаболических процессов. Позитроны  $\text{FDG}$  соединяются с электронами, испуская кванты энергии, которые улавливаются детекторами ПЭТ-томографов. Чем выше активность метаболических процессов, тем интенсивней сигнал.

# Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ).

- Злокачественные опухоли характеризуются повышенной активностью метаболических процессов, поэтому они и их метастазы излучают сигналы повышенной интенсивности.
- Это дает возможность увидеть структуру органа, судить об активности метаболических процессов в клетках и сделать заключение о злокачественной опухоли и ее метастазах.

# Достоинства ПЭТ:

- **исключительное качество изображения**
- **возможность получать срезы в разных плоскостях и производить многократно реконструкцию органа в трехмерном изображении**
- **возможность с помощью специальных радиофармпрепаратов оценивать процессы, протекающие у живого человека на клеточном и молекулярном уровнях**
- **возможность без гистологического или цитологического исследования судить о природе заболевания, поражении отдаленных органов и лимфатических узлов, дифференцировать злокачественное новообразование от доброкачественной опухоли и неопухолевых поражений.**

# **Молекулярно-генетические методы диагностики.**

- **ДНК-диагностика по плазме и клеткам крови позволяют обнаружить злокачественную трансформацию клетки, генетическую нестабильность представленными мутациями или другими изменениями в генах, выявить злокачественное новообразование задолго до их клинического проявления.**

# **Молекулярно-генетические методы диагностики.**

- **ДНК-диагностика по парафинированным образцам опухолевой ткани позволяет выявить мутации или другие изменения в генах, которые привели к развитию злокачественного новообразования. Позволяет выявить характерные для данного новообразования клеточные и внутриклеточные изменения.**

# Молекулярно-генетические методы диагностики.

- ДНК-диагностика по парафинированным образцам опухоли позволяет диагностировать гены рецепторов эстрогенов и прогестеронов, гены ростовых факторов на поверхности опухолевой клетки, оценить формирование сосудистого микроокружения опухоли. Чаще всего исследуются рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR).

# Молекулярно-генетические методы диагностики.

- ДНК-диагностика по парафинированным образцам опухоли позволяет выявить мишени для проведения таргетной терапии (таргет – от англ. мишень, цель).
- При выявлении мутации гена C-кит при GIST опухолях ЖКТ таргетным является препарат «Гливек».

# Молекулярно-генетические методы диагностики.

- При выявлении гиперэкспрессии или амплификации гена Her-2 neu таргетным является препарат «Герцептин».
- При выявлении гиперэкспрессии или мутации гена EGFR при раке толстого кишечника таргетным является препарат «Эрбитукс».

# Молекулярно-генетические методы диагностики.

- При выявлении гиперэкспрессии или мутации гена EGFR при раке легкого таргетными являются препараты «Иресса» и «Тарцева».
- При выявлении гиперэкспрессии или мутации гена EGFR при метастатическом раке почки таргетным является препарат «Сутент».

# Молекулярно-генетические методы диагностики.

- При выявлении гиперэкспрессии или мутации гена VEGFR при всех формах злокачественных новообразований таргетным препаратом является «Авастин».



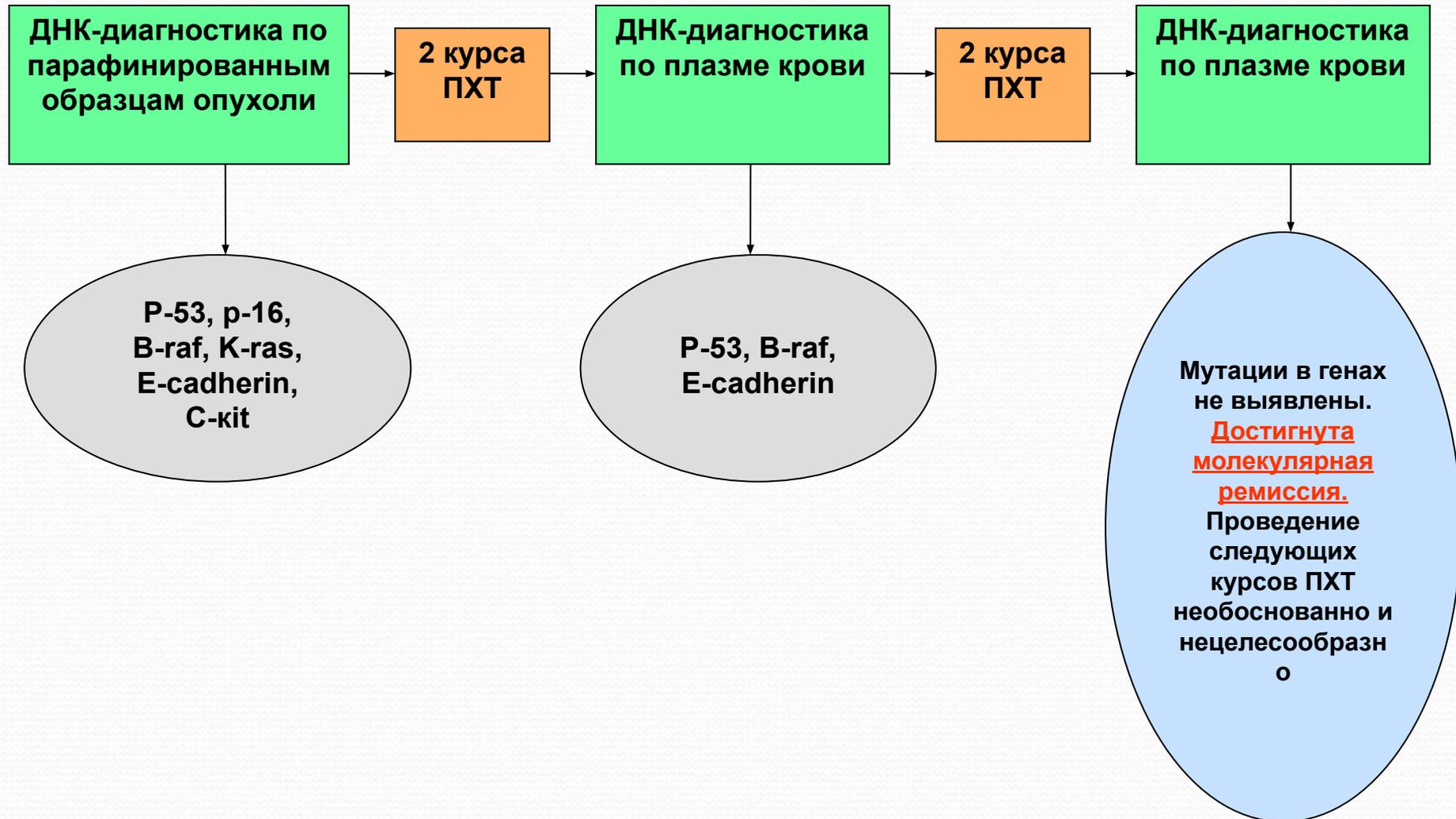
**Внимание! Назначение таргетных препаратов недопустимо без выявления молекулярно-генетических мишеней.**

- ДНК-диагностика позволяет определить фармакокинетику и метаболизм некоторых противоопухолевых препаратов (ДРУД, p-53, метаболизм 6-меркаптопуринов, иринотекана, герцептина).

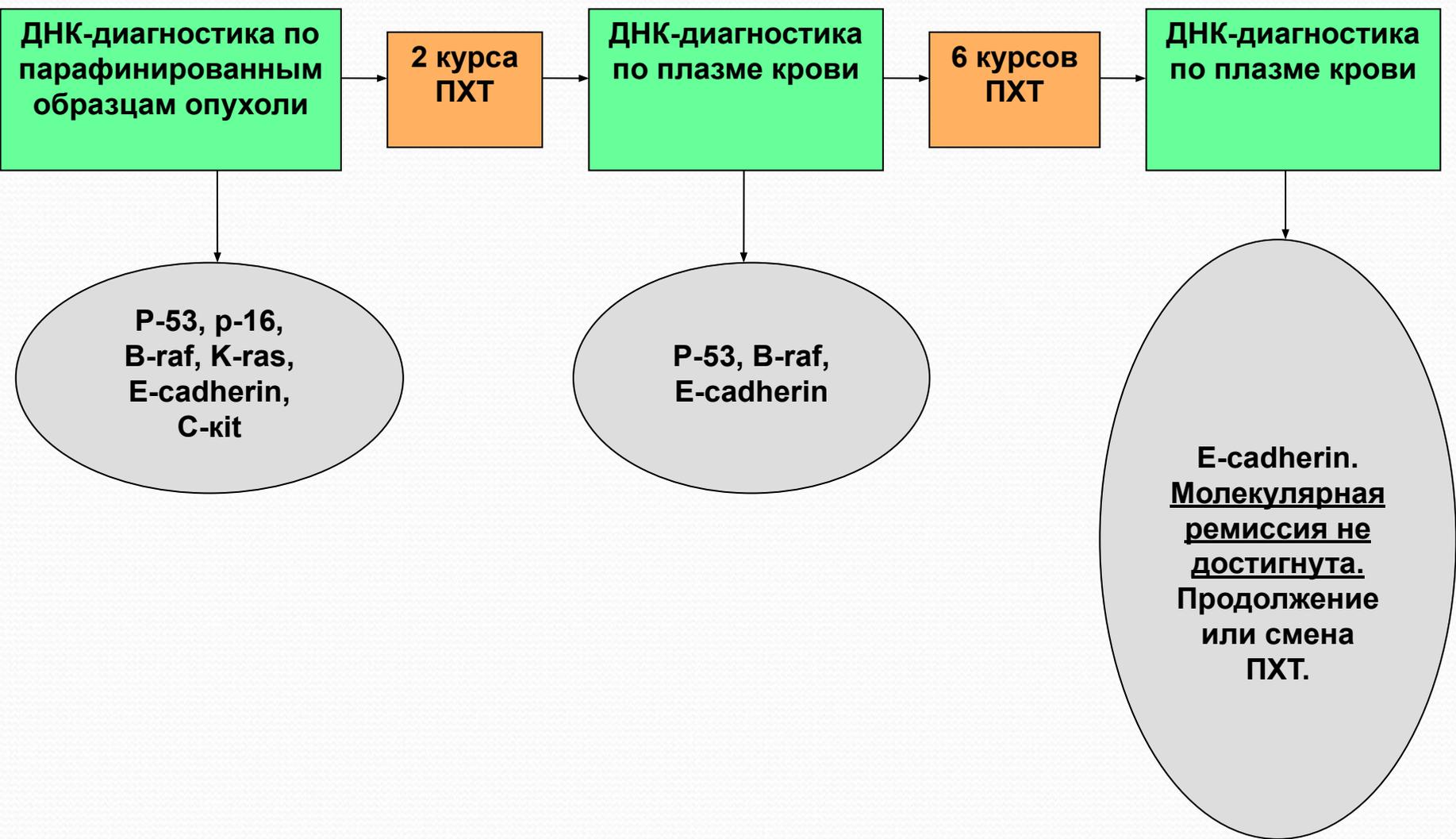
# Молекулярно-генетические методы диагностики.

- ДНК-диагностика позволяет определить эффективность проводимой терапии и полноту излеченности больных после специальных методов противоопухолевой терапии. Для этого исследуются ДНК выделенная из образцов опухоли и плазмы.

# Определение полноты излеченности после специальных методов противоопухолевого лечения.



# Определение полноты излеченности после специальных методов противоопухолевого лечения.



# Молекулярно-генетические методы диагностики.

- **Отсутствие в плазме крови больного после операции и адъювантной химиотерапии мутаций или других изменений в генах свидетельствует о молекулярной ремиссии, а выявление этих изменений говорит о недостаточной элиминации злокачественных клеток.**

# Молекулярно-генетические методы диагностики.

- ДНК-диагностика по плазме крови позволяет определить рецидивы заболевания и метастазы задолго до их клинических проявлений.
- ДНК-диагностика по плазме крови позволяет выявить мутации, характерные для наследственных новообразований. Мутации генов BRCA-1, BRCA-2 характерны для наследственных раков молочной железы и яичников, мутация гена RET характерна для наследственной множественной нейроэндокринной неоплазии, герминогенные мутации гена p-53 характерны для наследственного синдрома Ли-Фраумени и т.д.

# **Иммуноферментные методики в модификации ELISA.**

- **Позволяют выявить в сыворотке крови свободнорастворимые формы рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR) и сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGFR). Ценность методики заключается в неинвазивности и возможности определения в любые сроки лечебного процесса и может быть использовано как критерий оценки эффективности проводимой терапии.**

## **Иммуноферментные методики в модификации ELISA.(тест ESTRAMET-2)**

- **Позволяет определить уровень метаболитов эстрогенов в моче. 2-гидроксистерон (2-OHE-1) функциональный метаболит. 16<sup>α</sup>-гидроксистерон (16<sup>α</sup> OHE-1) агрессивный метаболит, обладающий высокой пролиферативной и канцерогенной активностью. Соотношение в норме между двумя метаболитами 2:1. Неоднократное повышение уровня агрессивного метаболита 16<sup>α</sup> OHE-1 является свидетельством гиперэстрогемического синдрома. В настоящее время данный маркер рассматривается как ранний маркер рака молочной железы.**

# Стратегические подходы превентивной онкологии.

- **Рак молочной железы (РМЖ) в России является наиболее частой злокачественной опухолью у женщин. На его долю приходится 20% от общего числа злокачественных новообразований [ 5 ].**
- **Эффективные пути первичной профилактики РМЖ отсутствуют и повышение уровня заболеваемости находится вне реального контроля. Единственным путем снижения смертности от злокачественных новообразований молочной железы является проведение мероприятий по ранней диагностике заболевания, выявление и лечение предопухолевых состояний.**

# Стратегические подходы превентивной онкологии.

- Из числа предраковых заболеваний молочной железы самой частой является мастопатия, встречающаяся у 20-40% женщин репродуктивного возраста.
- Мастопатия рассматривается как факультативное предраковое состояние.
- При пролиферативных ее формах частота возникновения рака молочной железы в 3-5 раз выше чем в популяции.

# Стратегические подходы превентивной онкологии.

- По мнению большинства авторов, пролиферация и атипия эпителия молочных желез чаще отмечаются при локальных патологических изменениях в органе, в связи с чем узловые формы мастопатии считаются более опасными в плане малигнизации, чем диффузные.

# Стратегические подходы превентивной онкологии.

- Рак молочной железы (РМЖ) у женщин является самой частой опухолью и главной причиной смерти в возрасте 45-55 лет. Российский показатель заболеваемости РМЖ на 2012 год составил 40 на 100000 населения (женского – 60).
- Раку молочной железы предшествуют предраковые заболевания: дисгормональные гиперплазии (мастопатии) и доброкачественные опухоли.

# **Стратегические подходы превентивной онкологии.**

- **Зная молекулярные механизмы возникновения злокачественных новообразований и методики их выявления, появилась реальная возможность лечения этих заболеваний на раннем этапе – на этапе предраковых заболеваний. С учетом конкретных мишеней приведших к развитию предракового заболевания обосновано назначение таргетных препаратов, направленных на ингибирование конкретных мишеней.**

# Стратегические подходы превентивной онкологии.

- При диффузных ФКМ мишенями являются гиперэкспрессия ростовых факторов и гиперэстрогеномический синдром по агрессивному метаболиту  $16^{\alpha}$  ОНЕ-1, ингибиторами которых являются индол-3-карбинолы, катехоламины зеленого чая, омега-3-жирные насыщенные кислоты.

# Стратегические подходы превентивной онкологии.

- Дисплазии, эрозии и полипы цервикального канала, эндометриозы часто возникают на фоне инфицированности ВПЧ 16, 18, которая приводит к гиперпластическим процессам в этих органах, ингибитором которых является препарат «Промисан».

# Стратегические подходы превентивной онкологии.

- Профилактические осмотры с целью раннего выявления предраковых и раковых заболеваний. Формирование групп риска.
- Своевременное лечение предраковых заболеваний, диспансерное наблюдение.
- Иммуномодулирующая терапия, направленная на ингибирование вирусов и повышение иммунокомпетентности организма.



***Спасибо за внимание!***