

**ГБОУ ВПО ТюмГМА Росздрава
кафедра онкологии
ООО «Центр молекулярно-генетической
диагностики».
д.м.н доцент Сабиров А.Х.**

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА. НОВАЯ ПАРАДИГМА ОНКОЛОГИИ

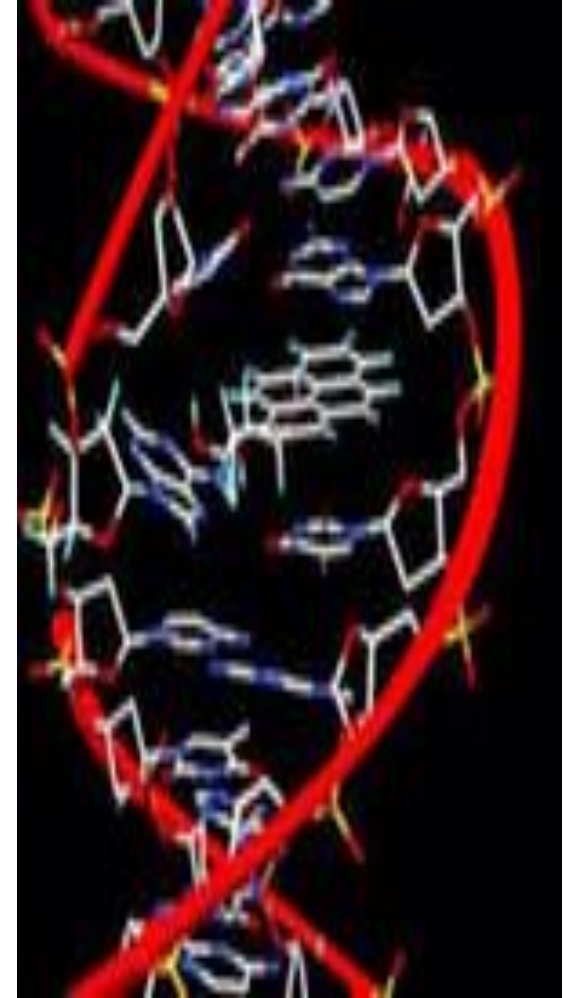
Тюмень, 2012 г.

Мутационная теория канцерогенеза

- Канцерогенез — сложный многоэтапный процесс, ведущий к глубокой опухолевой реорганизации нормальных клеток организма.
- Из всех предложенных до ныне теорий канцерогенеза, наибольшего внимания заслуживает **мутационная теория**.
- Согласно этой теории, опухоли - это генетические заболевания, патогенетическим субстратом которых является повреждение (**мутации**) в генетическом материале клетки.

Понятие о мутациях

- Мутации — качественные или количественные изменения ДНК клеток организма, приводящие к изменениям их генотипа.
- Это — внезапные скачкообразные изменения наследственных факторов, представляющие собой стойкие изменения наследственного материала.
- Возникающие мутации могут передаваться из поколения в поколение.
- Однако это касается только лишь изменений генетического материала в половых клетках и их предшественниках (**герминальные мутации**)
- Мутации, возникающие в соматических клетках (**соматические мутации**), остаются «достоянием» особи-носителя.



Классификация мутаций

По изменению генотипа:

- а) генные,
- б) хромосомные,
- в) геномные.

По изменению фенотипа:

- а) морфологические,
- б) биохимические,
- в) физиологические,
- г) летальные и т. д.

По отношению к генеративному пути:

- а) соматические,
- б) генеративные.

По поведению мутации в гетерозиготе:

Генные (точечные) мутации

Точечные мутации это изменения нуклеотидной последовательности ДНК в одном гене:

- **замена** одного нуклеотидного основания на другое
- изменение количества нуклеотидов - **выпадение или вставка** одного из них и, как следствие, изменение рамки считывания при транскрипции.

Генетические аспекты канцерогенеза

- Исходя из мутационной теории, рак возникает вследствие накопления мутаций в специфических участках клеточной ДНК, приводящих к образованию дефектных белков.
- В подавляющем большинстве случаев злокачественные новообразования развиваются из одной опухолевой клетки, то есть имеют **моноклональное** происхождение.
- Генетический аппарат клеток обладает сложной системой контроля деления, роста и дифференцировки клеток.
- Существуют две основные регулирующие генетические системы, оказывающие кардинальное влияние на процесс клеточной пролиферации: **протоонкогены и гены-супрессоры.**

Протоонкогены

Протоонкогены - это группа нормальных генов, оказывающих стимулирующее влияние на процессы клеточного деления посредством специфических белков - продуктов их экспрессии.

Одним из механизмов возникновения опухолевых клеток является превращение протоонкогена в **онкоген**.

Это может произойти в результате:

- мутации генетического кода протоонкогена с изменением структуры продукта его экспрессии, т.е. специфического белка
- повышения уровня экспрессии протоонкогена при мутации его регулирующей последовательности
- при переносе гена в активно транскрибируемую область хромосомы.

Антионкогены, или гены-супрессоры опухолей

Гены-супрессоры представлены группой нормальных генов, которые оказывают тормозящее влияние на процессы клеточного деления и выхода из процесса дифференцировки.

Утрата функции антионкогенов вызывает неконтролируемую клеточную пролиферацию.

Благодаря своему противоположному по отношению к онкогенам функциональному назначению они были названы **антионкогенами, или генами-супрессорами опухолевого роста.**

В отличие от онкогенов, мутантные аллели генов-супрессоров являются **рецессивными.**

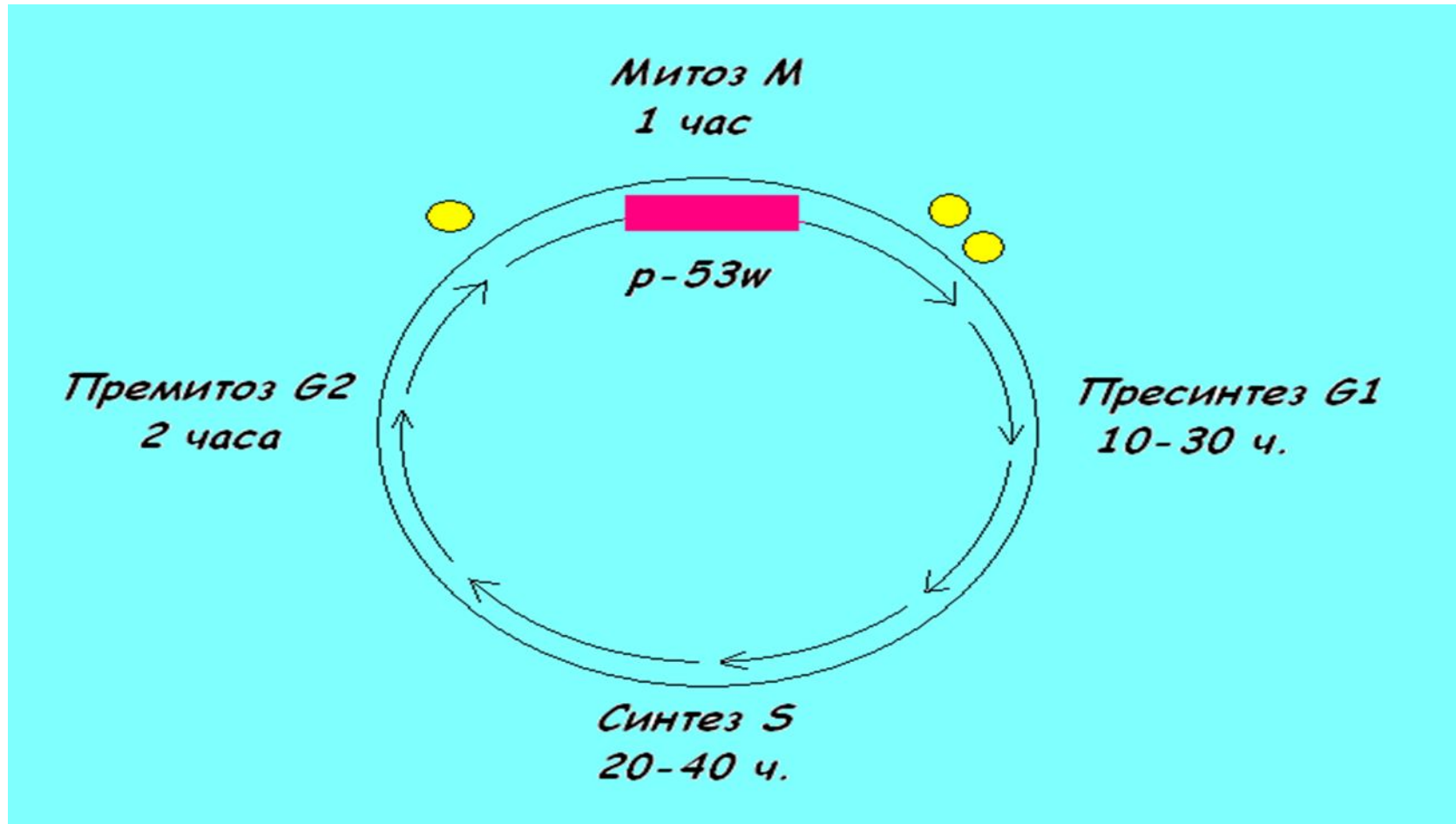
Отсутствие одного из них, при условии, что второй нормален, не приводит к снятию ингибирования образования опухоли.

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.

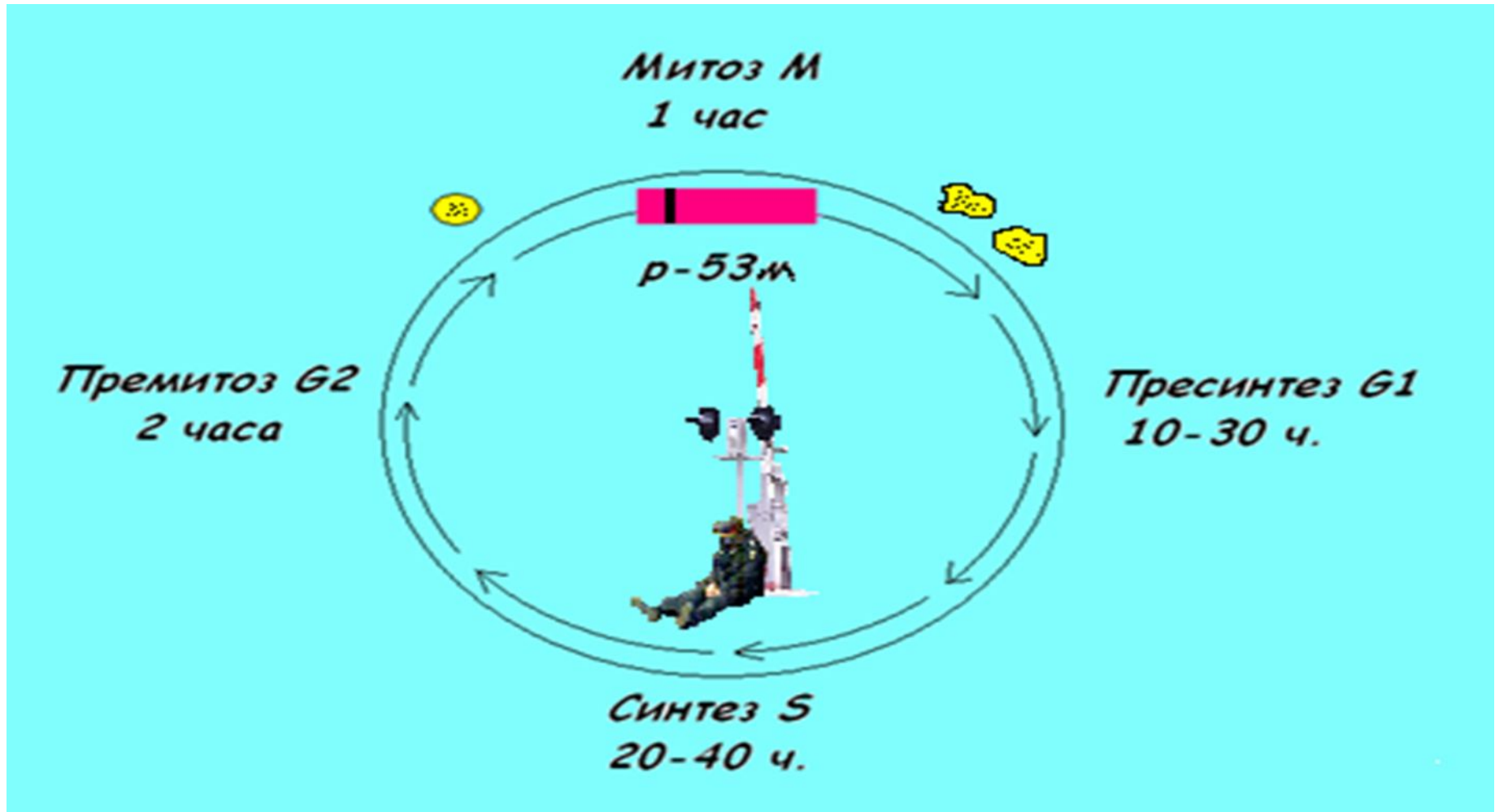
Ген p-53 регулирует процесс клеточного деления, останавливает клеточное деление с поврежденной ДНК и запускает сложный механизм репарации клетки и если это не возможно, то ликвидацию клетки. После ликвидации повреждений действие гена прекращается и клетка вновь начинает делиться. При не возможности ликвидировать 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.

Нарушение прохождения клеточного цикла



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

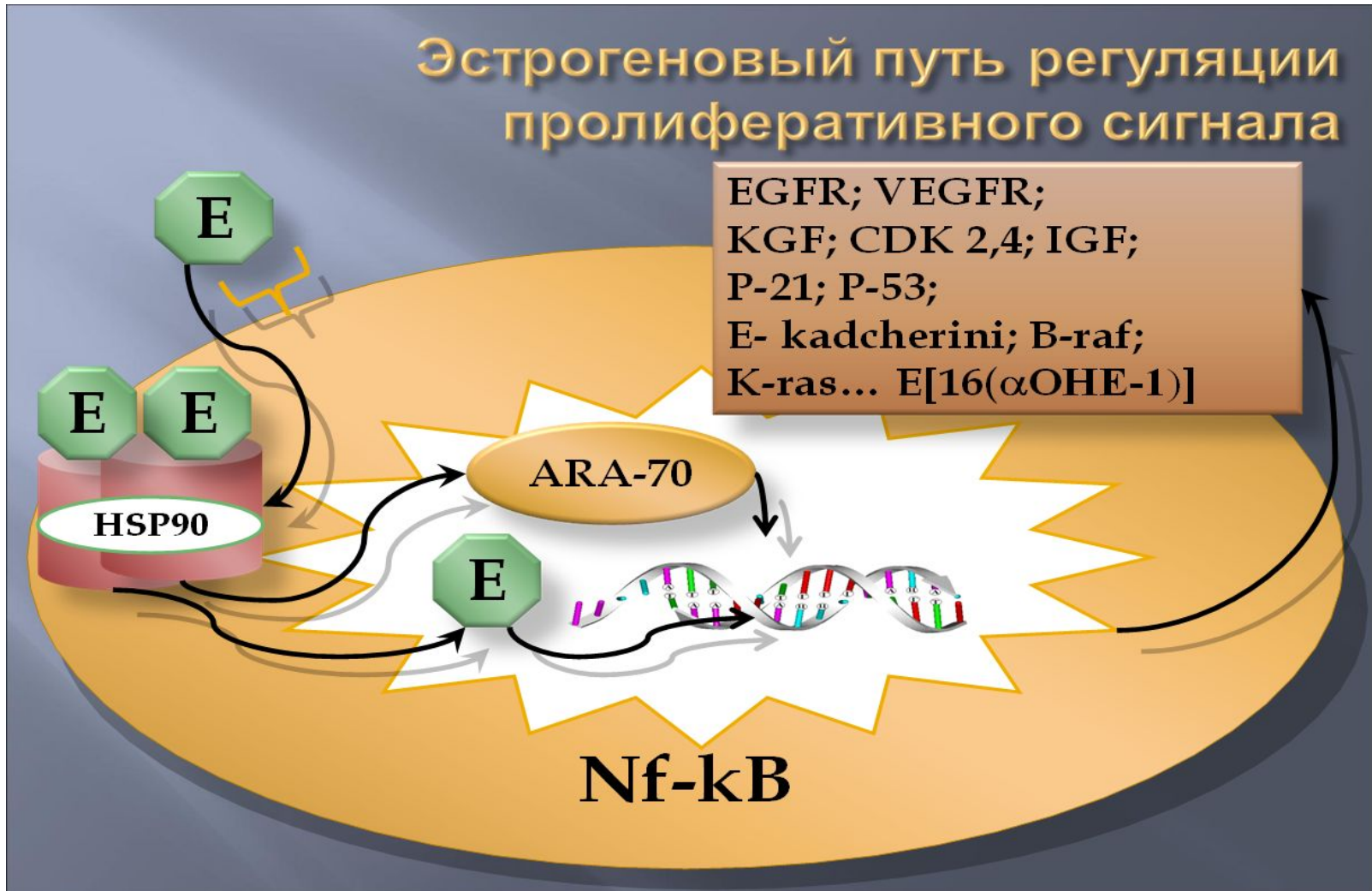
(Киселев В.И., Лященко А.А.)

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

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

На сегодняшний день установлены молекулярные механизмы возникновения злокачественных новообразований

Эстрогеновый путь регуляции пролиферативного сигнала



Цитокиновый путь регуляции пролиферативного сигнала

TNF- α

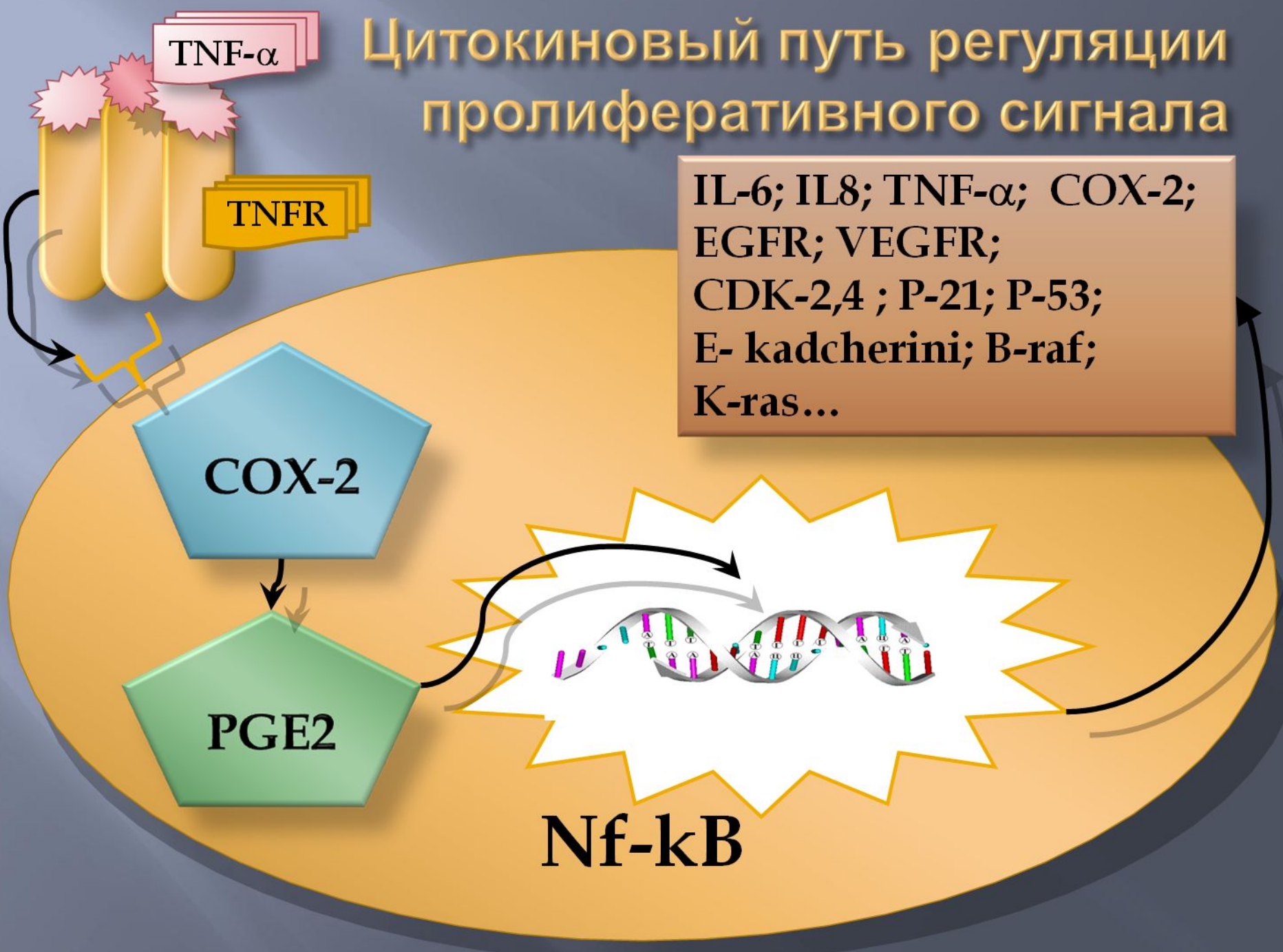
TNFR

IL-6; IL8; TNF- α ; COX-2;
EGFR; VEGFR;
CDK-2,4 ; P-21; P-53;
E- kadcherini; B-raf;
K-ras...

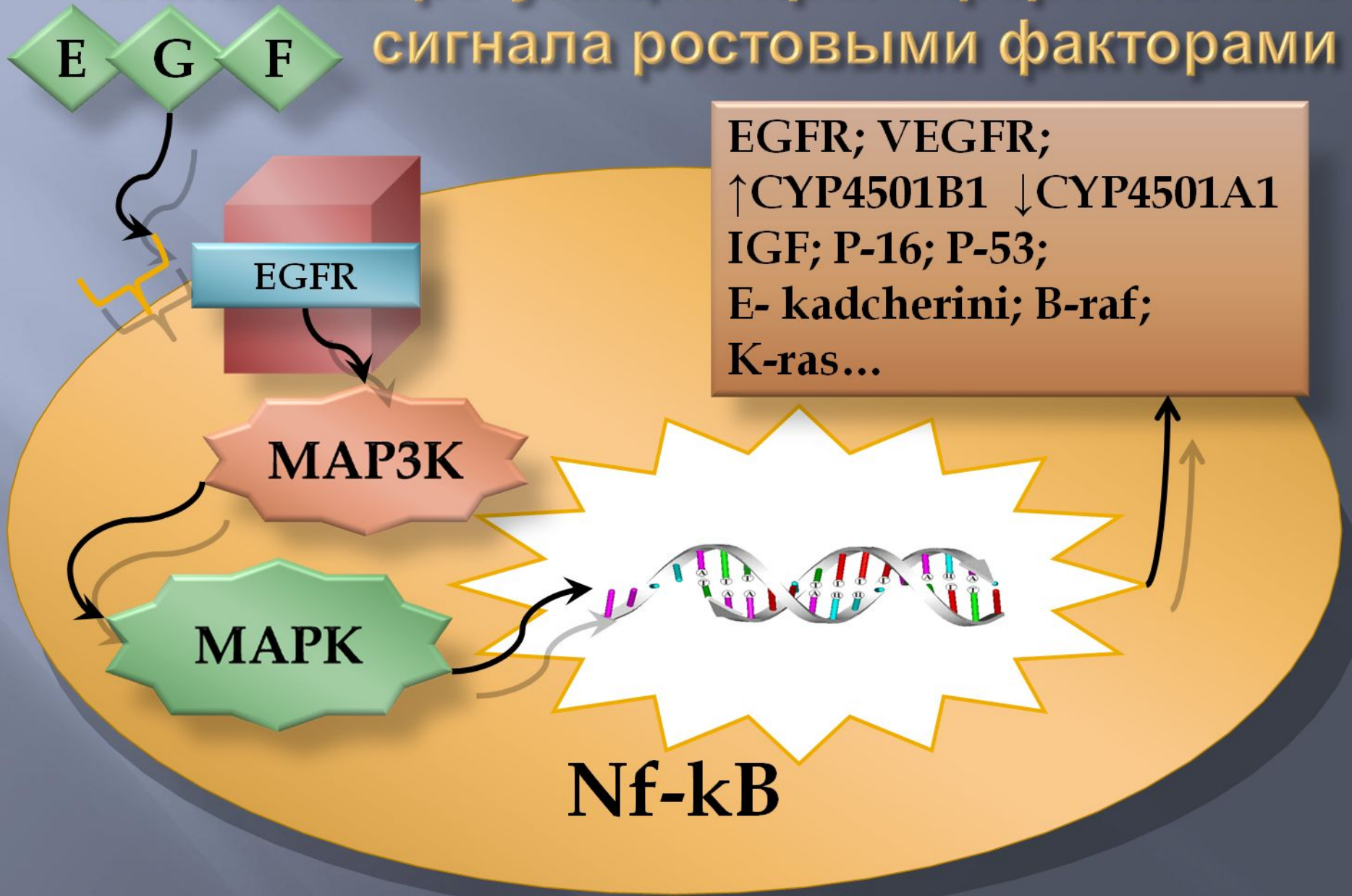
COX-2

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.)

Иммуноферментный анализ (определение опухолевых маркеров):

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 – метод выявления экспрессии тех или иных белков, связанных с определенными органами, тканями, типами клеток, специфической функцией, пролиферативной активностью, апоптозом 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)

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}Tc), а сканирование щитовидной железы осуществляют с помощью радиоактивного йода (^{131}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}F). В результате получают соединение 18-флюородеоксиглюкозу (^{18}FDG). Препарат вводится парентерально, в клетках-мишенях он распределяется пропорционально активности метаболических процессов. Позитроны 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.
- 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).

Таргетная терапия

- ДНК-диагностика по парафинированным образцам опухоли позволяет выявить мишени для проведения таргетной терапии (таргет – от англ. мишень, цель).

При выявлении мутации гена С-кит при GIST опухолях ЖКТ таргетным является препарат «Гливек».

Таргетная терапия

При выявлении гиперэкспрессии или амплификации гена Her-2 neu таргетным является препарат «Герцептин». При наступлении резистентности к данному препарату таргетным является препарат «Лапатиниб (Тайверб)»

При выявлении гиперэкспрессии или мутации гена EGFR при раке толстого кишечника таргетным является препарат «Эрбитукс».

Таргетная терапия

При выявлении гиперэкспрессии или мутации гена EGFR при первичном раке печени и гипернефроидном раке почки таргетным является препарат «Нексавар».

При выявлении гиперэкспрессии или мутации гена EGFR и VEGFR, гена эстрогена, генов провосполительных интерлейкинов IL-6, IL-8, TNF α многофункциональным ингибитором является препарат «Промисан».

Таргетная терапия

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».

Таргетная терапия

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



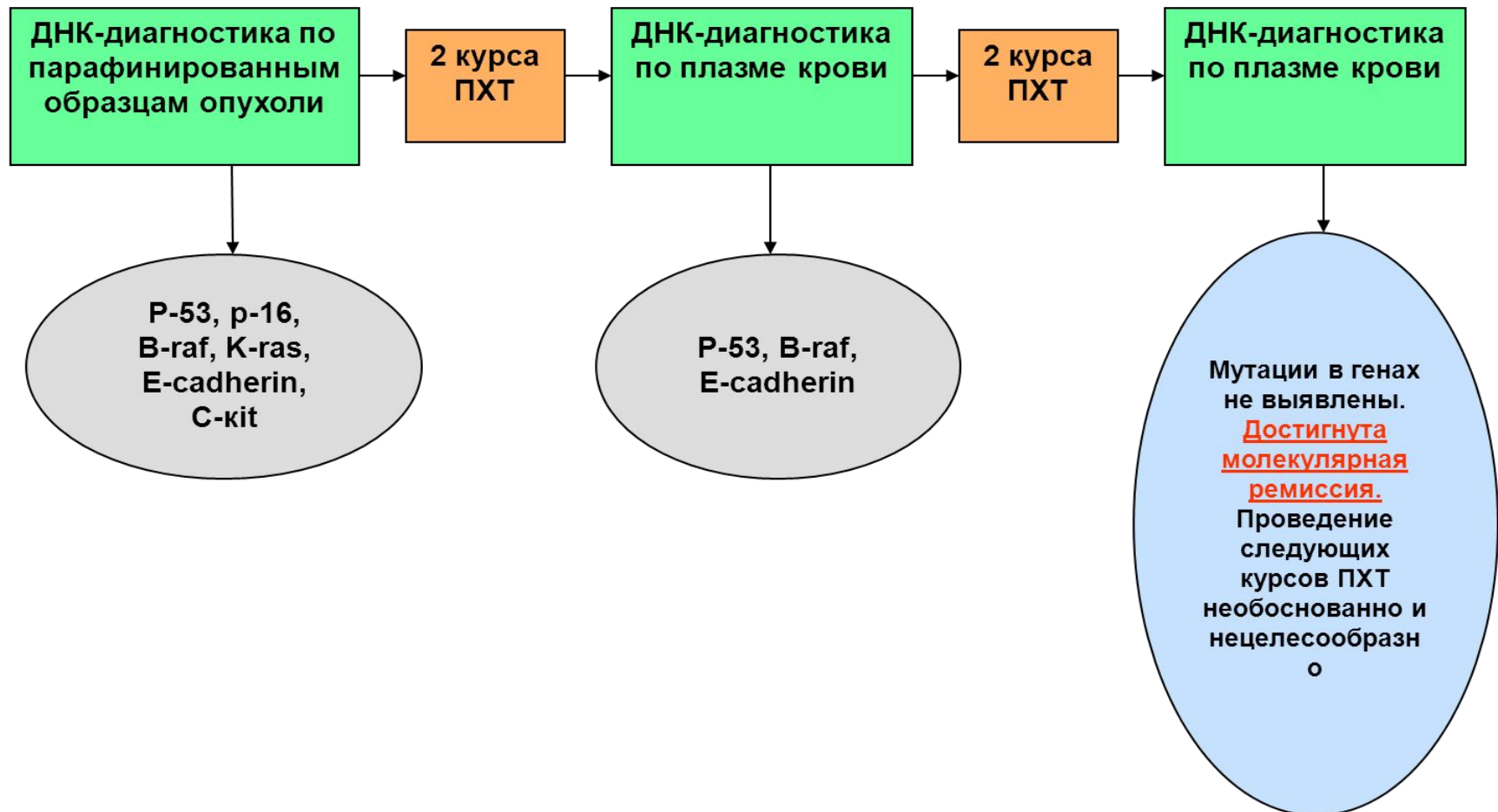
Внимание! Назначение таргетных препаратов недопустимо без выявления молекулярно-генетических мишеней!!!

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

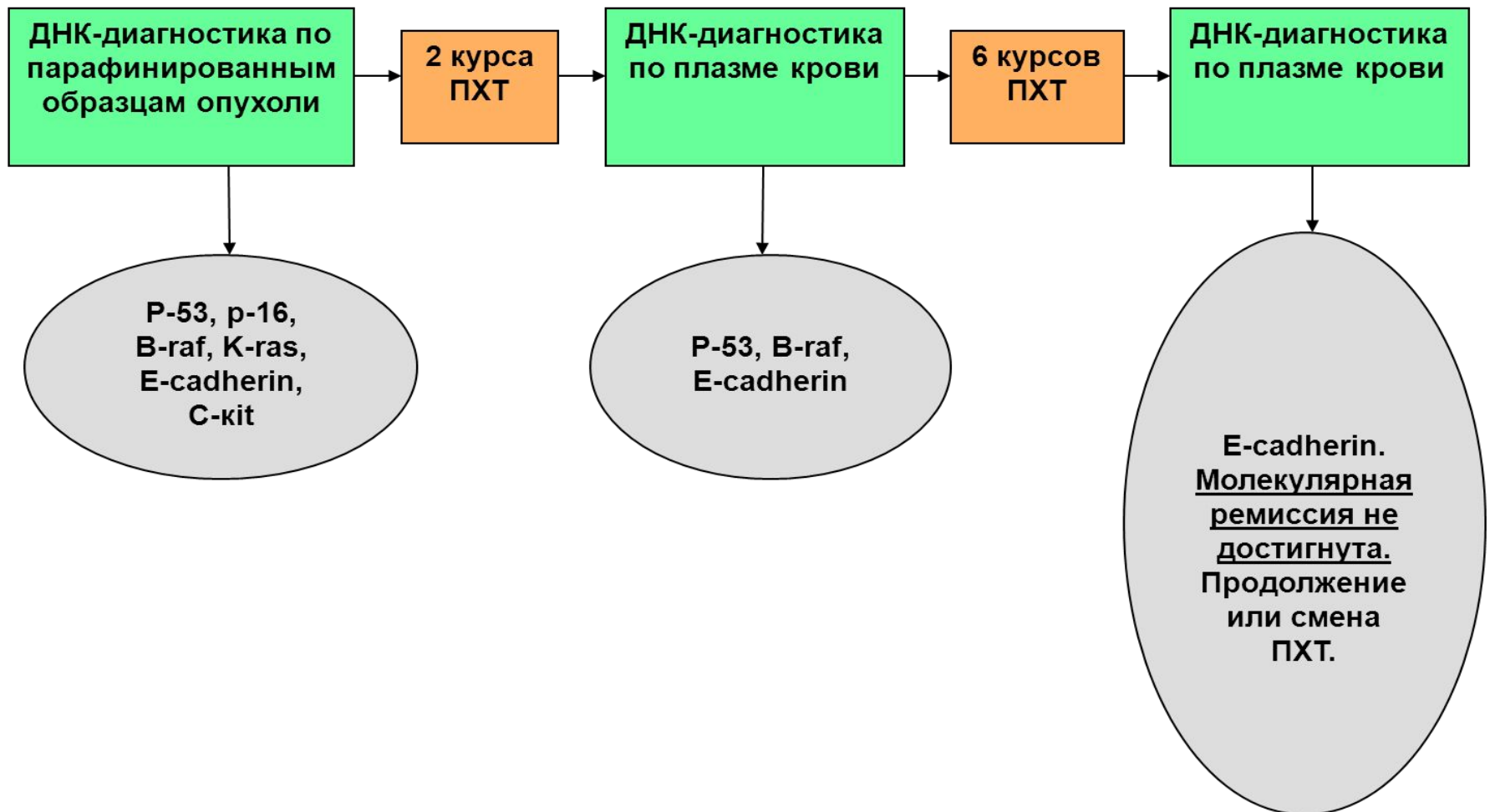
Молекулярно – генетические методы диагностики

- 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 α -гидроксистерон (16 α OHE-1) агрессивный метаболит, обладающий высокой пролиферативной и канцерогенной активностью. Соотношение в норме между двумя метаболитами 2:1. Неоднократное повышение уровня агрессивного метаболита 16 α OHE-1 является свидетельством гиперэстрогеномического 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 19,5% от общего числа злокачественных новообразований.

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 2004 год составил 36,6 на 100000 населения (женского – 59,9).

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 16α 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.

Новая парадигма онкологии

Рак – это не фатальное заболевание !!!

- К любому злокачественному заболеванию нужно относиться как хроническому заболеванию, с периодами обострения и ремиссий.

- И нужно эти заболевания лечить уже тогда, когда имеются клеточные и внутриклеточные нарушения, выявляемые современными методами диагностики, не дожидаясь появления клинических признаков рака.

Новая парадигма онкологии

- Это означает широкую профилактику и диспансеризацию (лечение хронических и предраковых заболеваний).

Тогда успех будет гарантирован.

Стратегические подходы профилактической онкологии

Химиопрофилактика предусматривает проведение широких оздоровительных мероприятий (вирус-ингибирующая терапия, иммунокорректирующая терапия, исключение вредных привычек и специфическое воздействие на конкретные мишени канцерогенеза).

**Спасибо за
внимание!**