

Механизмы гормонального канцерогенеза

**Частота гормонозависимых форм рака у женщин в г.
Новосибирске (на 100 000)**

Рак молочной железы	80
Рак эндометрия	25
Рак яичников	12
Миома	20-30%

Факторы риска

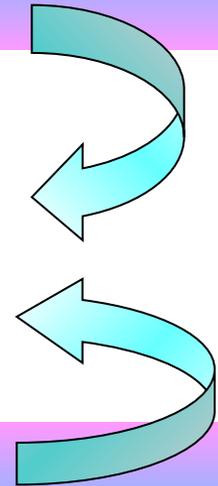
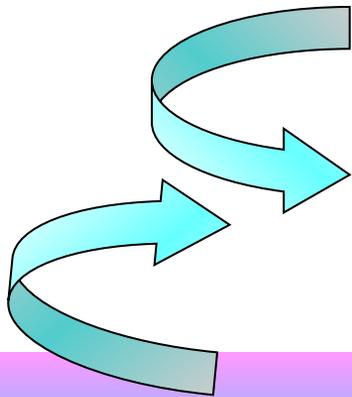
Репродуктивные
факторы

Ожирение

Увеличение уровня
эстрогенов

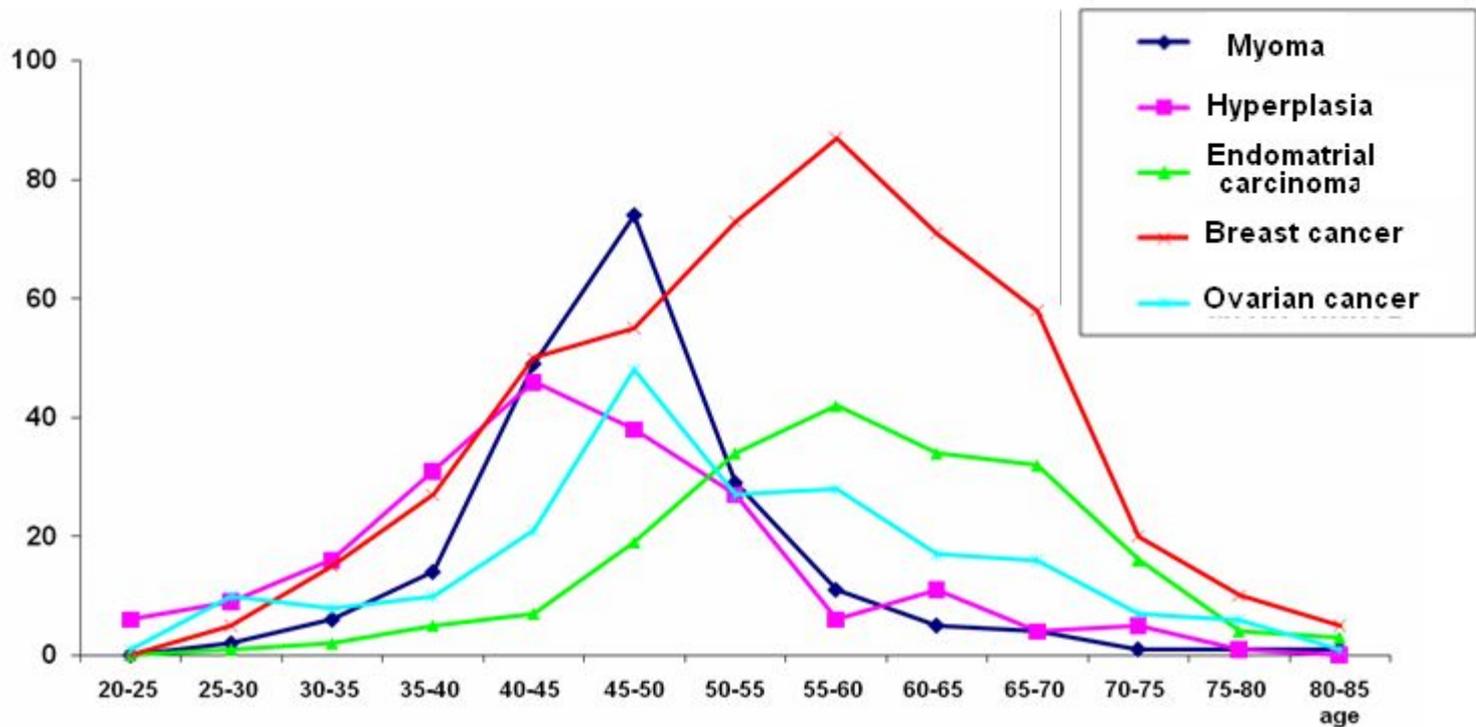
Поздняя менопауза

Бесплодие

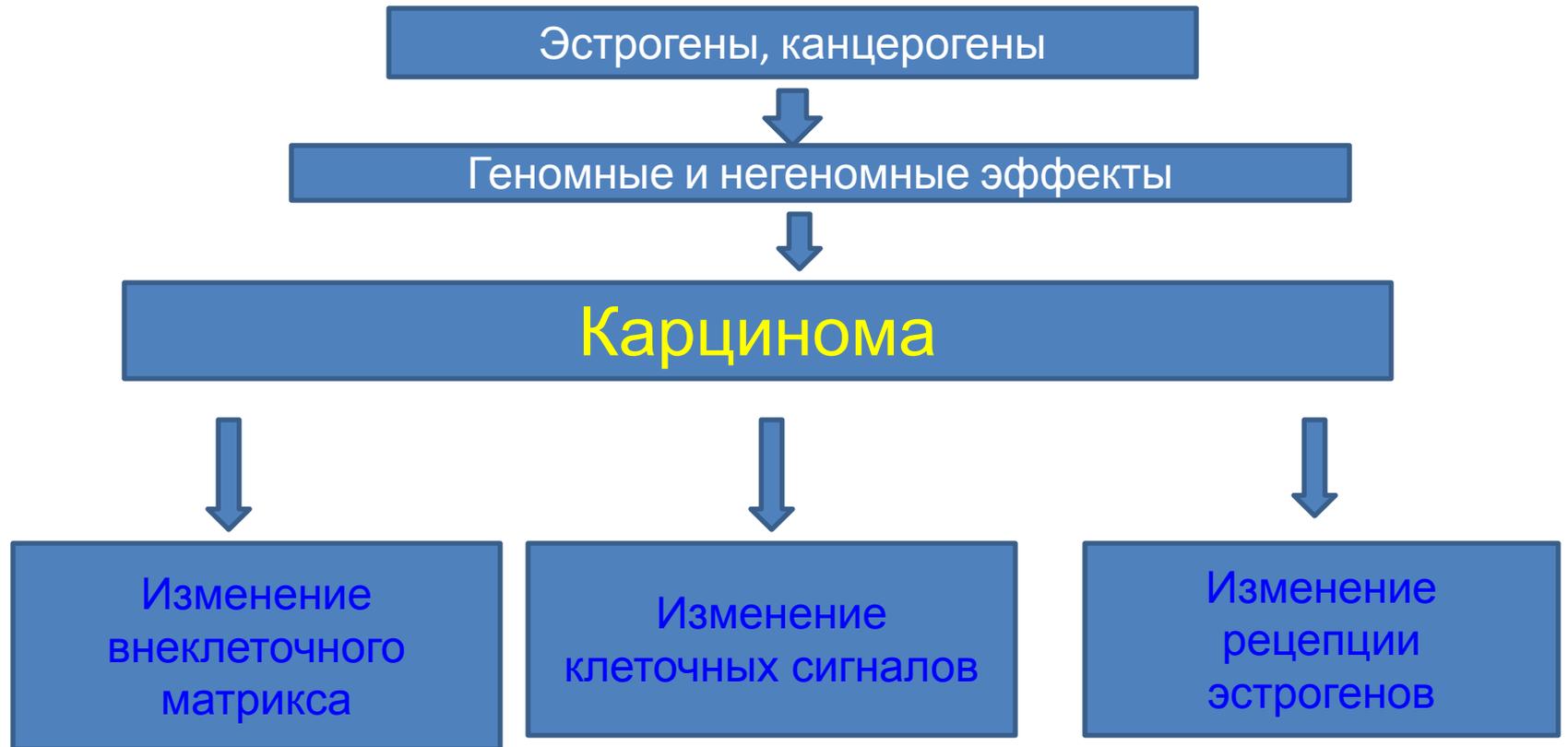


Зависимость случаев гормонозависимых видов рака от возраста

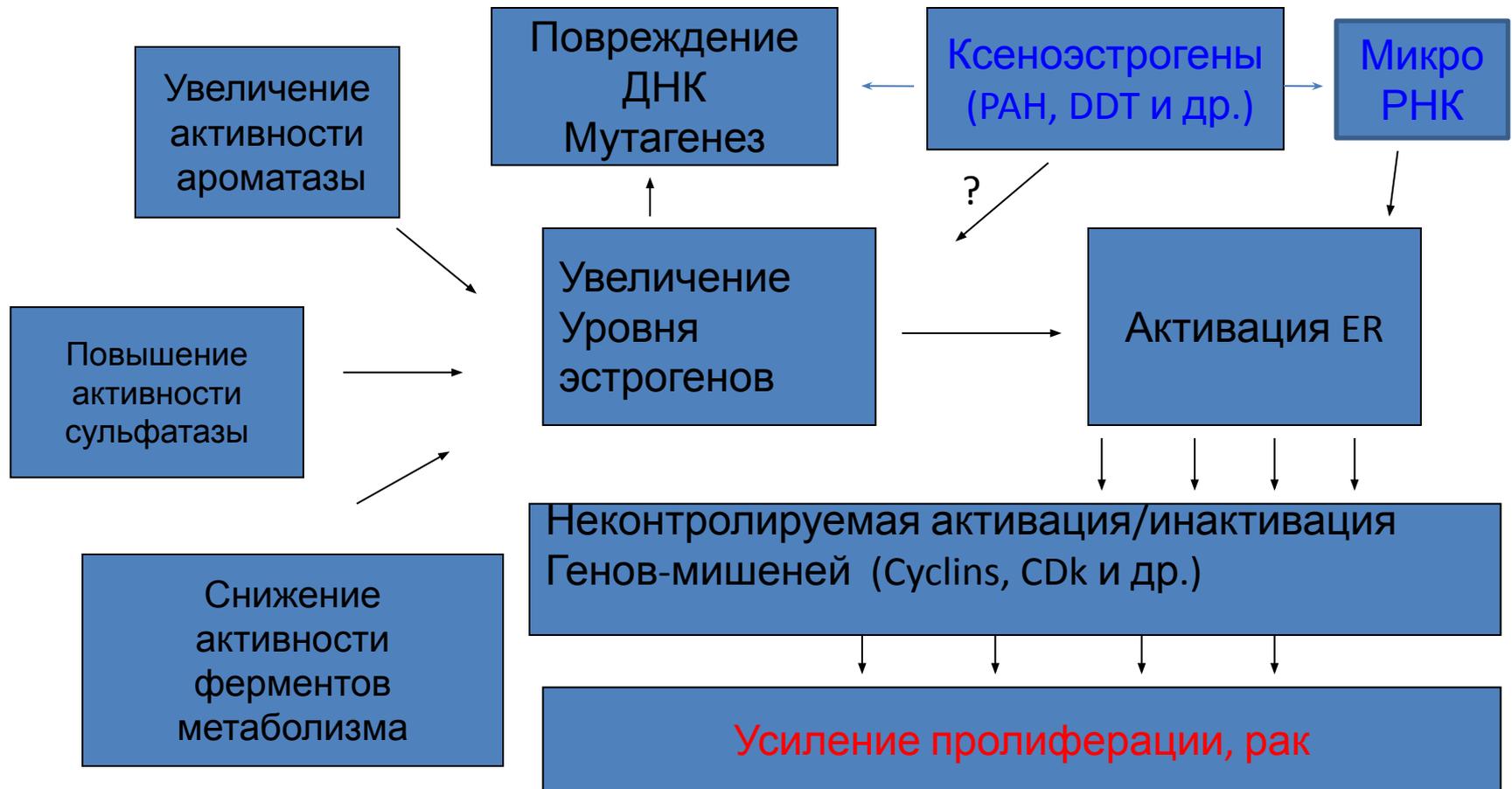
(n=3850)



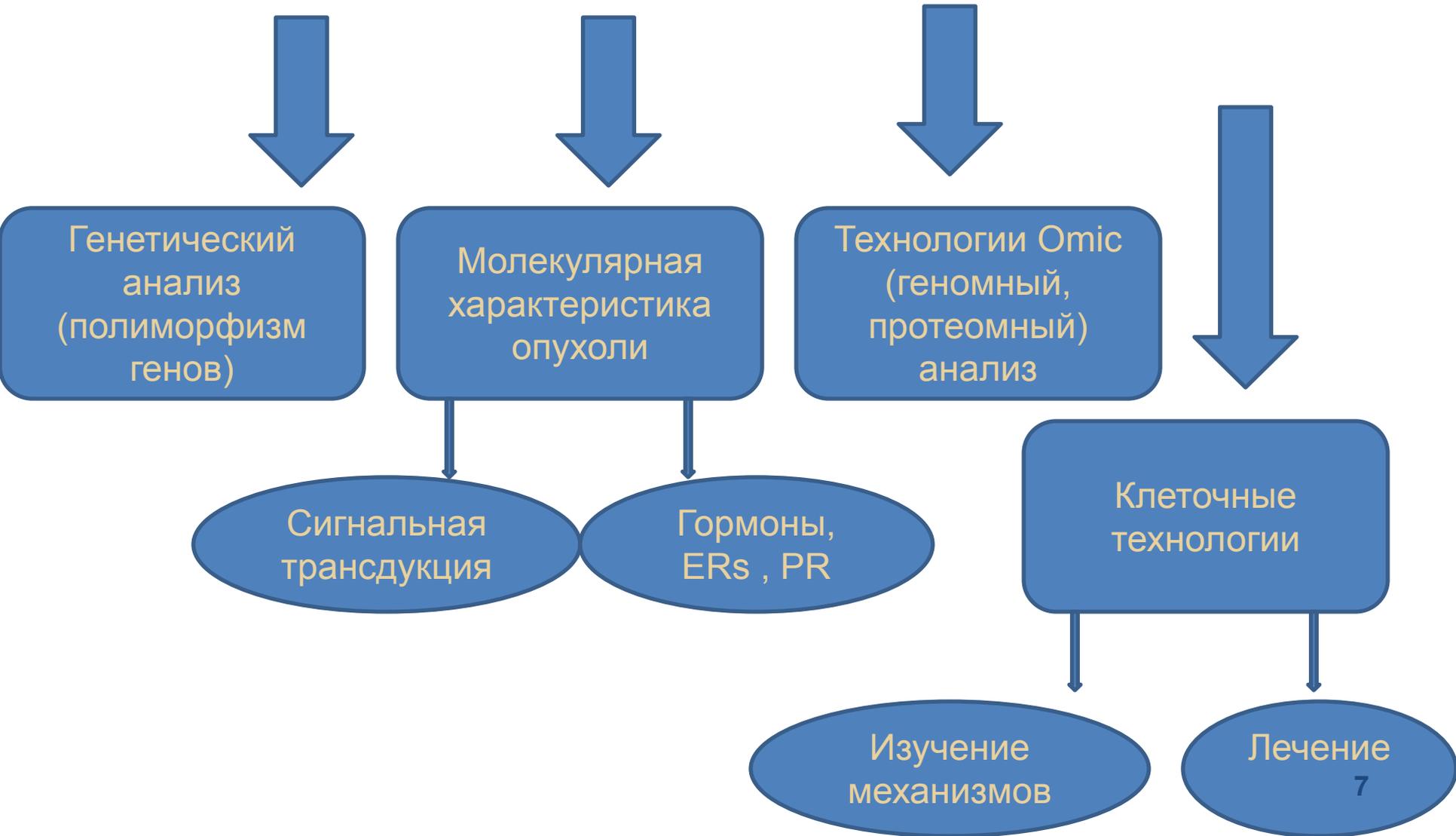
Патогенез гормонального рака



Концепция гормонального канцерогенеза



ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ГОРМОНОЗАВИСИМЫХ ФОРМ РАКА



Сигнальная трансдукция в гормональном канцерогенезе

Передача клеточного сигнала (Сигнальная трансдукция – СТ)

КОНТРОЛЬ

дифференцировка

пролиферация

апоптоз

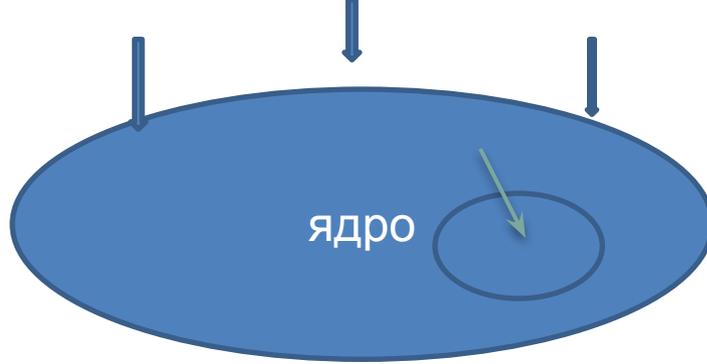
межклеточные
взаимодействия

цитоскелет

миграция

метаболизм
лекарств

энергетический
метаболизм



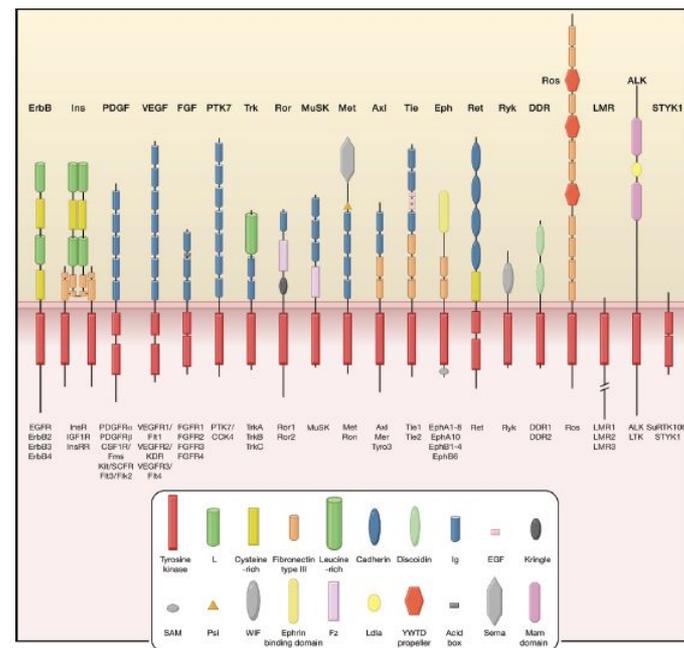
Клетка постоянно получает сигналы из внеклеточного пространства, передает их и формирует адекватный ответ. СТ-механизм основан на пост-трансляционных модификациях белков, где ключевую роль играет фосфорилирование:



Эукариотическая клетка содержит большой набор киназ (у человека около 518) .

Характеристика RTKs

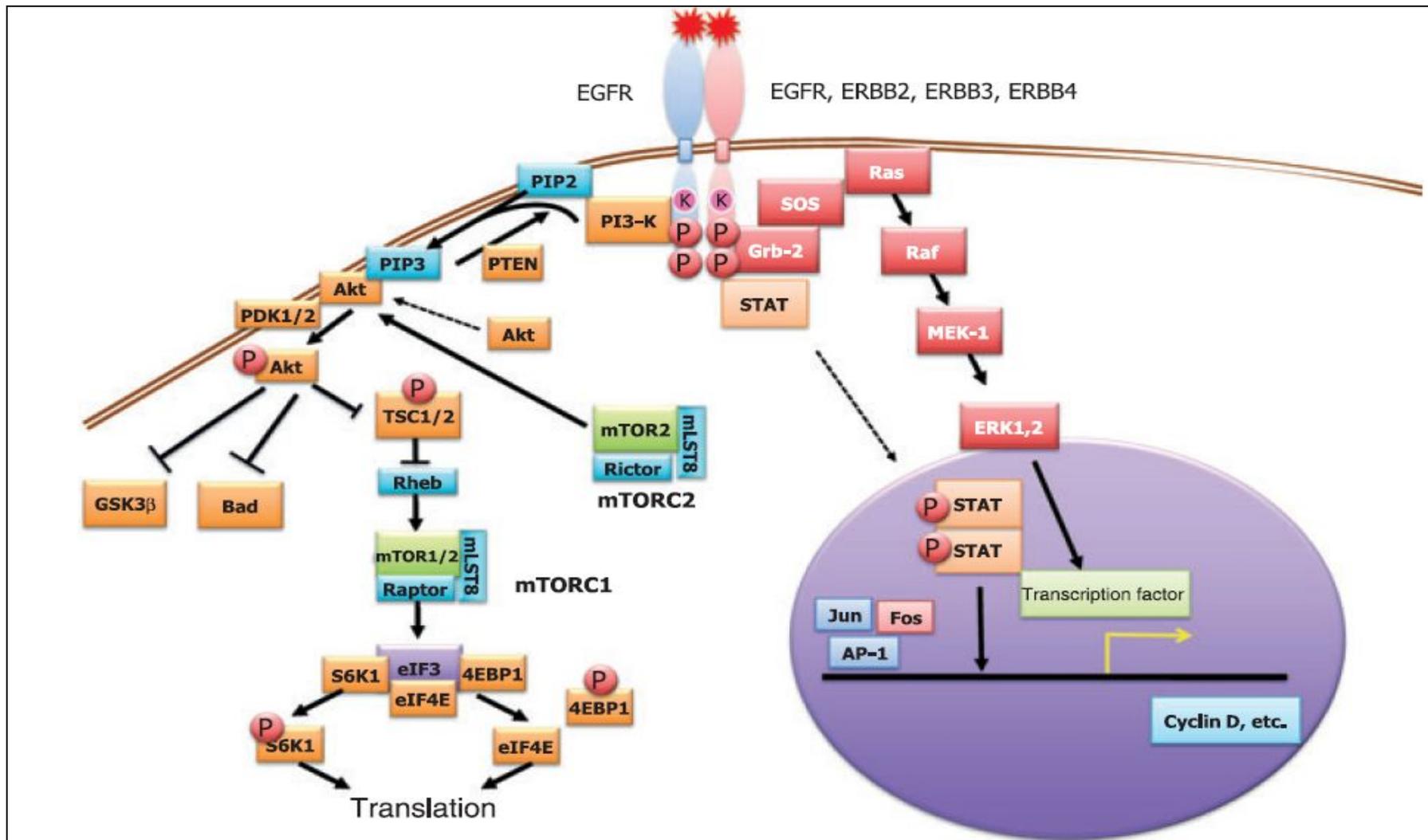
- У человека идентифицировано 58 RTKs, которые подразделяются на 20 подсемейств
- Все рецепторы имеют сходную молекулярную архитектуру: внеклеточный лиганд-связывающий домен, одиночную трансмембранную спираль, цитоплазматический участок, который содержит тирозин-киназный домен и дополнительный С-терминальный участок и околочембранный регуляторный участок



Семейство Epidermal growth factor receptor (EGFR)

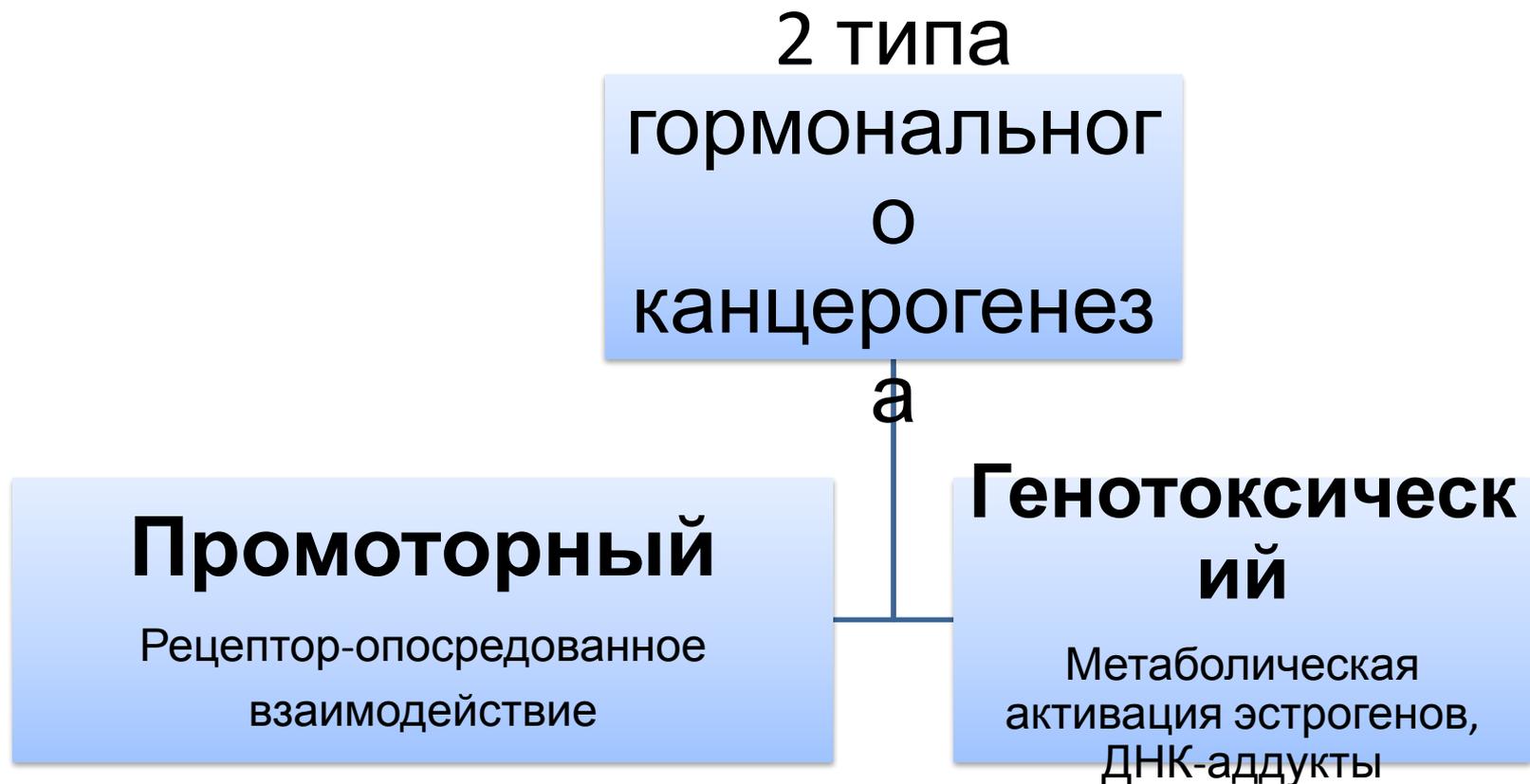
- EGF был изолирован в 1962 Stanley Cohen.
- Его взаимодействие с EGFR подтверждено в 1975.
- В 80-х установлено сходство EGFR с v-erbB (avian erythroblastosis virus)
- EGFR (также известен как ERBB1/HER1), ERBB2/HER2/NEU, ERBB3/HER3 и ERBB4/HER4.
- ERBB2, ERBB3 и ERBB4 показывают экстраклеточную гомологию
- относительно EGFR 44, 36 и 48%, соответственно, тогда как для тирозин-киназного домена - 82, 59 and 79%, соответственно.
- EGFR ген локализован на хромосоме 7p12-13 и кодирует
- 170kDa рецептор тирозин киназу.

Активируемые пути СТ

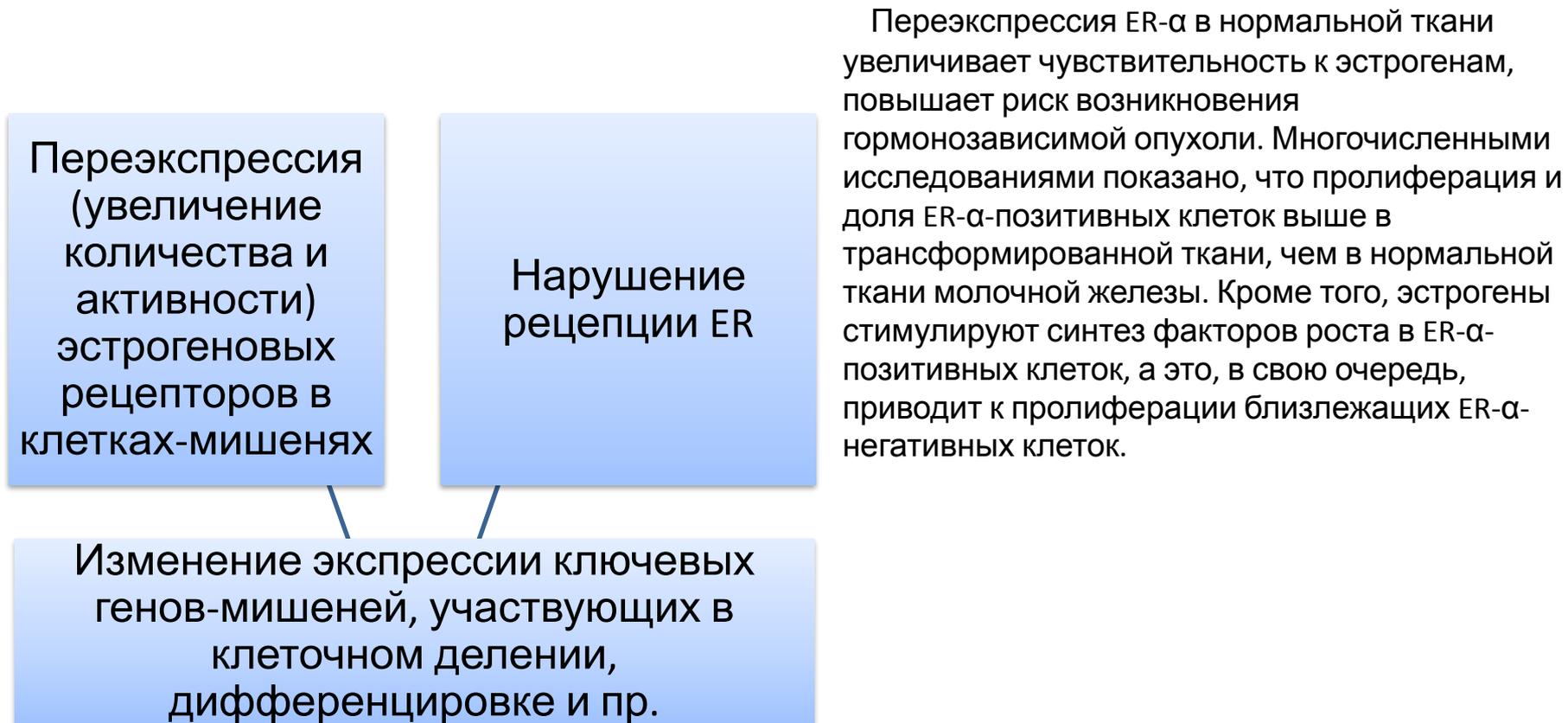


- Нарушение
метаболизма и
рецепции эстрогенов

Нарушение метаболизма эстрогенов запускает
гормональный канцерогенез, образование
злокачественной опухоли в гормонозависимой ткани

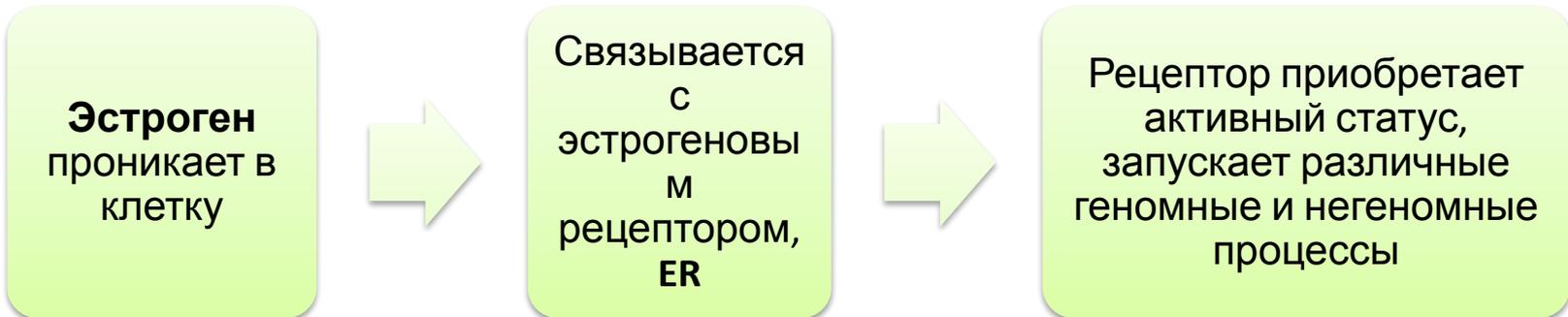


Промоторный тип канцерогенеза

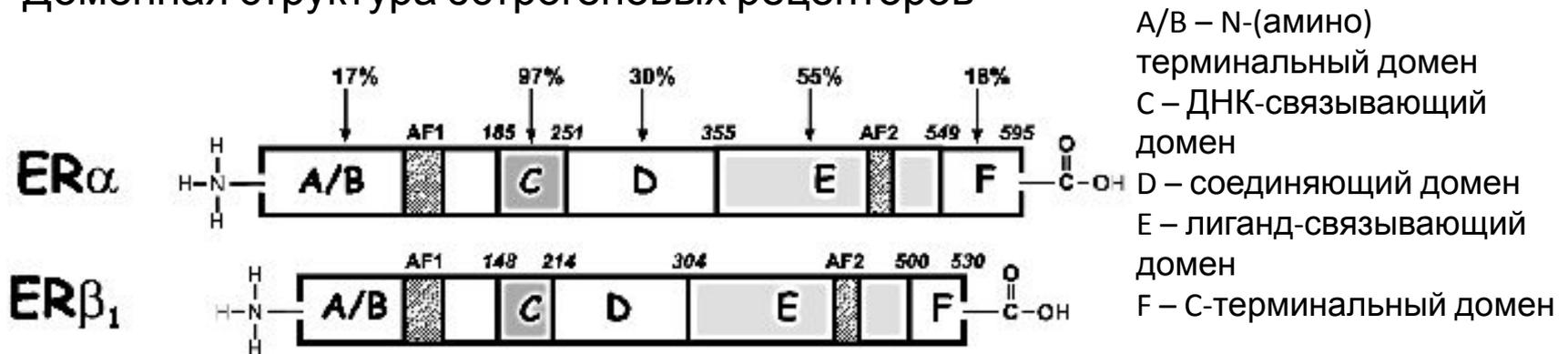


ER-опосредованные сигналы

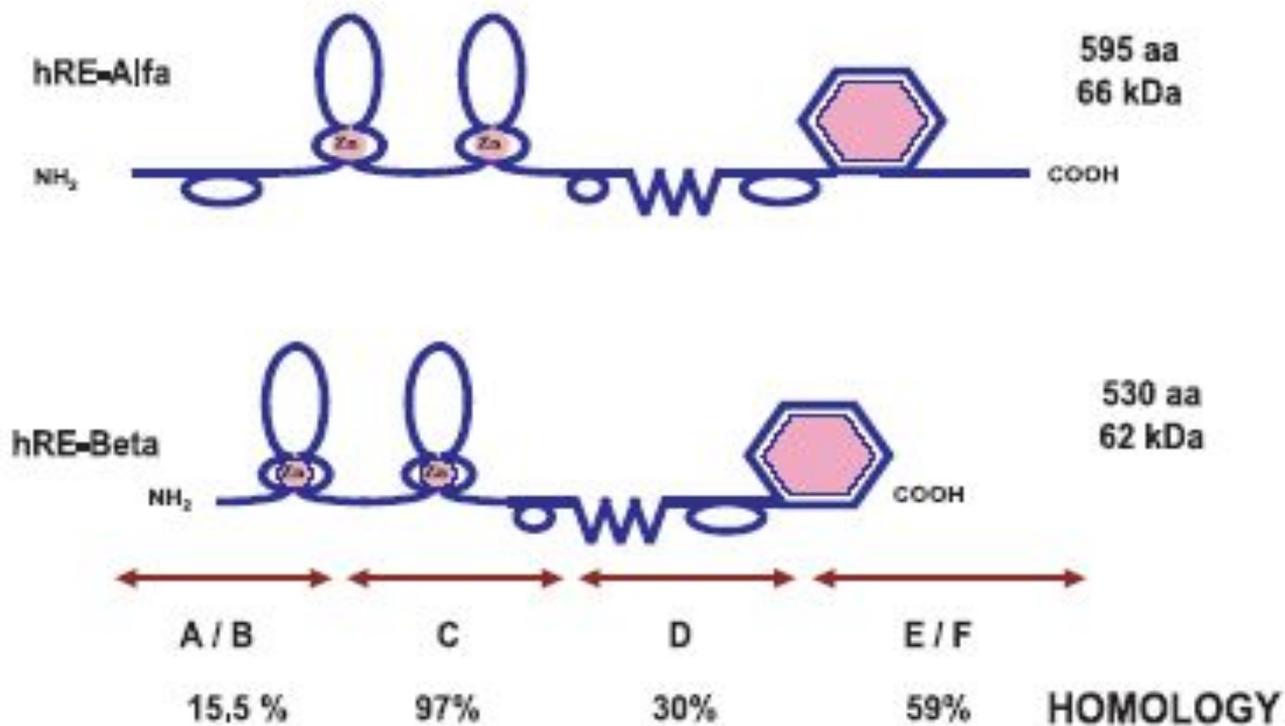
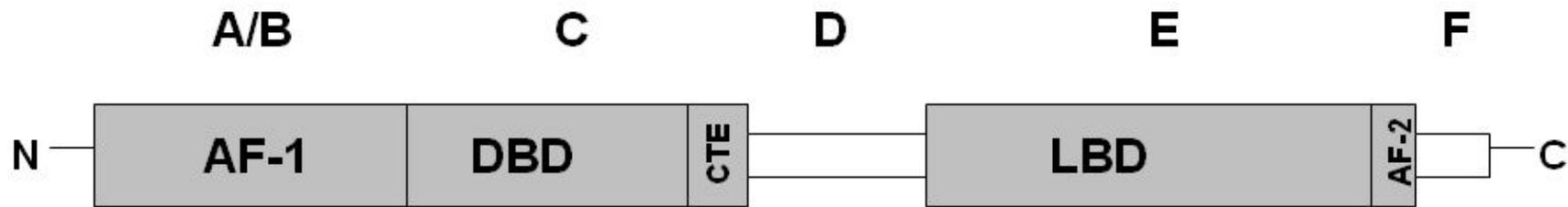
Эстрогены действуют через эстрогеновые рецепторы (ER, estrogen receptor). На настоящий момент известно два эстрогеновых рецептора, называемых ER α и ER β . Оба эти рецептора принадлежат суперсемейству ядерных рецепторов.



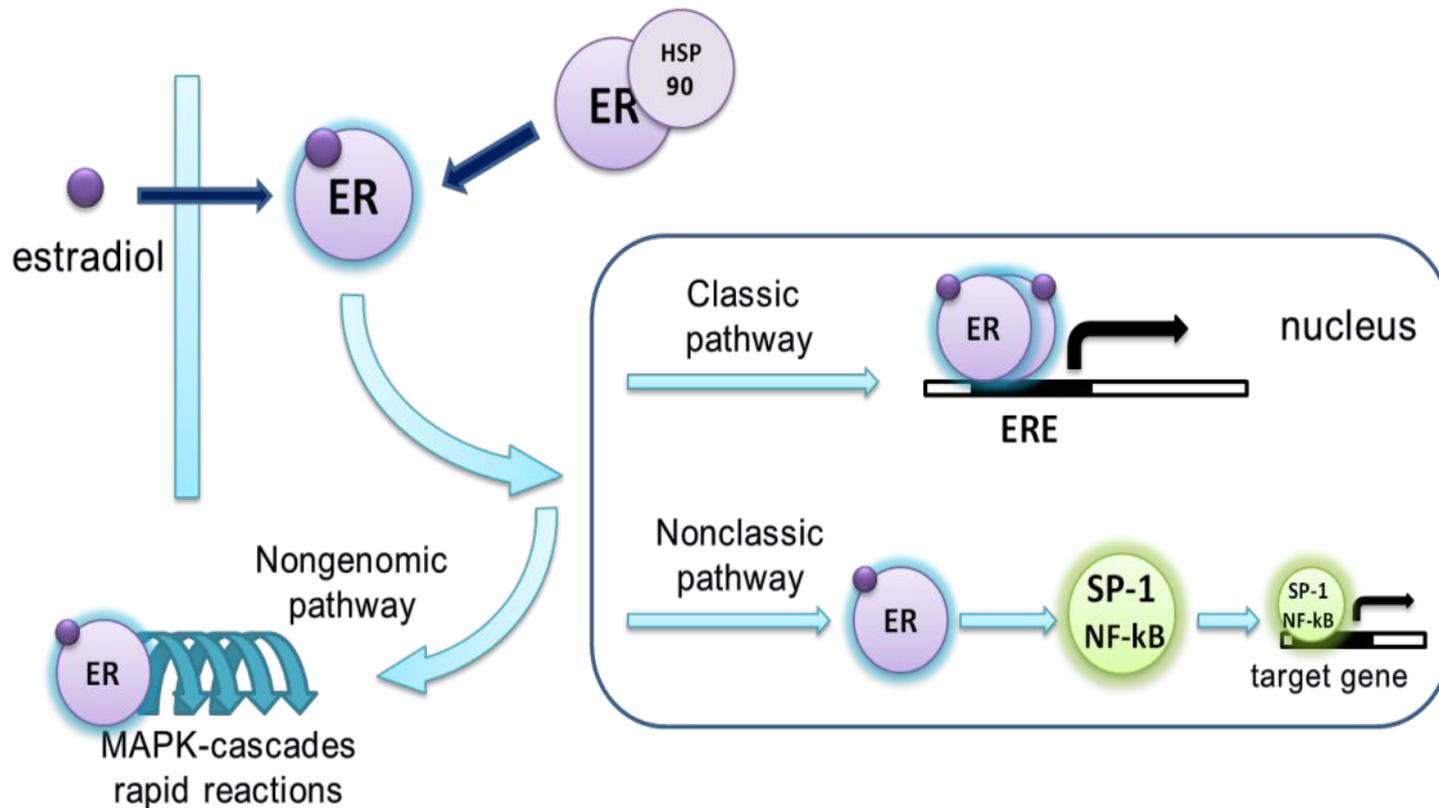
Доменная структура эстрогеновых рецепторов



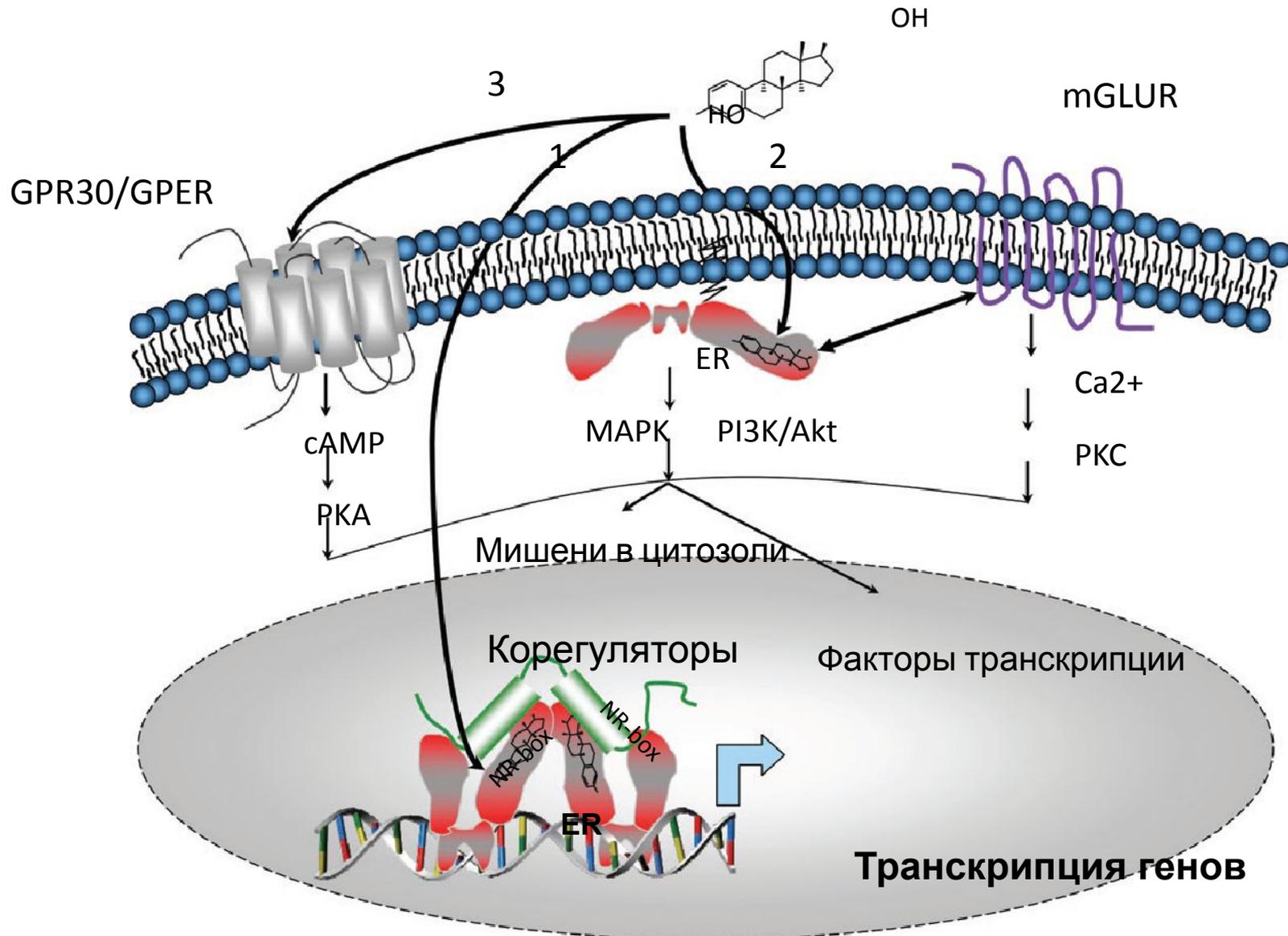
Структура эстрогенового рецептора

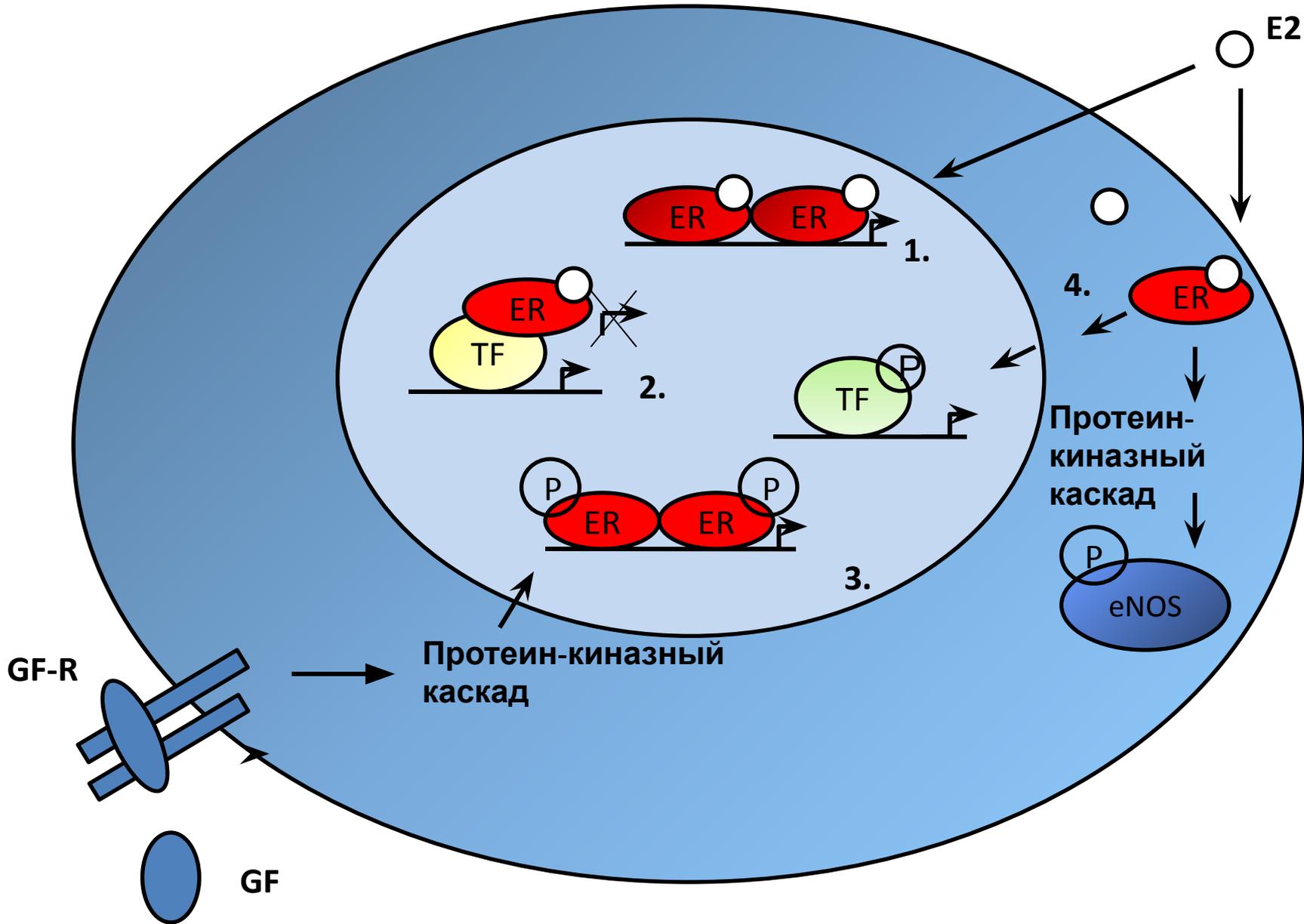


Стимуляция ER-сигнального пути эстрадиолом (E2)

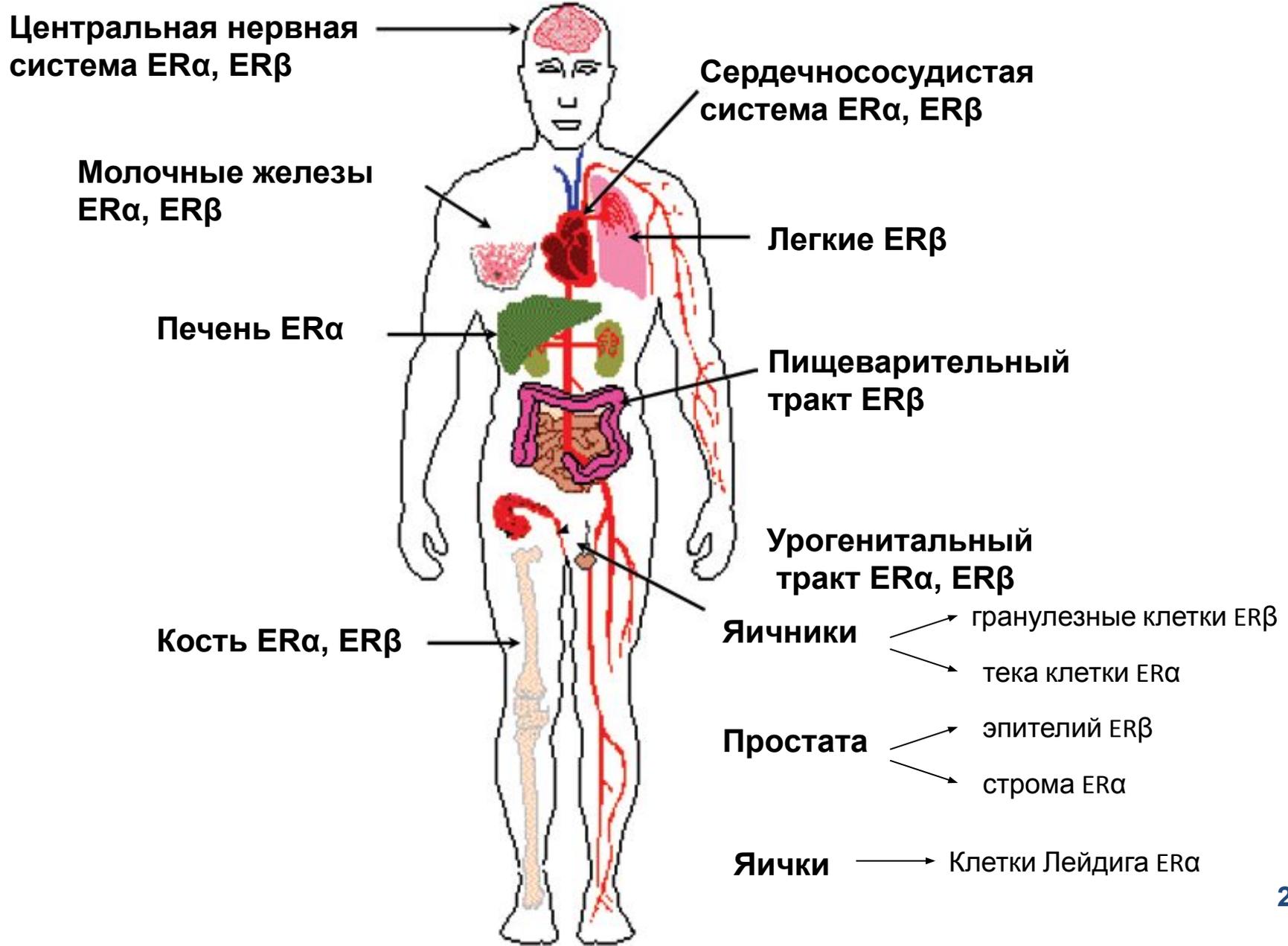


Модель действия эстрогенов

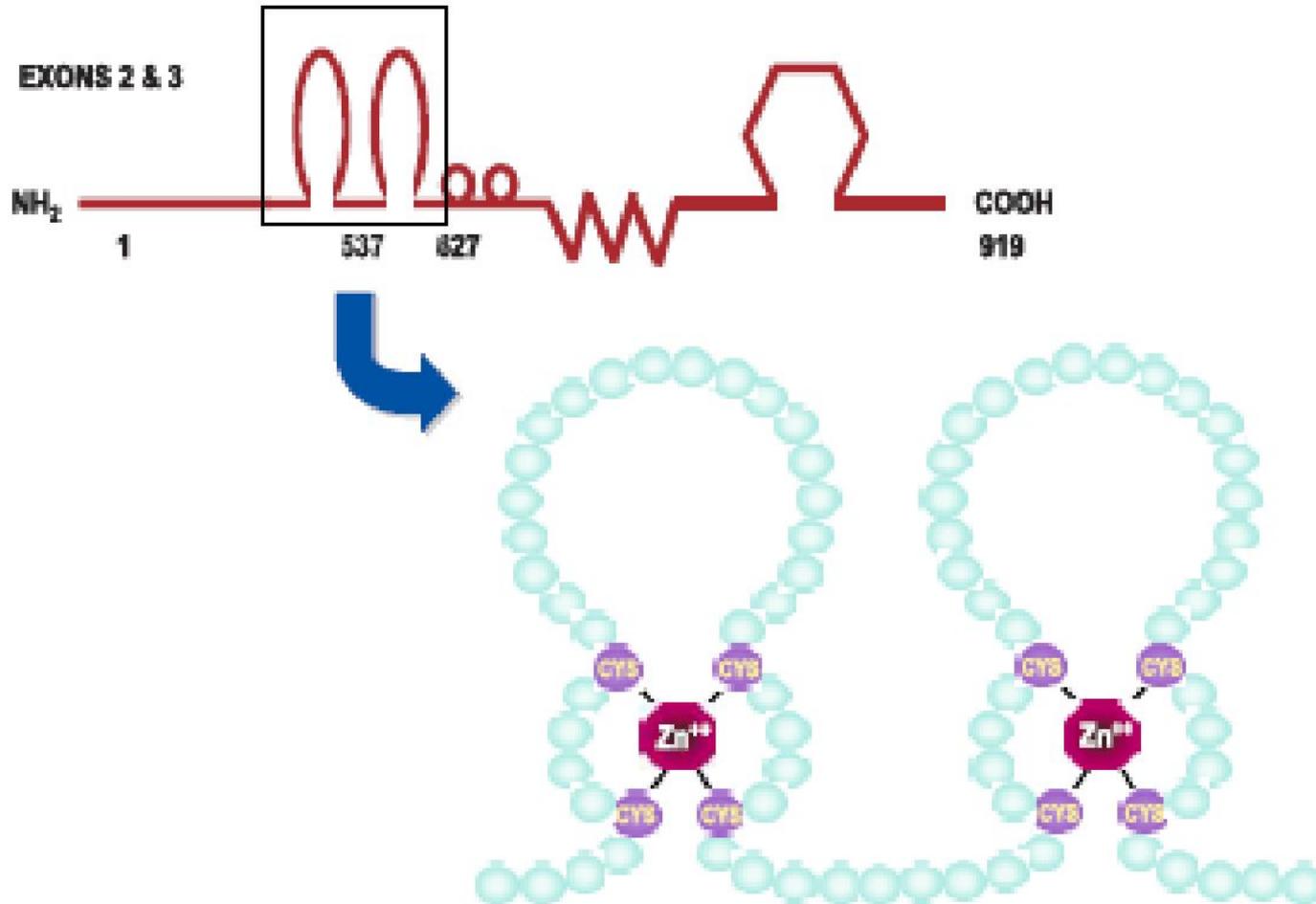




Распределение эстрогеновых рецепторов в организме человека



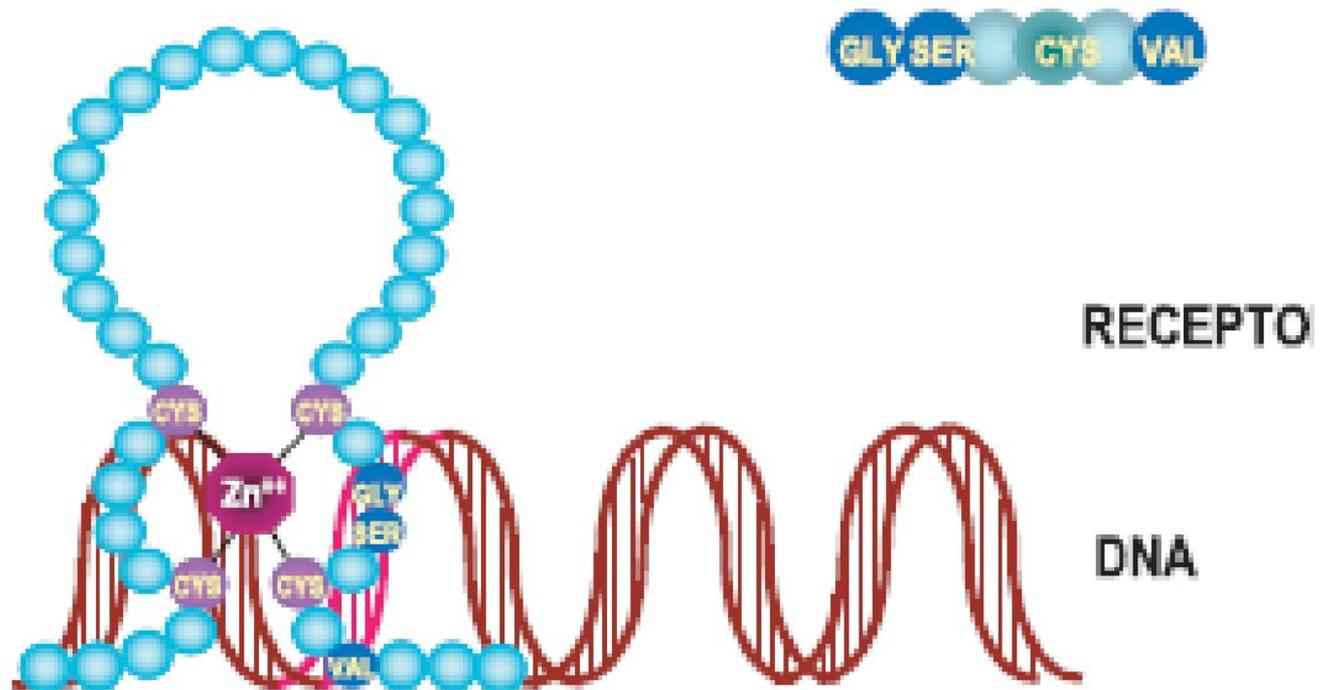
Строение ДНК-связывающего домена



Взаимодействие рецептора с ERE

5'-AGAACA_nnTGTTCT-3' развернутые повторы

5'-AGGTCA_nnAGGTCA-3' прямые повторы



Гены мишени эстрогеновых рецепторов

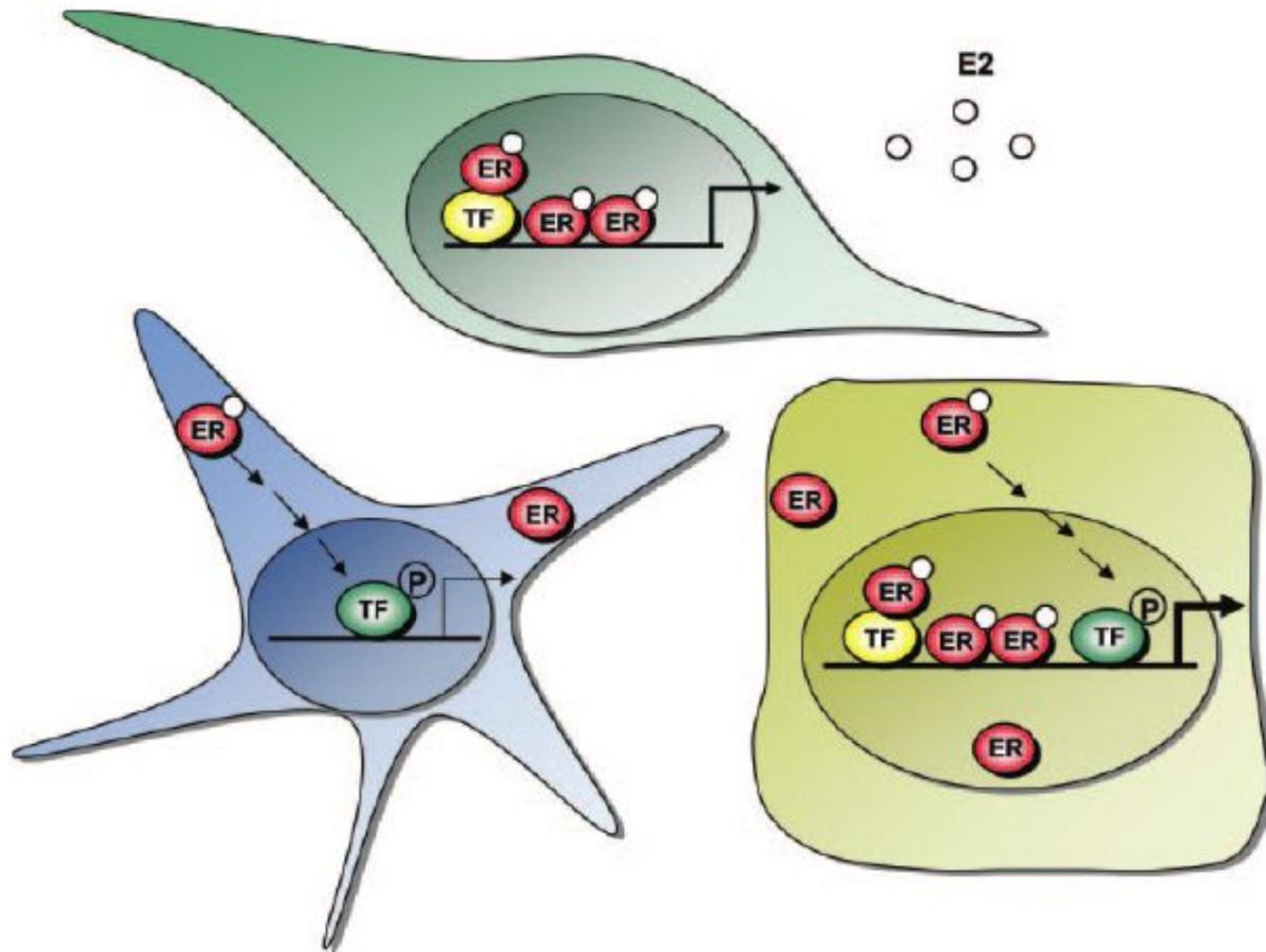
Активация

1. Коллагеназа
2. Человеческий инсулиновый фактор роста 1
3. Ген кальцитонина

Супрессия

1. Ген холин-ацетилтрансферазы
2. Липопротейн липазный ген
3. Ген фолликулостимулирующего гормона
4. Ген хинолон редуктазы (окисляя хинолон снижает генерацию свободных радикалов и, тем самым, принимает участие в защитных антиоксидантных реакциях)

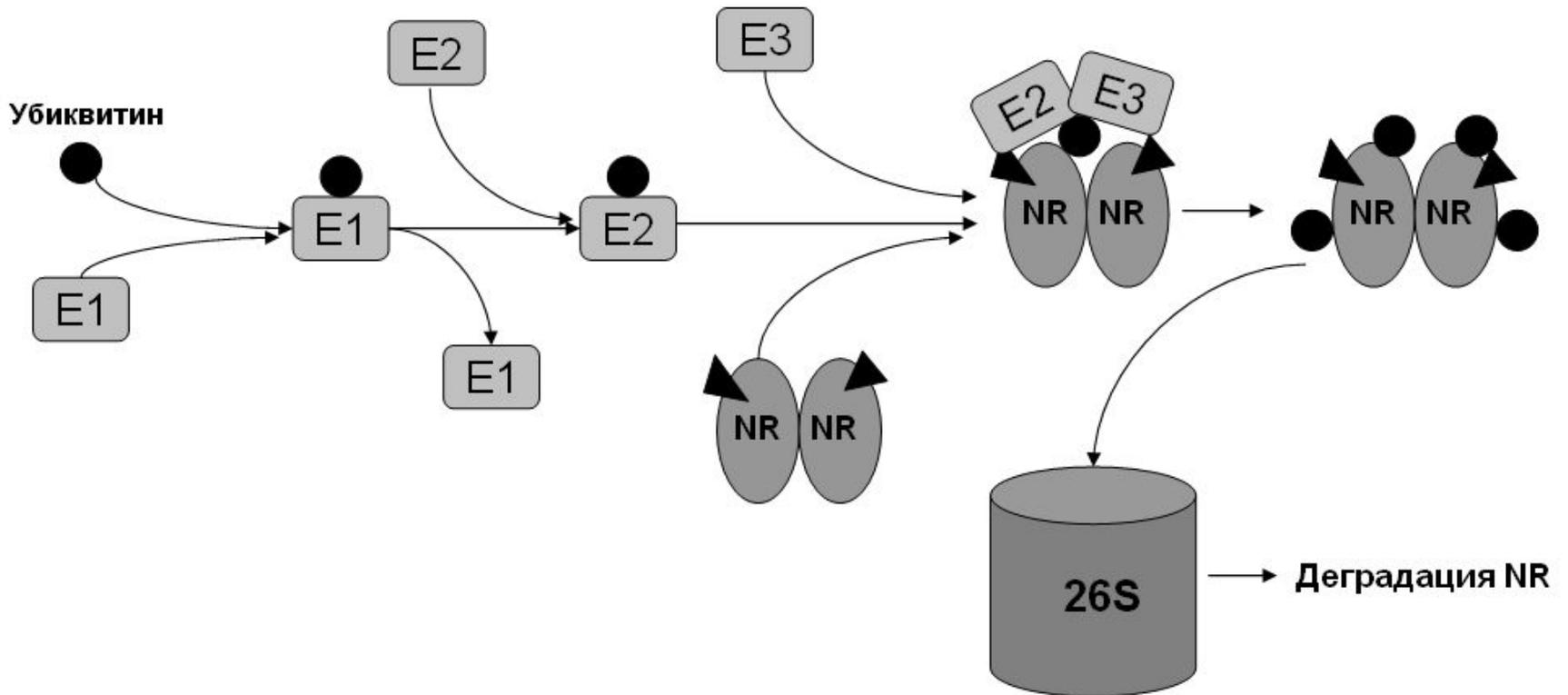
Схематическая иллюстрация регуляции транскрипции ERs в различных клетках



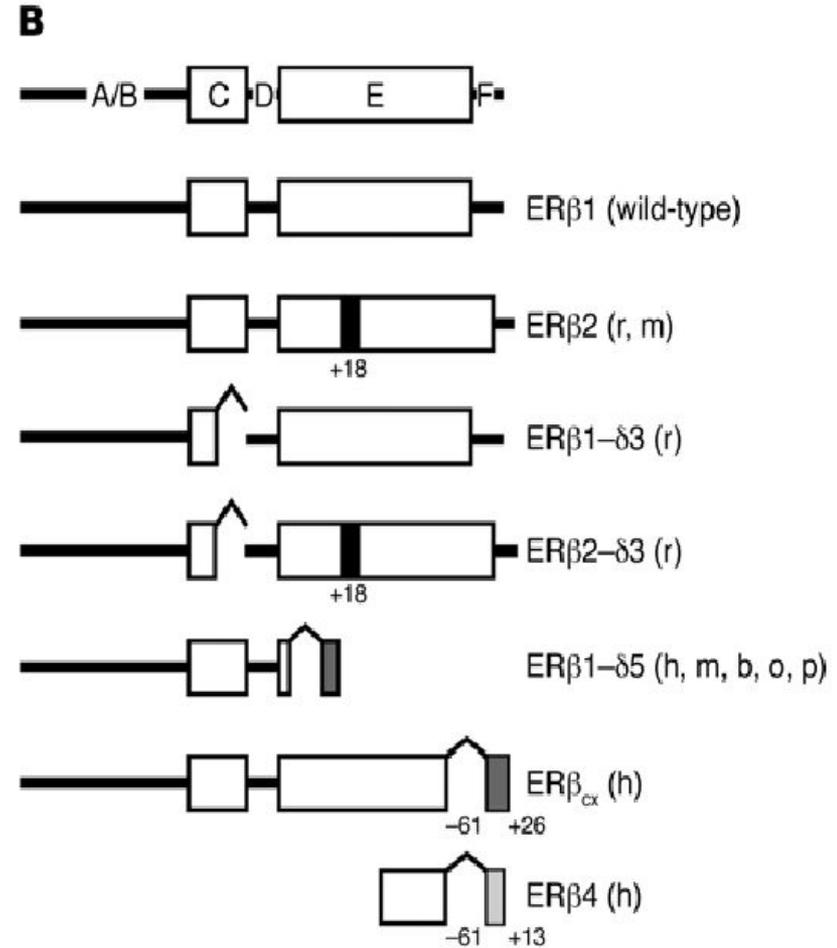
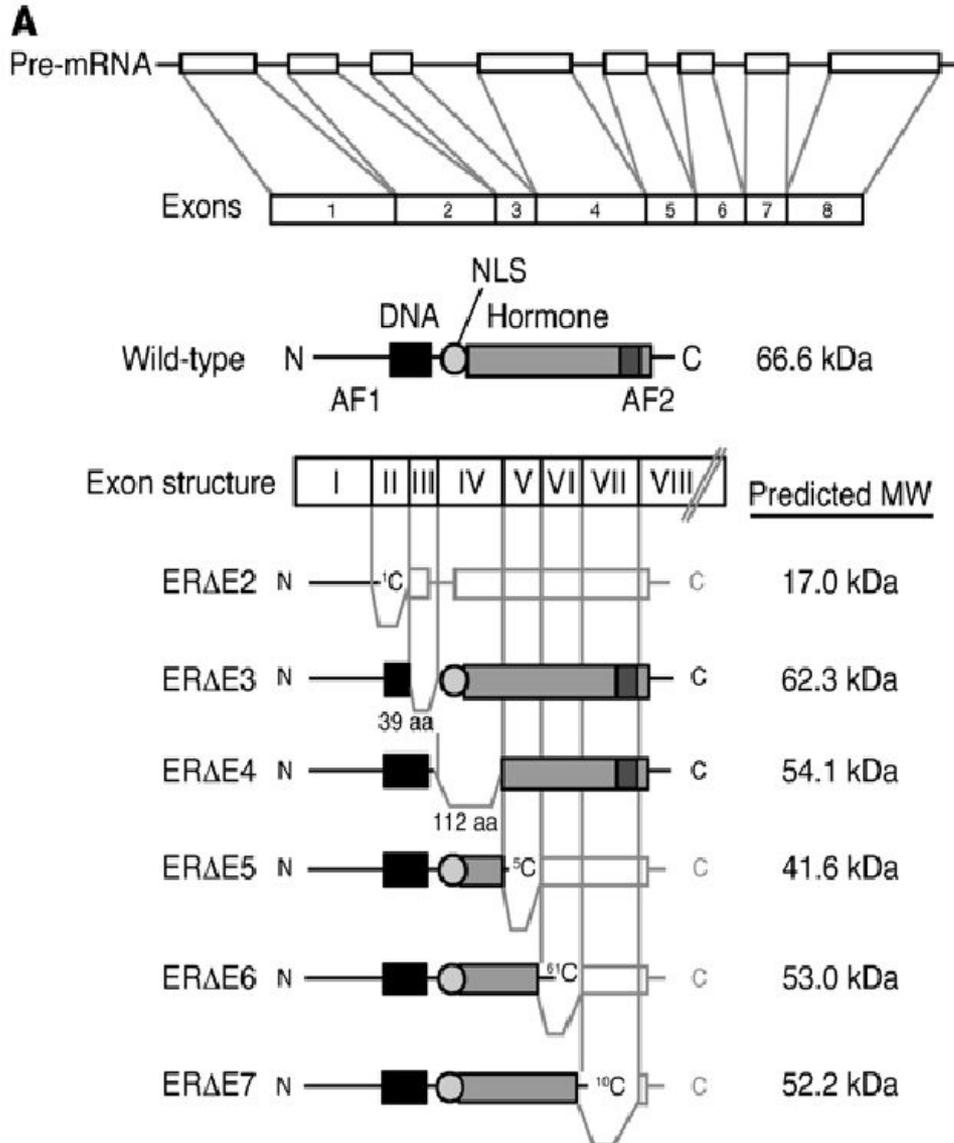
Научная проблема:

- Почему повышается количество ERальфа?
- Почему повышается его транскрипционная активность?
- **Возможные причины:**
 - 1. Увеличение количества лиганда (эстрадиола и ксеноэстрогенов)
 - 2. Амплификация гена (показано для РМЖ)
 - 3. Нарушение регуляции, роль коактиваторов, роль miRs

ВЫКЛЮЧЕНИЕ ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ



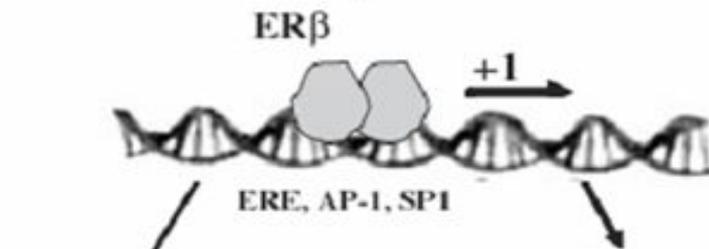
Загадки ГК: Сплайсированные варианты эстрогеновых рецепторов



Гипотетическая модель действия ER β на пути клеточной пролиферации

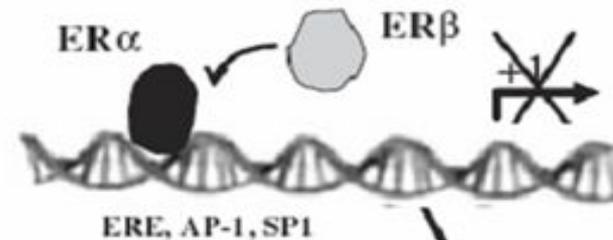
Механизм антипролиферативного действия ER β

Прямой эффект на генную транскрипцию



ингибция генов отвечающих за клеточную пролиферацию (циклин D1)

Не прямой эффект через модуляцию ER α активности



ингибция ER α индуцированной клеточной пролиферации

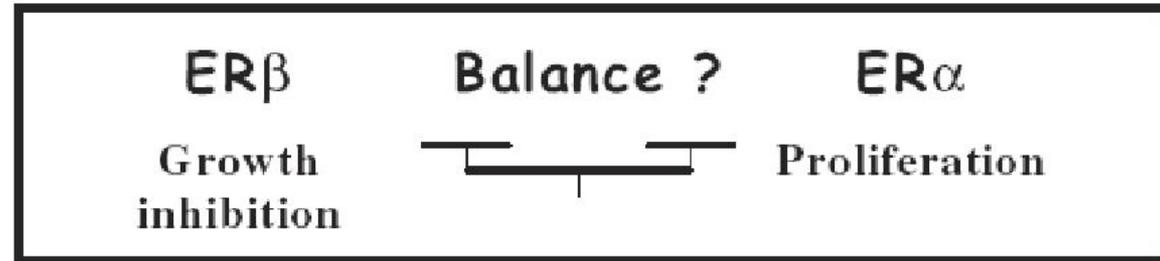
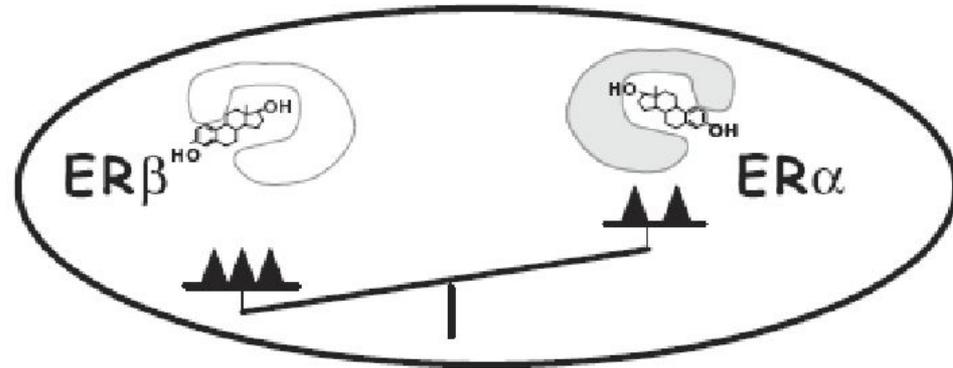
регуляция генов включенных в апоптоз

ингибция антиапоптотической генной экспрессии

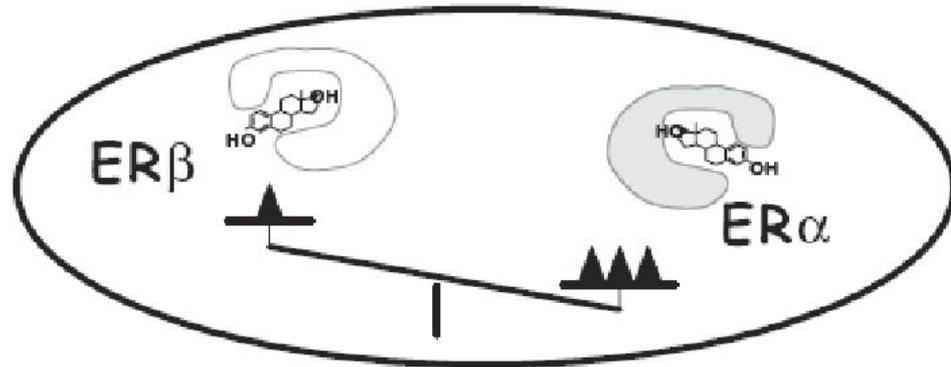
индукция проапоптотической генной экспрессии

Схематическое изображение нарушения равновесия ER α и ER β при гормональном канцерогенезе

Normal cells



Tumor cells



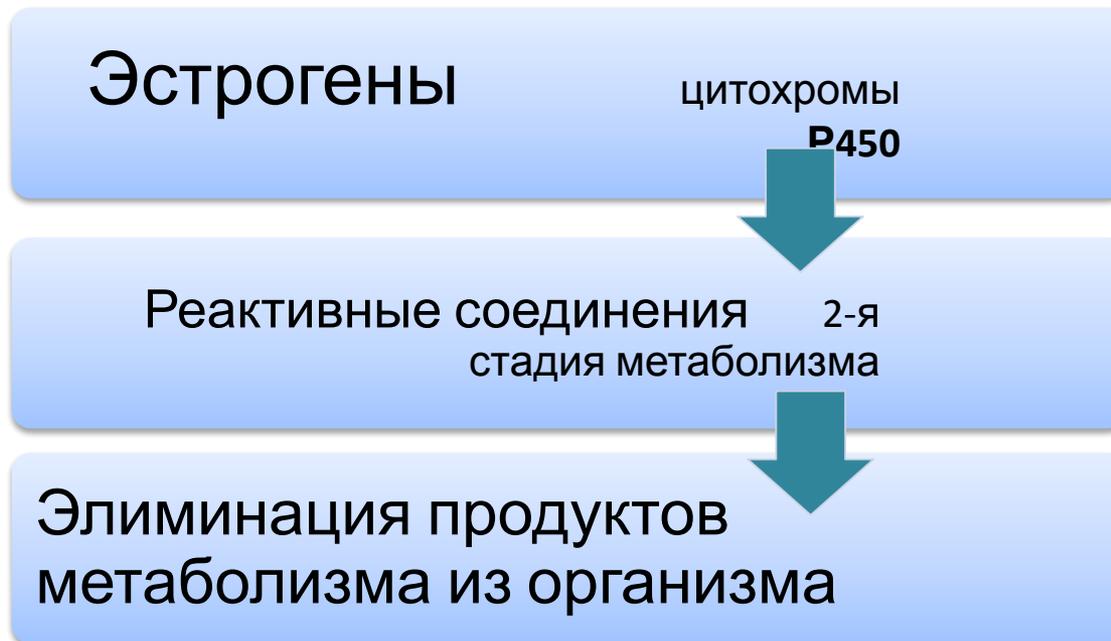
Аффинность лигандов к ERs (мкМ)

Лиганды	ERα	ERβ
эстрадиол	100	100
4-ОН-Тамоксифен	257	232
диэтилстилбестрол	236	221
Genistein	4	87
Liquiritigenin	ND	ND
DPN	0.25	18
ERB-041	0.27	67

Генотоксический тип канцерогенеза

Деградация эстрогенов в общих чертах представляет из себя деградацию ксенобиотиков – ключевую роль играют цитохромы Р450, проводящие окислительное гидроксилирование. Продукты гидроксилирования могут быть очень реакционноспособными. Потом наступает стадия конъюгации, к гидроксилированному стероиду присоединяется специальная группа (например, PAPS), резко увеличивающая его гидрофильность и способствующая выводу продукта из организма.

Схема деградации эстрогенов

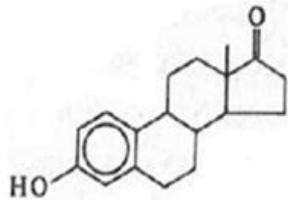


Причины нарушения баланса E2

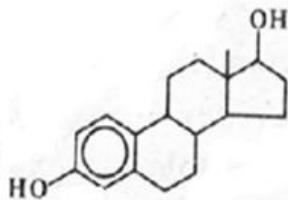


- Ксеноэстрогены и рецептор-опосредованный механизм

DDT – потенциальный ксеноэстроген

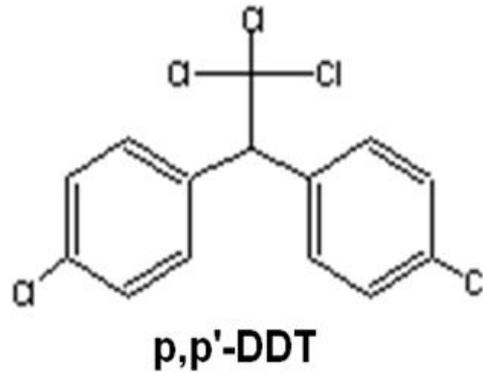


Estron

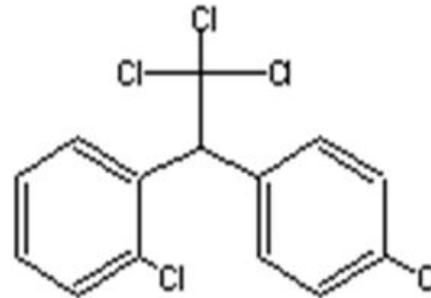


Эстрадиол

Estradiol



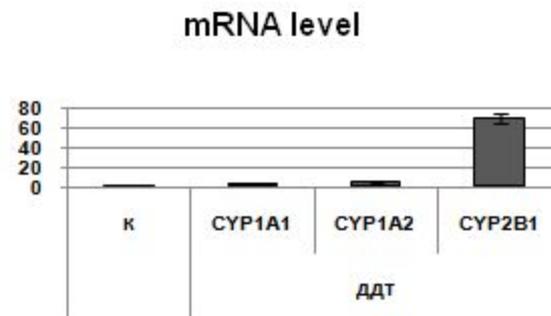
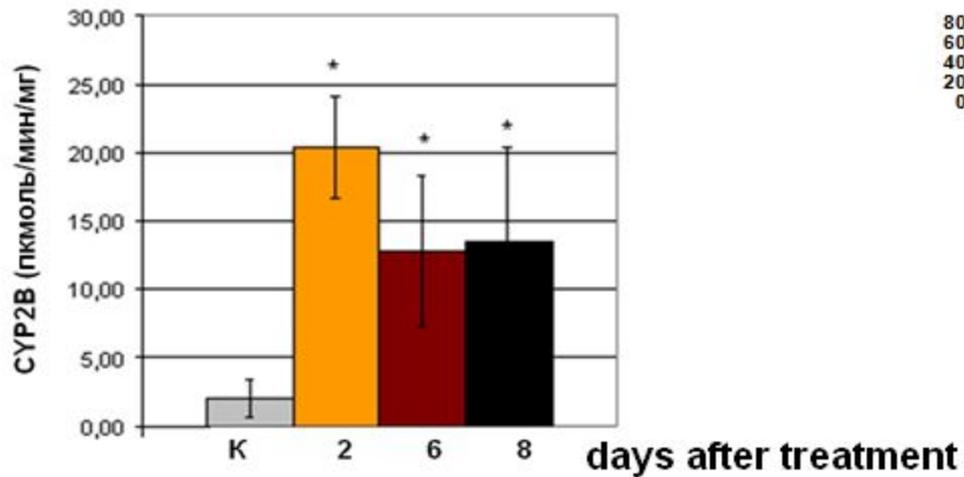
p,p'-DDT



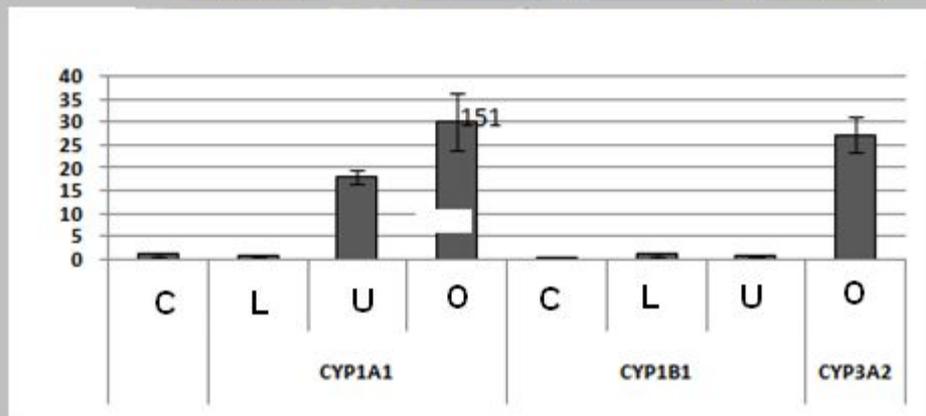
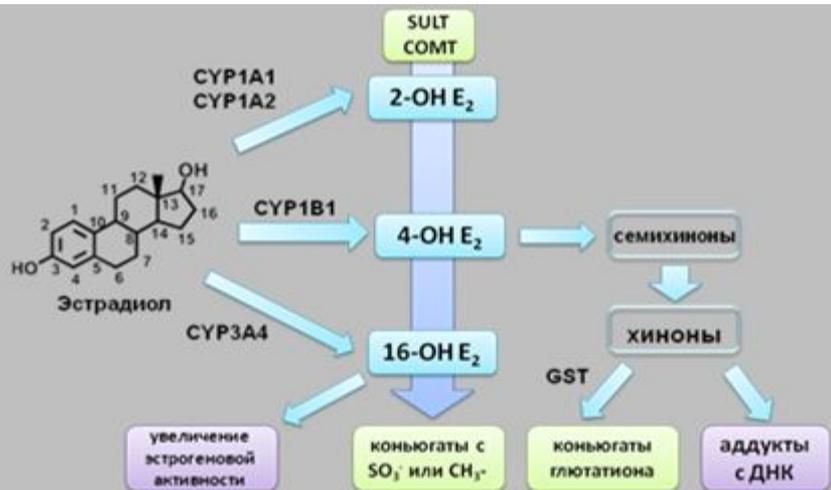
o,p'-DDT

p,p'-DDT и *o,p'*-DDT *in vitro* связываются с AR. *o,p'*-DDT *in vitro* связываются с ER крыс.

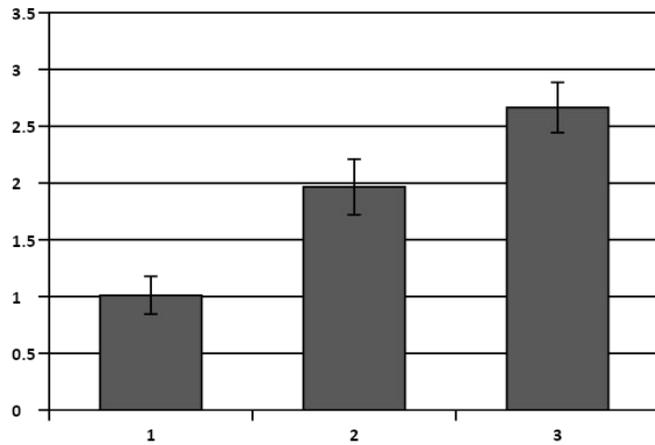
DDT индуктор CYP2B в печени крыс



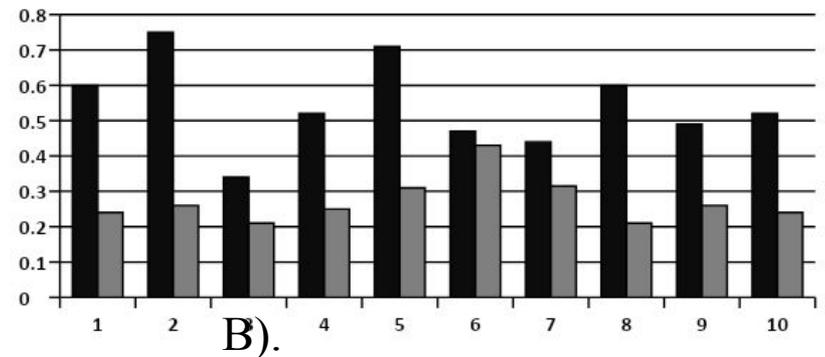
СУР1А1/2, СУР1В1 и СУР3А в метаболизме эстрогенов. Эффект ДДТ



Экспрессия CYP19 (Aromatase)



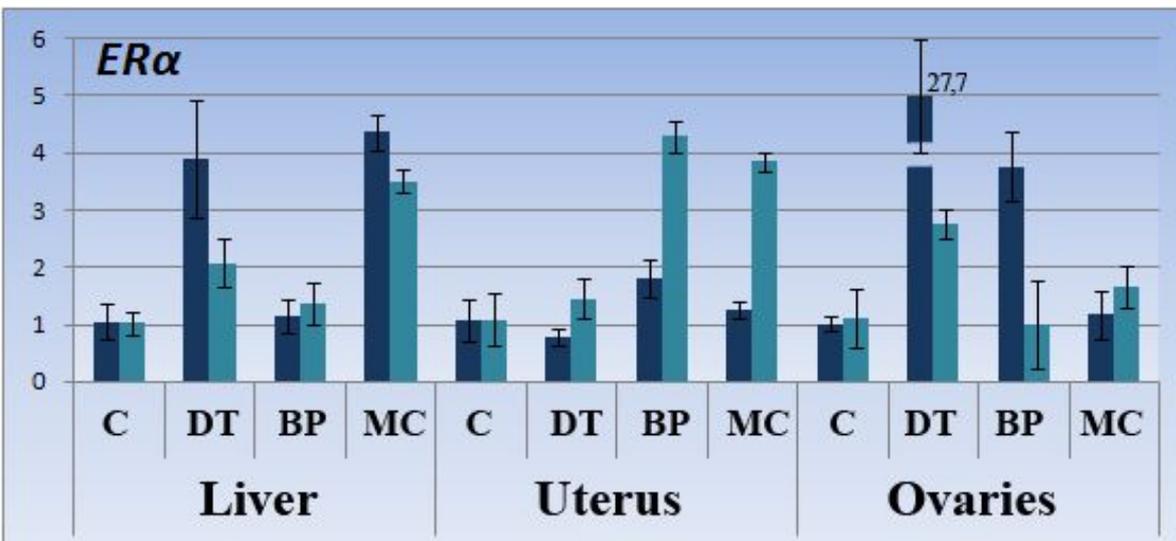
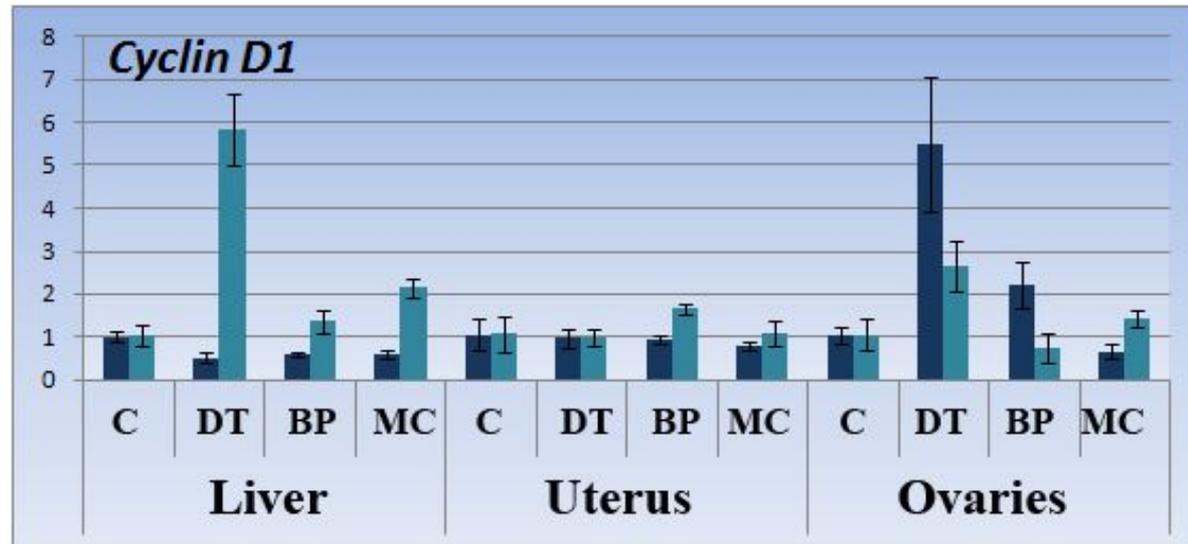
А).



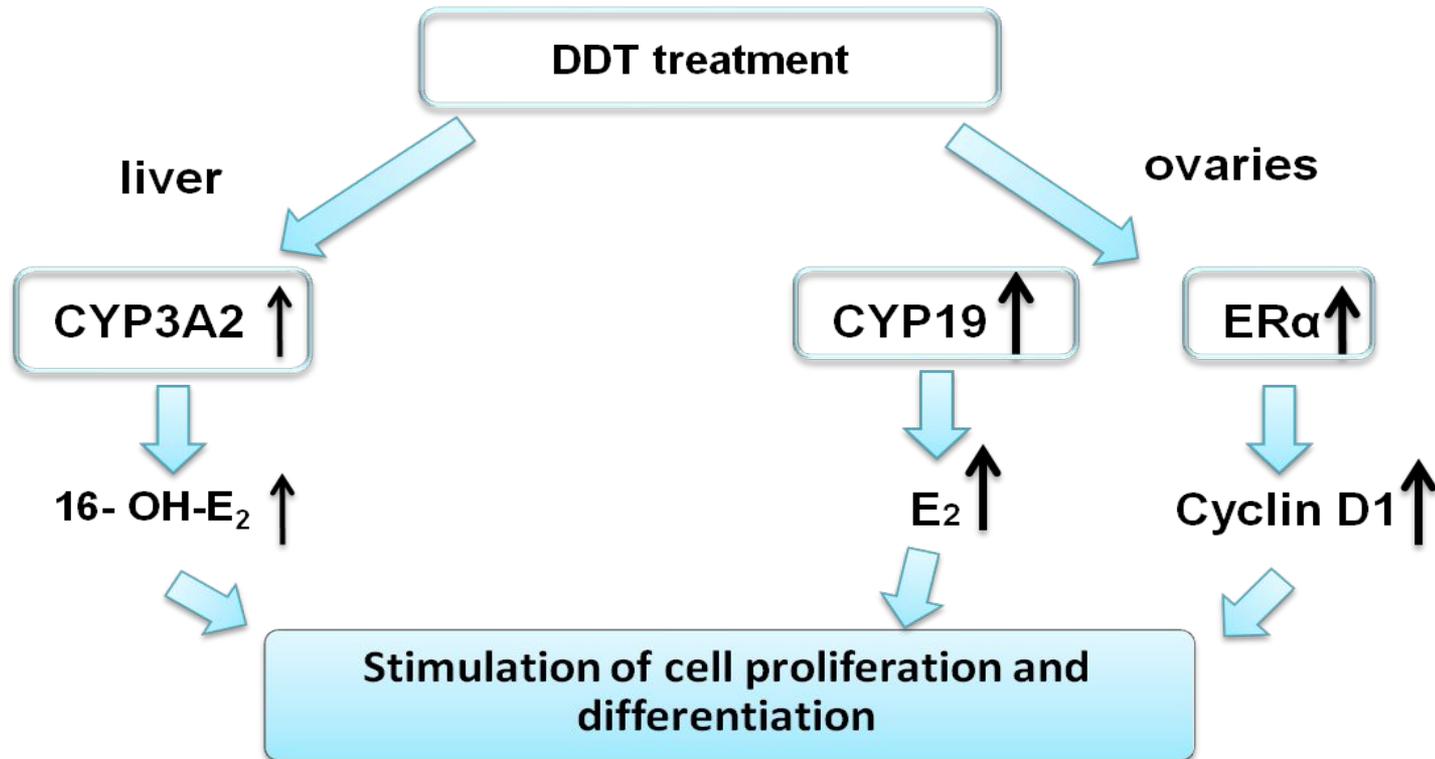
В).

А). Экспрессия *CYP19* в матке и яичниках крыс, обработанных ДДТ В)
Экспрессия *CYP19* в образцах РМЖ (черный цвет) в сравнении с
контролем (серый цвет).

Экспрессия генов *Erα* и *CyclinD1*

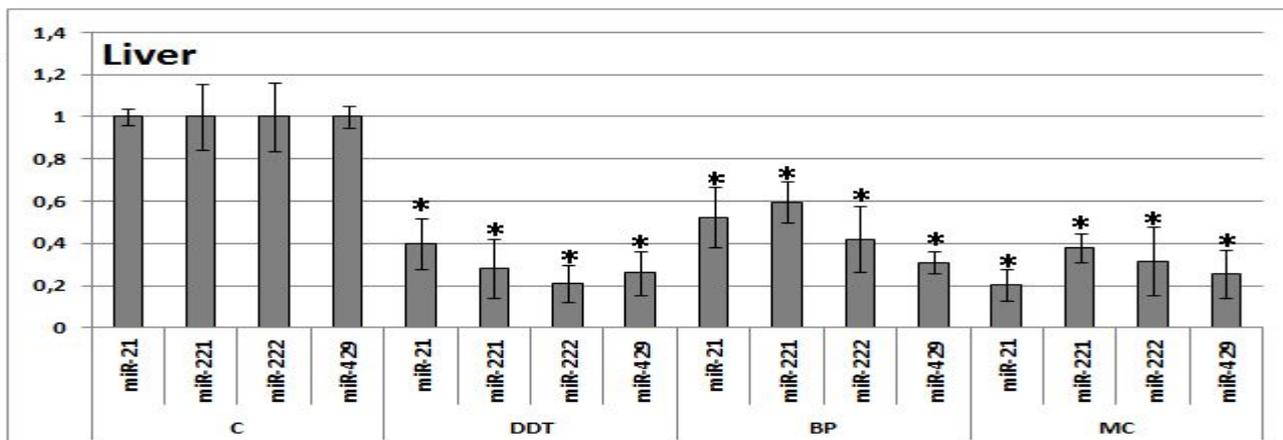


Предполагаемый механизм действия DDT

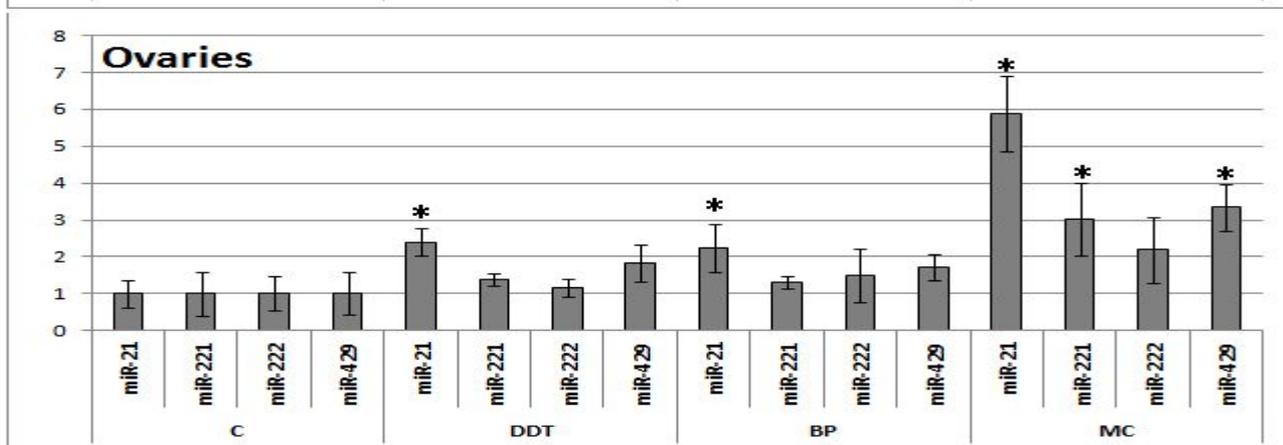


Эффекты DDT, BP, and MC на экспрессию miR-21/221/222/429 в печени(A) и яичников (B) самок крыс Вистар

A



B



[Chanyshv MD, Kosorotikov NI, Titov SE, Kolesnikov NN, Gulyaeva LF.](#)

[Life Sci. 2014 May 17;103\(2\):95-100. doi: 10.1016/j.lfs.2014.03.031. Epub 2014 Apr 12.](#)

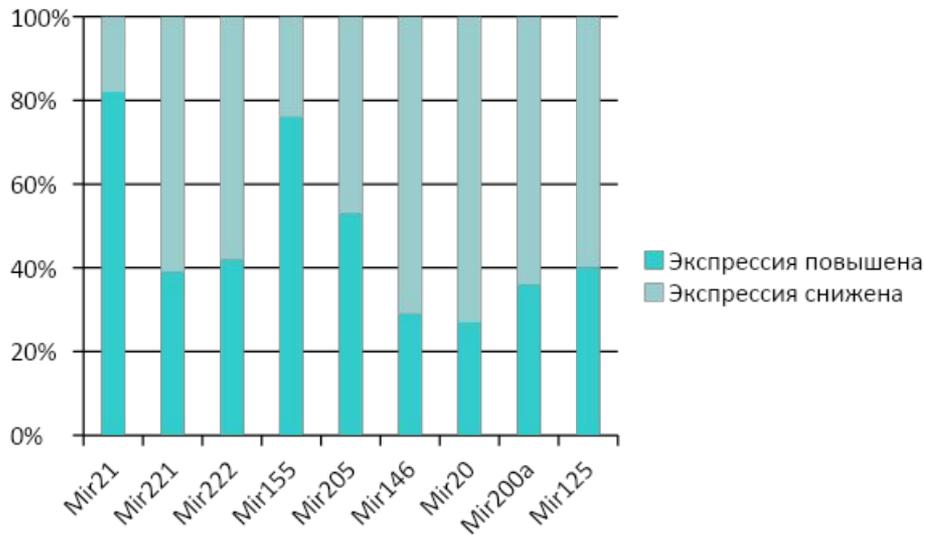
[Expression of microRNAs, CYP1A1 and CYP2B1 in the livers and ovaries of female rats treated with DDT and PAHs.](#)

Экспрессия miR в фиброаденоме МЖ и РМЖ

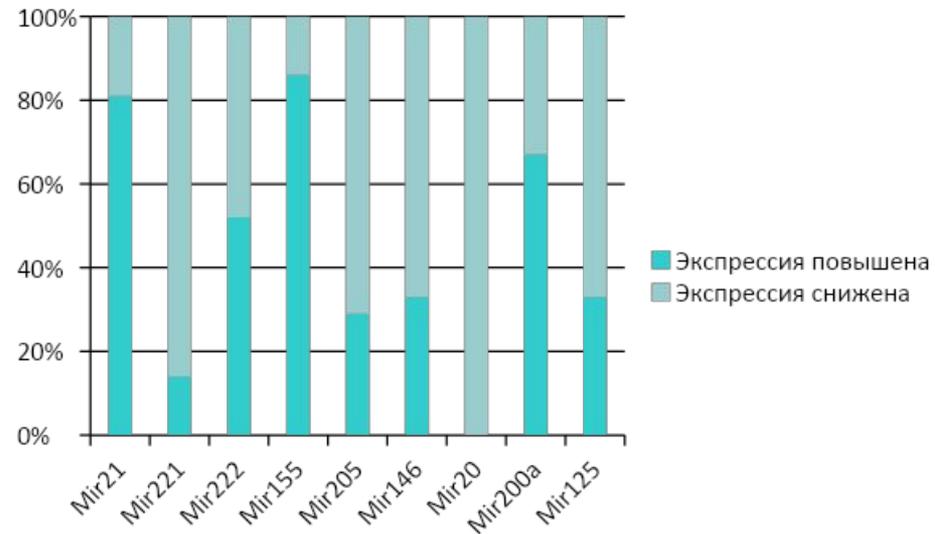
Patients	n	Increased/decreased levels (folds)				
		miR-2 1	miR-155	miR-22 1	miR-22 2	miR-20 5
BC	18	↑10*	↑20	↑15	↑15	↓15-20
FAMG	8	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑10

Профиль экспрессии МикроРНК в образцах РМЖ

Без НАТ



После НАТ



- Таргетная гормональная терапия опухолей

Маркеры рака молочной железы

Маркер	Нарушения	Встречаемость (%)
Рецепторы ER и PR	Увеличение содержания (амплификация гена и др.)	До 70
Рецептор ERBB2/HER2	Амплификация гена	20-30
Ki-67 антиген	Показатель пролиферации	34,9% (колебания от 1 до 90%.)
p53	Повреждение гена TP53 или Пост-трансляционные нарушения	До 50
BRCA1 или BRCA2	Делеции в гене	До 10
Кандидатные маркеры:		
Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA), caveolin, Growth Factors: EGF, HGF, IGF, VEGF, and TGF- β		

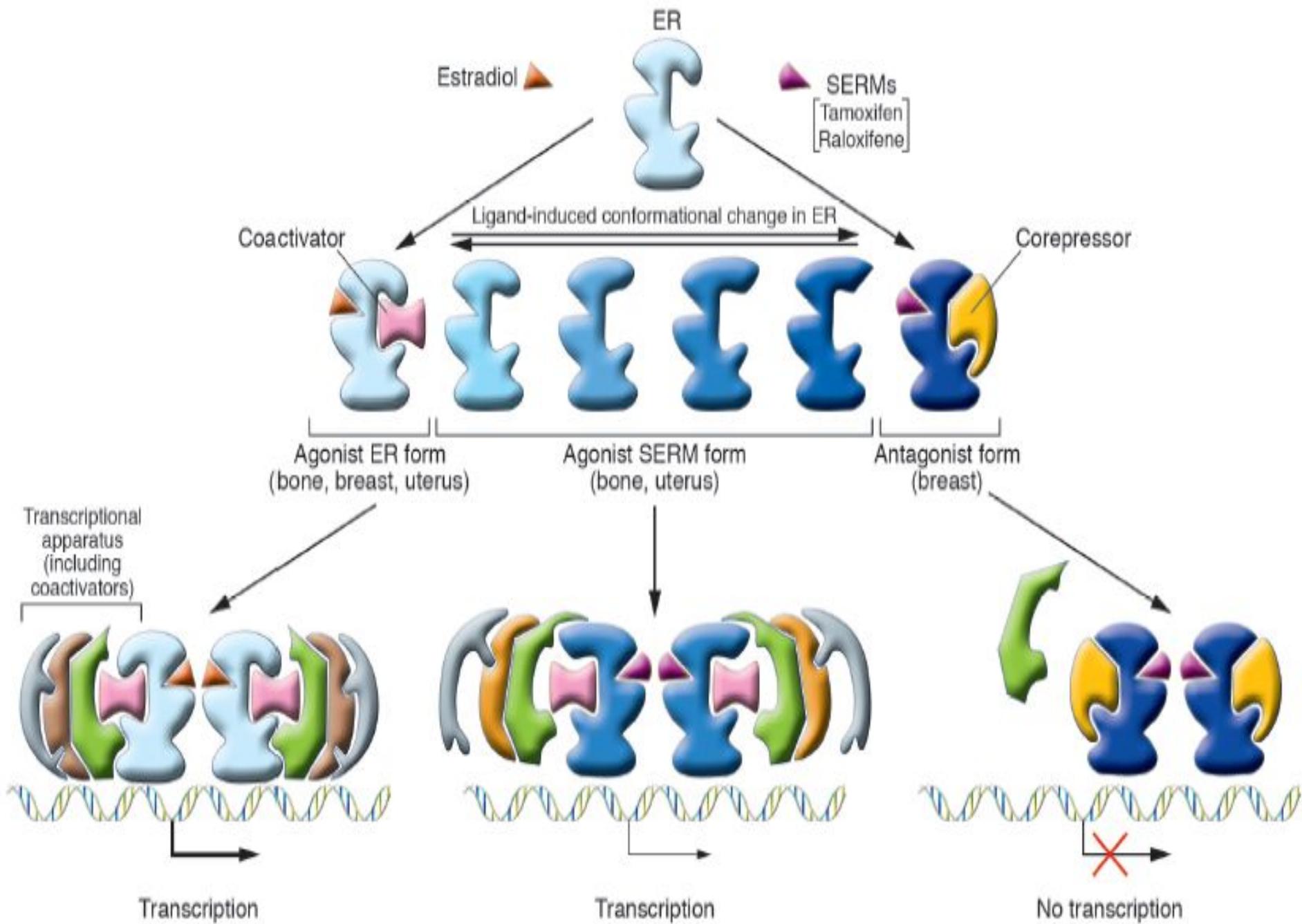
Маркеры рака эндометрия

Характеристика	Type I (ЕЕС)	Type II (НЕЕС)
Зависимость от эстрогенов	Да	Нет
Состояние эндометрия	Гиперплазия	Атрофия
Морфология	Эндометриодная клетки	Серозная светлоклеточная карцинома
Микросателлитная нестабильность	20–40%	0–5%
Мутации в гене p53	10–20%	90%
Мутации в β -катенине	31–47%	0–3%
Мутации в K-ras	15–30%	0–5%
Инактивация PTEN	35–50%	10%
Активация HER2/neu	Нет информации	18–80%

Стратегия в лечении РМЖ

Гормональная терапия РМЖ

- **Проблема:** Поиск эффективных ингибиторов ER α (SERM)



- **Моделирование взаимодействия лигандов с ERs в экспериментах *in vivo***

Эксперименты *in vivo* с самками здоровых крыс



Извлечение тканей



Инъекции в течение 10 суток:
3 крысы – подсолнечное масло
3 крысы – эстрадиол
3 крысы - тамоксифен

36 образцов тканей
(печень, яичники, матка,
молочные железы)

Гомогенизация
тканей

Выделение
мРНК

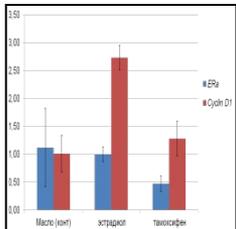
Реверти-
рование

ОТ-ПЦР
анализ:
324
образца

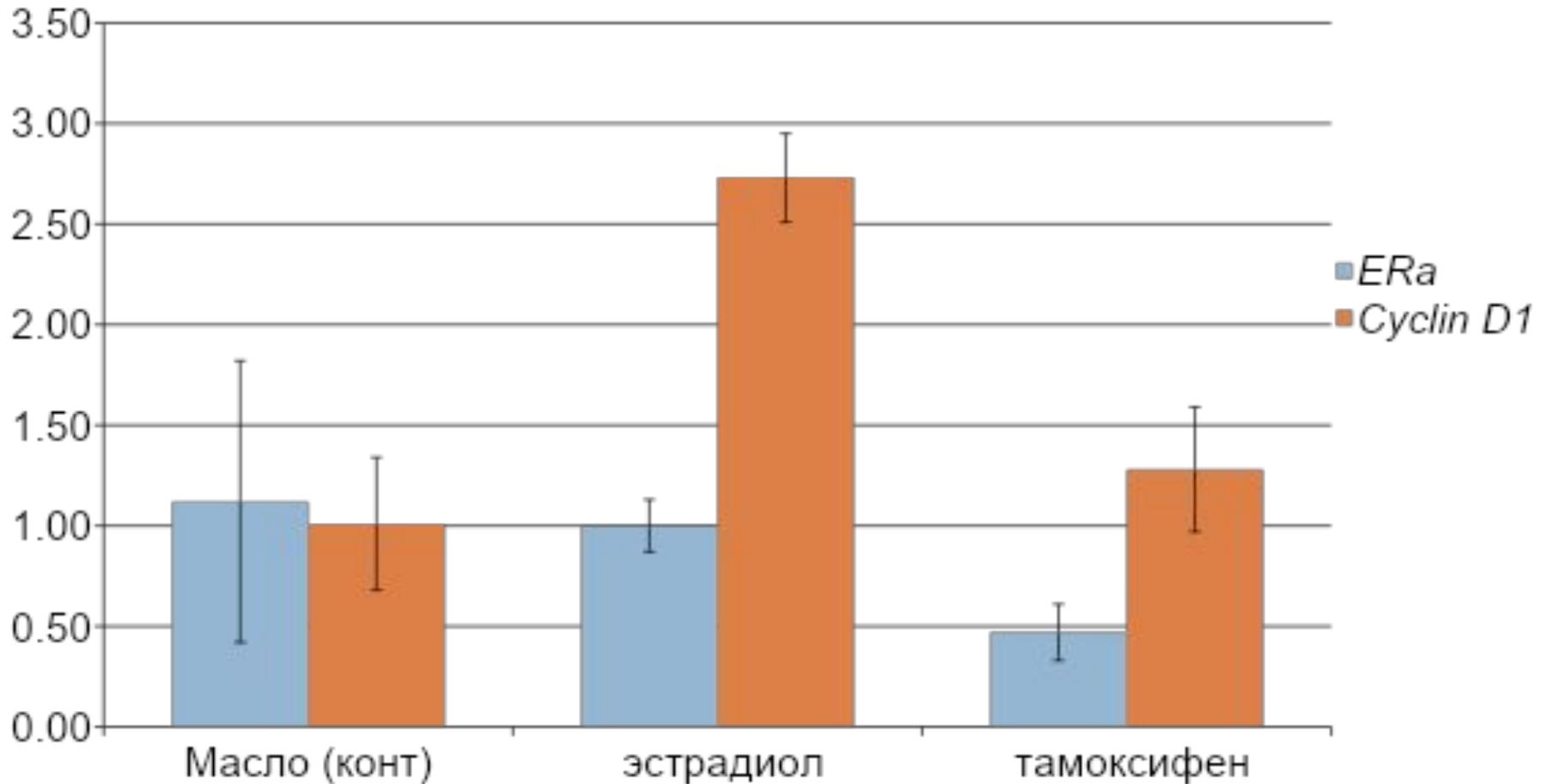
Обсчет
результатов
анализа

36
кДНК

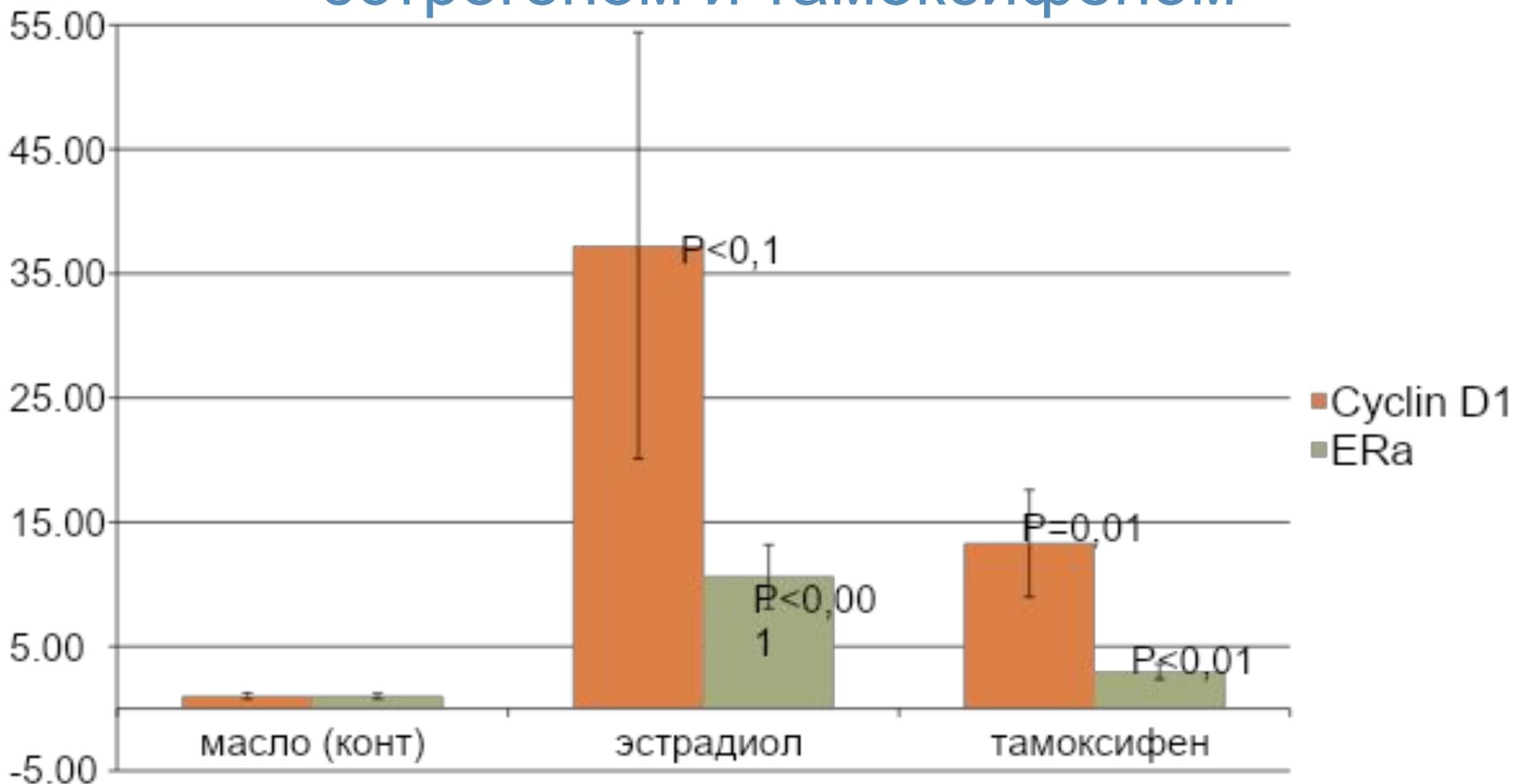
36
мРНК



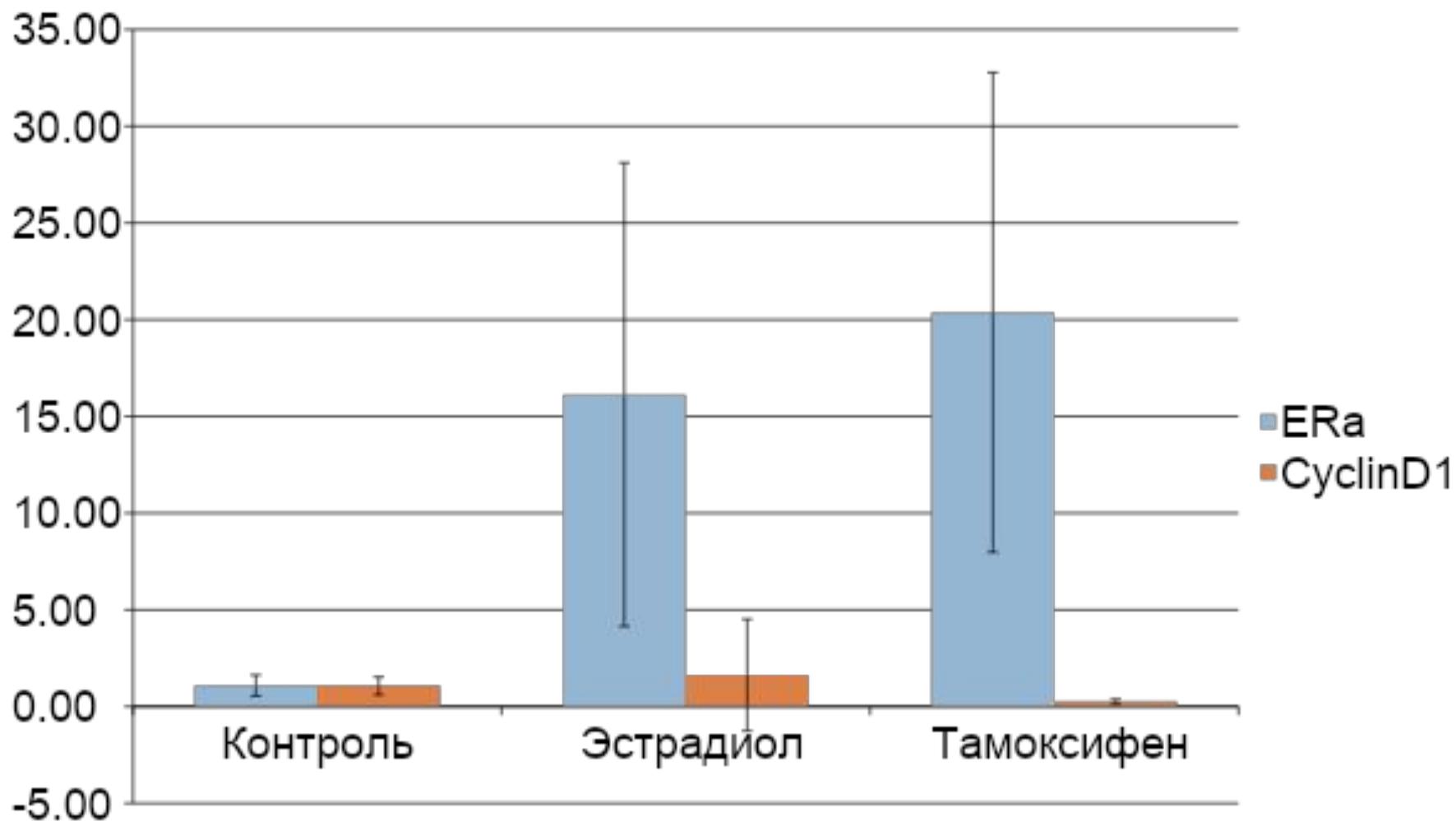
Экспрессия генов *cyclin D1* и *ER-α* в молочных железах крыс, обработанных эстрадиолом и тамоксифеном



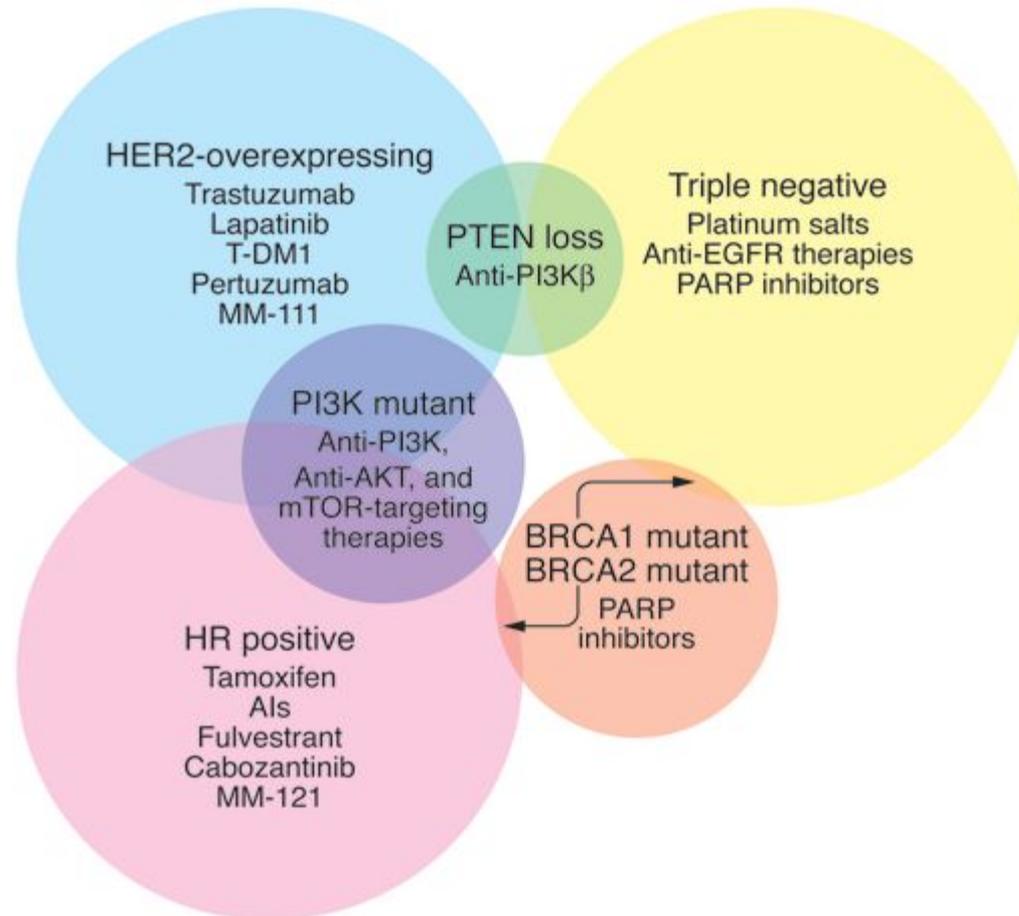
Экспрессия генов *cyclin D1* и *ER-α* в эндометрии крыс, обработанных эстрогеном и тамоксифеном



Экспрессия генов-«мишеней» в яичниках

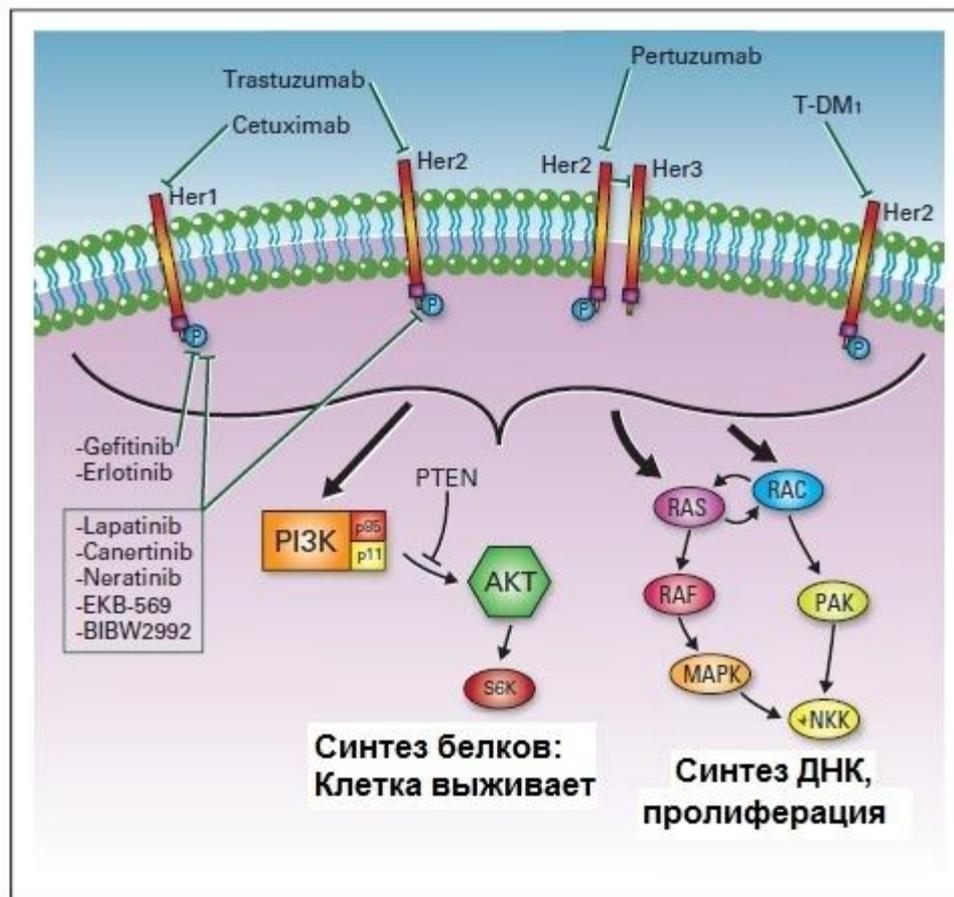


Новые маркеры РМЖ для терапии

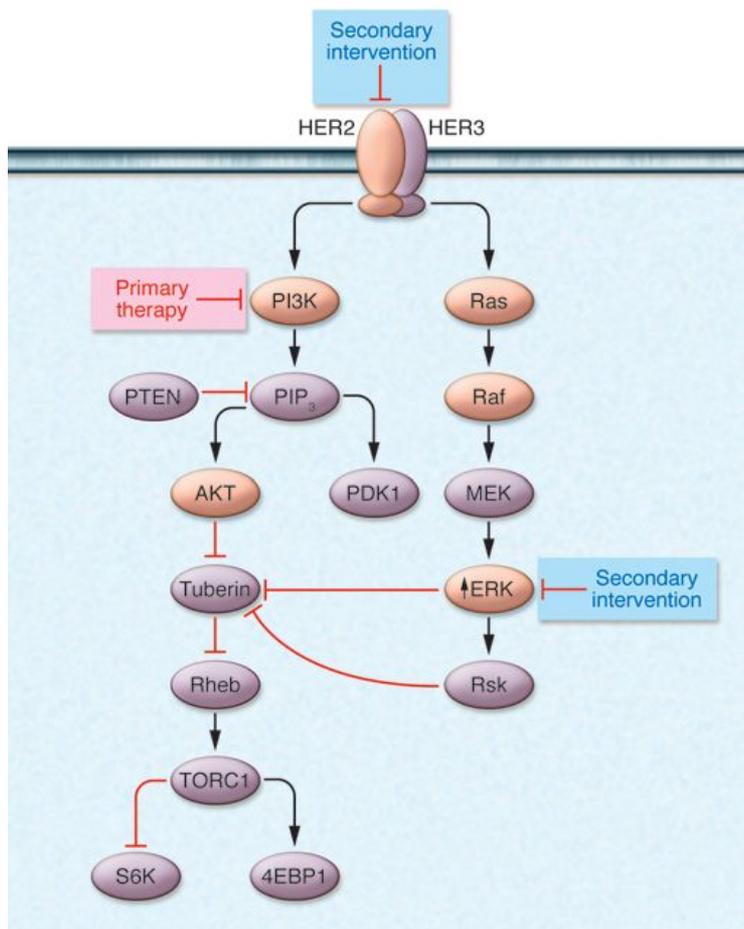


В опухолях молочной железы EGFR играет основную роль в усилении пролиферации и малигнизации

Alvarez et al. , 2010, J. CLIN. ONCOL.



Резистентность к таргетам *(Higgins and Baselga, 2011)*



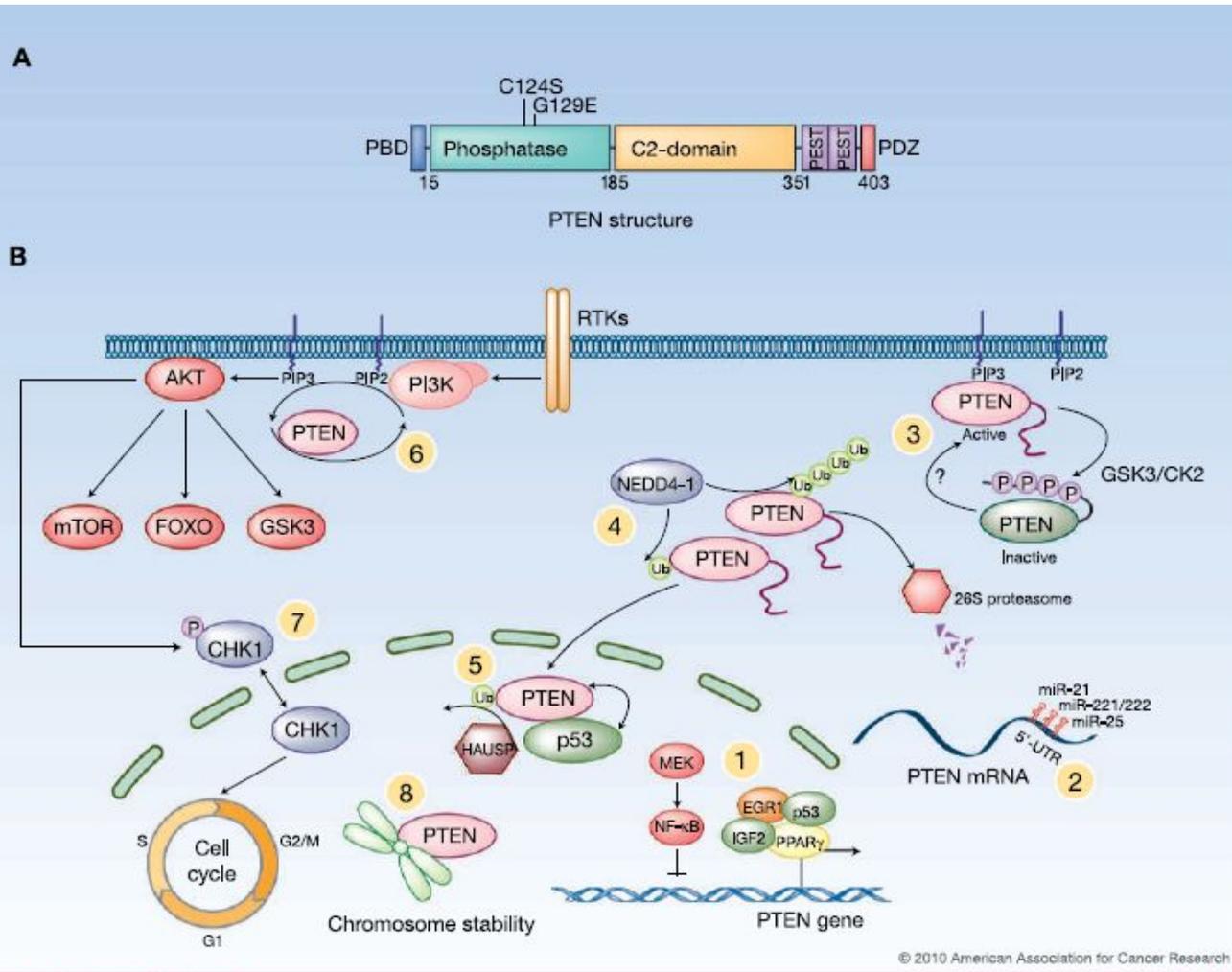
Резистентность к анти-HER2 терапии может возникнуть, как результат нарушений нижестоящих сигнальных путей (потеря функции PTEN или мутации в *PI3K*). Для преодоления этого необходима дополнительная терапия.

Роль BRCA1 / 2 в патогенезе РМЖ и рака яичников

Наследственные формы рака
молочной железы (около 5%) и
рака яичников (около 10%).

У носителей мутаций
вероятность развития рака – до
70%

Онкосупрессор phosphatase and tensin homolog (PTEN)- маркер РЭ (Zhang and Yu, 2010)



Потеря функции в 50% случаев рака эндометрия. Активирующие мутации в PI3K – 25-30 % РЭ.

Лечение РЭ ингибиторами mTOR

Drug	Patient Population	Response Rate (%)	Stable Disease Rate (%)
Temsirolimus (CCI-779)	Pretreated, all histologies	7.4	44
Temsirolimus	Chemo-naive, all histologies	26	63
Everolimus (Rad001)	Pretreated, endometrioid only	0	44
Ridaforolimus (AP23573)	Pretreated, all histologies	7.4	34

Лечение РЭ ингибиторами PI3K

PI3K inhibitors

Company

XL-147

Exelixis

BKM 120

Novartis

GDC 0941

Genentech/Piramed/Roche

PX866

Oncothyreon

AKT inhibitors

MK2206

Merck

GSK 2,141,795

GlaxoSmithKline

GDC-0068

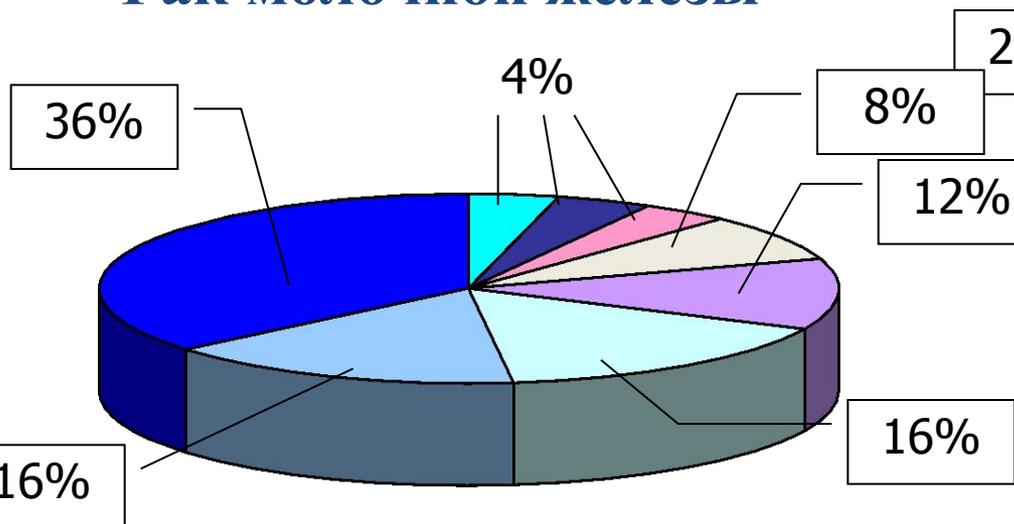
Genentech

Perifosine

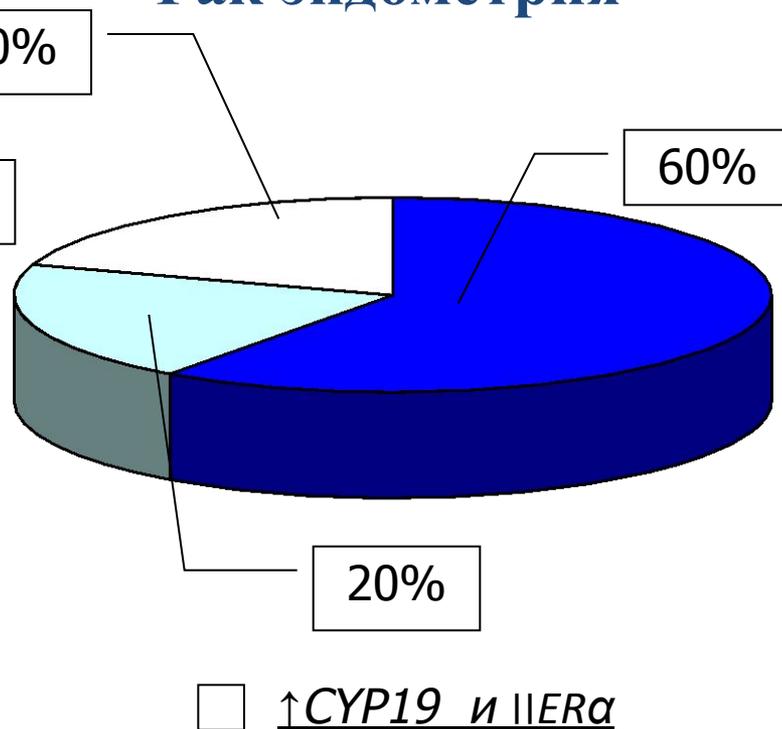
Keryx

Сравнение профилей экспрессии генов *CYP19* и *ERα*

Рак молочной железы



Рак эндометрия



$\uparrow CYP19$ и $\parallel ER\alpha$