

ОГЛАВЛЕНИЕ

Участники издания	10
Список сокращений и условных обозначений	12
Вместо эпиграфа. Из истории китайской медицины	15
ВВЕДЕНИЕ	17
Список литературы	40
ЧАСТЬ I. ГОРМОНАЛЬНЫЙ ФАКТОР	41
Глава 1. Дисбаланс 2-гидроксиэстрона и 16 α -гидроксиэстрона — универсальный диагностический и прогностический маркер эстроген-зависимых опухолей.	46
Глава 2. Какие факторы вызывают нарушение метаболизма эстрогенов при доброкачественных заболеваниях молочной железы? ...	49
Глава 3. Как препарат индолкарбинол (Индинол Форто®) нормализует эстрогенный баланс и оказывает другие антиэстрогенные эффекты при раке молочной железы и доброкачественных заболеваниях молочной железы?	54
3.1. Множественные механизмы антиэстрогенной активности индол-3-карбинола и 3,3'-дииндолилметана	60
3.1.1. Арилгидрокарбоновые рецепторы — внутриклеточная мишень индол-3-карбинола и 3,3'-дииндолилметана	61
3.1.2. Ингибирование ароматазы, подавление экспрессии эстрогеновых рецепторов α и другие антиэстрогенные эффекты индол-3-карбинола и 3,3'-дииндолилметана.	64
<i>Подведем итог</i>	68
Список литературы	68
ЧАСТЬ II. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ	69
Глава 1. Что такое эпигенетика? Эпигенетические механизмы регуляции в норме и при патологии	71
Глава 2. Эпигенетика канцерогенеза: теория и практика. Эпигенетические препараты — новый вид противоопухолевой таргетной терапии.	81

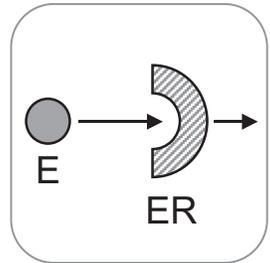
Глава 3. Эпигенетика рака молочной железы	87
Глава 4. Практическая эпигенетика. ДНК-метилирование в диагностике и лечении рака молочной железы	98
Глава 5. Эпигенетика доброкачественных процессов молочной железы. Аномальное метилирование опухоль-супрессорных генов <i>APC</i> , <i>RARβ2</i> и <i>RASSF1A</i> при доброкачественных заболеваниях молочной железы	103
<i>Подведем итог</i>	109
Глава 6. Когда в ткани молочной железы возникают первые эпигенетические нарушения? Аномальная генетика и эпигенетика морфологически нормальной маммарной ткани при повышенном и нормальном риске рака молочной железы	110
<i>Подведем итог</i>	121
Глава 7. Концепция поля канцеризации	122
Глава 8. Как препарат индолкарбинол (Индинол Форто®) восстанавливает эпигенетические нарушения в маммарном канцерогенезе?	124
<i>Подведем итог</i>	133
Список литературы	134
ЧАСТЬ III. ПОВЫШЕННАЯ МАММОГРАФИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ	135
Глава 1. Что такое маммографическая плотность и как она связана с развитием рака молочной железы: данные эпидемиологических исследований	137
1.1. Методы оценки маммоплотности	140
Глава 2. Аномальная гистология и протуморогенный внутриклеточный сигналинг как молекулярно-клеточная основа фенотипа повышенной маммоплотности.	143
2.1. Эпителий молочной железы при повышенной маммоплотности	143
2.2. Строма молочной железы при повышенной маммоплотности	144
2.2.1. Стромальные фибробласты — главный источник туморогенной активности при повышенной маммоплотности	148

2.2.2. Внеклеточный матрикс — второй источник туморогенной активности при повышенной маммоплотности	151
2.2.2.1. Протуморогенные свойства избыточного коллагена при раке молочной железы и при повышенной маммоплотности	151
2.2.2.1.1. Сигнальные механизмы и молекулярные мишени, опосредующие протуморогенную активность коллагена при повышенной маммоплотности	156
2.2.2.2. Протуморогенные свойства протеогликанов внеклеточного матрикса при раке молочной железы и при повышенной маммоплотности	164
2.3. Иммунные клетки и иммунновоспалительный ответ при раке молочной железы, доброкачественных заболеваниях молочной железы и при повышенной маммоплотности	167
2.4. Адипоциты молочной железы и повышенная маммоплотность	173
<i>Подведем итог</i>	174
Глава 3. Молекулярные маркеры повышенной маммоплотности в эпителии и строме молочной железы: данные иммуногистохимических, иммуноферментных и молекулярно-генетических исследований	175
<i>Подведем итог</i>	190
Глава 4. Повышенная маммоплотность и стромальный фиброз	191
4.1. Фиброзные миофибробласты — основные эффекторы фиброза при раке молочной железы и при повышенной маммоплотности	192
4.2. Повышенная маммоплотность и эпителиально- мезенхимальный переход	194
4.3. Эпигенетика фиброза	197
Глава 5. Повышенная маммографическая плотность и доброкачественные заболевания молочной железы	202
<i>Подведем итог</i>	204
Глава 6. Влияет ли на маммоплотность гормональный фактор? Гормональная терапия и маммоплотность	205

Глава 7. Маммоплотность = наследственность + влияние факторов внешней среды. В чем подвох?	209
7.1. Однонуклеотидные полиморфизмы — генетические маркеры в исследованиях по генотипированию	210
7.2. Два подхода к выявлению генов, ассоциированных с наследственной предрасположенностью к многофакторным заболеваниям: подход «ген-кандидат» и полногеномный скрининг	213
7.3. Гены маммографической плотности	217
7.4. «Потерянная наследуемая маммоплотность»: где ее искать?	220
7.5. Генетика и эпигенетика как отражение влияния наследственности и внешней среды на фенотип многофакторных признаков и заболеваний. Новая наука — эпигенетическая эпидемиология. Исследования по полноэпигеномному скринингу: настоящее и будущее	222
7.6. Влияние средовых факторов на маммографическую плотность. Соотношение генетики (наследственности) и эпигенетики (влияния факторов внешней среды) в фенотипе маммоплотности	226
7.7. Некодирующие РНК и эпигенетическая регуляция. Белок-некодирующая часть генома, кодирующая микроРНК и длинные некодирующие РНК как вероятный источник наследуемой маммоплотности	230
7.7.1. МикроРНК	232
7.7.2. Длинные некодирующие РНК	236
<i>Подведем итог</i>	240
 Глава 8. Как препарат индолкарбинол (Индинол Форто®) влияет на повышенную маммографическую плотность?	241
<i>Подведем итог</i>	260
Список литературы	260
 ЧАСТЬ IV. ОПУХОЛЕВЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ — ИСТОЧНИК КАНЦЕРОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ.	261
 Глава 1. Концепция опухолевых стволовых клеток как новая парадигма канцерогенеза.	263
1.1. Что является источником опухолевых стволовых клеток?	265
1.2. Сколько опухолевых стволовых клеток содержится в злокачественной опухоли?	267

1.3. Молекулярно-генетический портрет опухолевых стволовых клеток	268
1.4. Клональное многообразие и фенотипическая пластичность опухолевых стволовых клеток. Влияние эпигенетики на свойства и активность опухолевых стволовых клеток	269
1.5. Метаболическая пластичность опухолевых стволовых клеток как проявление их фенотипической изменчивости	272
1.6. Опухолевые стволовые клетки и теория поля канцеризации. Новая системная парадигма канцерогенеза.	275
1.7. Ниша опухолевых стволовых клеток.	277
1.8. Устойчивость опухолевых стволовых клеток к действию иммунной системы	279
1.9. Опухолевые стволовые клетки и эпителиально-мезенхимальный переход.	280
1.10. Химио-/радиорезистентность и метастатическая активность — ключевые свойства опухолевых стволовых клеток, обуславливающие рецидивирование и метастазирование злокачественных опухолей	281
1.11. Анти-ОСК-терапия: настоящее и будущее.	284
1.12. Опухолевые стволовые клетки и опухолевая дормантность. . .	288
<i>Подведем итог</i>	292
Глава 2. Опухолевые стволовые клетки молочной железы	294
2.1. Маммарные опухолевые стволовые клетки и рак молочной железы в молодом возрасте.	295
2.2. Молекулярно-генетический портрет опухолевых стволовых клеток молочной железы	296
2.3. Каково содержание опухолевых стволовых клеток в опухолевой ткани молочной железы и как оно соотносится с гистологическим типом рака молочной железы?	297
2.4. Прогностическая значимость опухолевых стволовых клеток молочной железы	298
2.5. Эпигенетика опухолевых стволовых клеток молочной железы	299
2.6. Фенотипическая пластичность опухолевых стволовых клеток молочной железы	300
2.7. Опухолевые стволовые клетки молочной железы и резистентность к противоопухолевой терапии	303
2.8. Уклонение опухолевых стволовых клеток молочной железы от иммунологического надзора	304

2.9. Опухолевые стволовые клетки молочной железы и гормональный сигналинг. Современный подход к лечению рака молочной железы	305
2.10. Роль опухоль-супрессорного гена <i>BRCA1</i> в созревании и дифференцировке стволовых клеток молочной железы. Дисфункция <i>BRCA1</i> как причина образования опухолевых стволовых клеток и развития рака молочной железы	307
2.11. Фенотип опухолевых стволовых клеток начинает формироваться при доброкачественных заболеваниях молочной железы	311
2.11.1. Фиброаденома молочной железы: происхождение, особенности течения и выбор тактики лечения	318
<i>Подведем итог</i>	320
Глава 3. Как препарат индолкарбинол (Индинол Форто®) действует на опухолевые стволовые клетки молочной железы?	321
<i>Подведем итог</i>	325
Глава 4. Индолкарбинол (Индинол Форто®) — препарат поддерживающей терапии в комплексном лечении распространенного рака яичников	326
Список литературы	328
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	329
Список литературы	332



ЧАСТЬ I

ГОРМОНАЛЬНЫЙ ФАКТОР

Молочная железа — это типичный гормон-зависимый орган, то есть составляющие ее клетки и ткани имеют все необходимые компоненты для восприятия гормонально обусловленных регуляторных сигналов и реализации гормон-респонсивных биологических процессов. МЖ реагирует на все изменения в сложной системе гипоталамус—гипофиз—яичники. Наиболее существенное прямое влияние на МЖ оказывают женские половые гормоны — эстрогены и прогестерон. При этом для половых гормонов молочная железа является не только органом-мишенью, но и местом их локального биосинтеза и метаболизма.

Приоритетность гормонального фактора в этиопатогенезе ДЗМЖ отражена в определении самого распространенного из них — *мастопатии*, сформулированном Всемирной организацией здравоохранения в 1984 г. Согласно этому определению, «фиброзно-кистозная болезнь — это дисгормональный гиперпластический процесс, для которого характерны аномальные внутритканевые изменения в молочной железе». Считается, что патофизиология ФКБ связана с нарушением баланса женских половых гормонов, сопровождающимся избыточной эстрогенной стимуляцией и относительным дефицитом прогестерона.

В тканях женской репродуктивной системы ежемесячно происходят колебания митотической клеточной активности, регулируемые ритмическими изменениями уровня половых гормонов — эстрогенов и прогестагенов. Главными индукторами гормон-зависимых пролиферативных процессов являются эстрогены. В первой фазе менструального цикла секретируемый яичниками эстроген индуцирует пролиферацию клеток эндометрия, которые затем в отсутствие наступления беременности подвергаются апоптотической гибели во время менструации. Аналогично каждый месячный цикл эстроген стимулирует пролиферацию внутреннего слоя клеток протокового эпителия МЖ, которые впоследствии также подвергаются апоптозу. Всего в течение приблизительно 40-летнего репродуктивного периода в организме женщины осуществляется несколько сотен таких циклов.

Попав в клетку, эстроген (Е) взаимодействует с эстрогеновым рецептором (ER), находящимся в цитоплазме в неактивном состоянии. При связывании Е с ER происходит изменение конформации рецептора и его димеризация. После этого активированный гормон-рецепторный комплекс проникает в ядро, где разворачивается последовательность молекулярных событий, приводящих к активации генной транскрипции. Эти события могут протекать по двум сценариям (см. рис. 5 на цветной

вклейке) [1]. При использовании первого — *прямого геномного механизма* — ER как фактор транскрипции взаимодействует с классическим эстроген-респонсивным элементом (специфической последовательностью ДНК в промоторном участке эстроген-респонсивных генов) и в комплексе с белками-коактиваторами индуцирует генную экспрессию (см. рис. 6, а на цветной вклейке). В соответствии со вторым — *непрямым геномным механизмом* — с помощью ER активируется транскрипция генов, не содержащих фрагменты эстроген-респонсивного элемента. В этом случае рецепторы эстрогенов действуют опосредованно, с привлечением вспомогательных факторов транскрипции (AP-1, SP1, NF- Υ и др.), активируемых собственными индукторами (см. рис. 6, б на цветной вклейке). Известно, что примерно 35% генов, на которые воздействует эстроген, не содержат последовательности, подобные эстроген-респонсивному элементу.

Существует также менее изученный третий — *быстрый негеномный механизм* эстрогенного сигналинга, когда активированный E-ER-комплекс не достигает клеточного ядра, не взаимодействует с геномной ДНК и, соответственно, не влияет на транскрипцию. В отличие от классической медленной сигнальной трансдукции, в инициации быстрого негеномного механизма задействованы не ядерные (ER α и ER β), а специфические эстрогеновые рецепторы, связанные с G-белком (мембранные ER), имеющие более низкое сродство к эстрадиолу. Показано, что мембранные ER гиперэкспрессируются в раковых клетках, в частности при РМЖ.

При негеномной передаче эстрогенного сигнала в результате взаимодействия гормон-рецепторного комплекса с сигнальными молекулами, локализованными в околочелюстном пространстве, активируются внутриклеточные системы вторичных мессенджеров: циклического аденозинмонофосфата, циклического гуанозинмонофосфата, инозит-1,4,5-трифосфата и ионизированного кальция (Ca²⁺). При этом наблюдается активация большого числа сигнальных каскадов и опосредующих их ферментов (протеинкиназы А, протеинкиназы С, аденилатциклазы, MAP-киназ, PI3K, Акт-киназы, металлопротеиназ), а также кальциевого потока, направленного внутрь клетки [2, 3] (см. рис. 6, в на цветной вклейке). Согласно последним данным, в норме мембранные ER играют важную роль в регуляции поведенческих и когнитивных функций центральной нервной системы у млекопитающих [3].

Важно понимать, что большая часть генов, регулируемых эстрогенами, прямо или опосредованно контролирует клеточную пролиферацию, диф-

ференцировку и выживаемость. А значит, гиперэкспрессия этих генов неизбежно приводит к усилению клеточного роста и деления. Это гены, кодирующие рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) и его рецептор (IGF-1R), трансформирующий фактор роста β (TGF β), онкобелок MYC, антиапоптотический белок Bcl-2, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), циклин D1 и множество других функционально важных белков.

Глава 1

ДИСБАЛАНС 2-ГИДРОКСИЭСТРОНА И 16 α -ГИДРОКСИЭСТРОНА — УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ЭСТРОГЕН-ЗАВИСИМЫХ ОПУХОЛЕЙ

Главным и наиболее активным эстрогеном считается эстрадиол. Однако, согласно современным представлениям, основным фактором, стимулирующим клетки гормон-чувствительных органов и тканей к патологической эстроген-зависимой пролиферации, является не столько сам абсолютный или относительный избыток эстрадиола, сколько нарушение баланса его метаболитов — эстрогенов, имеющих разную способность к активации клеточной пролиферации.

Основной пул эндогенных эстрогенов утилизируется посредством монооксигеназной системы цитохрома P450. Микросомальные ферменты цитохрома P450 экспрессируются главным образом в печени, но представлены также в других органах и тканях, в частности в эпителии и строме МЖ. Эта система катализирует образование гидроксипроизводных эстрадиола, что облегчает их растворимость и последующее выведение из организма через почки и желчевыводящие пути. Основными гидроксиметаболитами эстрадиола являются 2-гидроксиэстрон (2-OHE1) и 16 α -гидроксиэстрон (16 α -OHE1) [4] (см. рис. 7 на цветной вклейке). Цитохром CYP1A1, катализирующий 2-гидроксилирование эстрогена, — это индуцибельный изоэнзим, который активируется в ответ на некоторые пищевые ингредиенты и сигаретный дым. В отличие от CYP1A1, активность изофермента, катализирующего 16 α -гидроксилирование эстрогена, не повышается при добавлении диетических компонентов, но стимулируется в ответ на ксенобиотические канцерогены и пестициды.

Принципиально важно, что 2-OHE1 и 16 α -OHE1 имеют противоположные биологические свойства. По сравнению с другими эстрогенами и их метаболитами, 2-гидроксипроизводные обладают относительно низким сродством к эстрогеновым рецепторам [5] и быстро выводятся из кровотока [6], в результате чего понижается количество биодоступных эстрогенов и ослабляется суммарный эстроген-зависимый внутриклеточный сигнал. Поэтому метаболит 2-OHE1 в литературе получил название «хорошего эстрогена». Он практически не влияет на пролиферативную

клеточную активность, в большинстве случаев действуя как слабый агонист эстрадиола (низкоактивный эстроген), а в некоторых опытных моделях даже как антиэстроген [7, 8] (см. рис. 8, а на цветной вклейке). Повышение уровня 2-ОНЕ1 способствует усилению апоптотической гибели и торможению пролиферации опухолевых клеток [9, 10]. В масштабных клинических исследованиях усиление 2-гидроксилирования эстрогенов ассоциировалось с пониженным риском развития РМЖ [11, 12, 13].

Есть сведения о других положительных свойствах 2-ОНЕ1, не относящихся к его геномной активности. Установлено, что низкие (0,5–1,0 мкМ) концентрации 2-ОНЕ1 в несколько раз более эффективно, чем эстрадиол и витамин Е, подавляют окисление липопротеинов низкой плотности до токсичных атерогенных продуктов [14]. Указывается также на участие 2-ОНЕ1 в регуляции секреции гонадотропных гормонов гипофиза [15].

В отличие от «хорошего эстрогена» 2-ОНЕ1, его антипод — «плохой эстроген» 16 α -ОНЕ1 — является мощным агонистом эстрадиола. При повышенном уровне 16 α -ОНЕ1 патологические пролиферативные и опухолевые процессы в гормон-зависимых органах и тканях репродуктивной системы многократно усиливаются [16]. Это происходит потому, что 16 α -ОНЕ1, обладая особой химической структурой (уникальной взаимной ориентацией 16 α -ОН-группы и кетогруппы), образует прочные ковалентные связи с эстрогеновым рецептором [17], в результате чего продолжительность эстроген-зависимого пролиферативного сигнала, генерируемого комплексом гормон–рецептор, возрастает до нескольких часов и дней [18, 19] (см. рис. 8, б на цветной вклейке). Показано, что столь продолжительный гормональный сигнал обусловлен неспособностью стабильного комплекса 16 α -ОНЕ1 с ER нормально рециклировать в цитоплазме [17].

Помимо аномальной активации клеточной пролиферации, 16 α -ОНЕ1 может взаимодействовать с ДНК и ядерными белками-гистонами, вызывая различного рода генотоксические повреждения наследственного материала [20]. Поэтому повышенное содержание 16 α -ОНЕ1 — эстрогенного метаболита с агрессивными протуморогенными свойствами — в настоящее время рассматривается как фактор риска развития РМЖ и других репродуктивных раков [4].

Концепция, предполагающая ведущую роль дисбаланса 2- и 16 α -гидроксипроизводных эстрогена в нарушении гормонального равновесия в организме и развитии гормон-зависимых злокачественных опухолей, начала формироваться в 80-х гг. XX в. Тогда впервые была установлена значимая 50%-ная активация 16 α -гидроксилирования эстрогена у женщин