

Резистентність пухлин до медикаментозних засобів: від механізмів формування до шляхів подолання



В.Ф. Чехун

Розшифровка генома людини стала яскравою подією для розвитку науки в перехідний період кінця XX – початку XXI століття. Вчені отримали «літерний код» до таємної бібліотеки, в якій сконцентровані знання про природу унікальної біологічної системи, в тому числі й про неоплазію.

Стрімкий розвиток фундаментальної науки дозволив розкрити глибинні механізми внутрішньоклітинної передачі сигналу, регуляції клітинного циклу, а також виявити ключові фактори, що визначають інтенсивність цих процесів. Постгеномна ера вивела людство на нові методичні горизонти, що дозволяє лавиноподібно накопичувати масиви знань про молекулярно-біологічні аспекти канцерогенезу, пухлинну прогресію та розкрити пласт проблем, що є головними причинами невдач терапії онкологічних хворих. Сьогодні вже добре відомо, що особливостями природи пухлинної хвороби зарезервовані численні механізми виживання злоякісних клітин, у тому числі в умовах впливу медикаментозної терапії (МТ).

Історичні віхи становлення медикаментозної терапії

Історія хіміотерапії злоякісних новоутворень сягає глибокої давнини. Ще Гален та Авіценна пропонували препарати свинцю для лікування ракових виразок, а за часів Везалія та Фалопія була відома дія миш'яку на пухлинні клітини. У кінці XIX – на початку XX ст. активно досліджувалася дія неорганічних елементів на пухлини, зокрема селену, телуру, рубідію, магнію, золота, срібла й ін. Однак, як не дивно, до цього переліку не входили солі платини, які через півстоліття стали основою сучасної МТ. Численні спроби активніше застосовувати МТ належать до періоду між світовими війнами, коли були започатковані ґрунтовні дослідження протипухлинної дії азотистого іприту та його похідних (ембіхіну, сарколізину, циклофосфану та ін.). У 1946-1960 рр. починає стрімко розвиватися третій (після хірургічного та променевого) метод сучасної терапії хворих на злоякісні новоутворення, який значно розширив можливості лікаря в подоланні складного патологічного процесу та дозволив розробити концепцію мінімізації залишкової хвороби. У світі щорічно апробуються близько 200 різних цитостатичних засобів. Сьогодні МТ є основним, а в разі деяких форм і стадій розповсюдження процесу єдиним методом лікування онкологічних хворих.

Отже, сучасна історія МТ хворих онкологічного профілю відносно коротка, але драматична. «Магічна куля», про яку мріяв ще П. Ерліх, швидко змінює свою траєкторію. Шлях великих сподівань набуває ефекту бумеранга. Головною причиною невдач МТ онкологічних хворих є розвиток резистентності до медикаментозних засобів (РМЗ). Таке біологічне явище є ахіллесовою п'ятою сучасної терапії онкологічних пацієнтів. Підтверджує таку позицію різниця лише в одне десятиріччя між початком застосування МТ та появою в 1970-х рр. перших публікацій щодо резистентності пухлин. На початку ери інтенсивної МТ природну резистентність до лікарських засобів реєстрували у 20% хворих. А вже у 1980-х рр.,

за статистичними даними Американського протиракового товариства, у 50% уперше зареєстрованих хворих виявлено природну резистентність. У 49% пацієнтів резистентність розвинулася в процесі лікування. Усе це зумовило формування нової концепції лікування онкологічних хворих. Більш пізні дослідження в країнах Європейського Союзу підтверджують цю песимістичну статистику. Підтримувати певний позитивний результат МТ вдається лише за рахунок появи нових цитостатиків та їх комбінацій. Однак темпи розвитку РМЗ перевищують швидкість появи нових цитостатиків, при цьому для клітин з фенотипом РМЗ властива перехресна резистентність, тобто дія на пухлину цитостатиків одного класу обумовлює розвиток стійкості клітин до цілої низки препаратів інших класів.

Клітини злоякісних пухлин мають значно більшу, ніж нормальні тканини, гено- і фенотипічну мінливість, що дозволяє їм уникати впливу медикаментозних засобів. Крім того, кількість численних мутацій під впливом МТ прискорює процес розвитку фенотипу резистентних клітин, не здатних реагувати на дію цитостатиків.

Сучасна термінологія, форми та методи визначення РМЗ

Резистентність до медикаментозних засобів – це стійкість популяції пухлинних клітин, що розвивається під впливом медикаментозних засобів на тлі гетерогенності клітинного складу пухлин і високого рівня генетичних та епігенетичних порушень, що призводять до зміни в структурі сигнальних каскадів злоякісних клітин та їх молекулярному профілі, що забезпечується особливостями процесів в системах мікро- та макрооточення пухлинного вогнища. В біологічному значенні терміни «резистентність» та «чутливість» близькі за змістом, оскільки визначають кількісні, але не якісні зміни в складі регуляторних молекул. В експериментальній і клінічній онкології виділяють природну та набуту форми РМЗ. Звичайно, РМЗ може виникати і не як наслідок впливу медикаментозних засобів на клітину. Вона часто пов'язана з особливостями кровопостачання глибинного пласту клітин пухлинного вогнища, рівнем диференціювання трансформованої клітини, її локалізації в певних анатомічних зонах, факторами мікрооточення, концентрацією індукторів апоптозу та порогом чутливості до них. Такі вихідні позиції визначають феномен природної РМЗ. Зокрема, гематоенцефалічний бар'єр значно знижує чутливість до цитостатиків пухлин мозку, а хромосомна транслокація t(9;22) призводить до появи злитого білка BCR/ABL, який ініціює появу хронічного мієлолейкозу та відміну апоптозу, а відповідно, впливає на ефективність терапії. Якщо в схемі першої лінії МТ препарат, призначений у максимально

переносимій дозі (МПД), не здатний стабілізувати пухлинний ріст, це свідчить про природну резистентність пухлини, що є наслідком селекції популяції клітин з підвищеним порогом чутливості до апоптотичних стимулів. У випадку, коли препарат у терапевтичній дозі виявляє виражену ефективність стосовно певного типу пухлин, а в процесі призначених курсів МТ її втрачає, йдеться про набуту резистентність до лікарських засобів.

Сучасні можливості дослідження проблеми РМЗ з'явилися після стрімкого розвитку молекулярної онкології та відокремлення нового наукового напрямку – протеоміки. Термін «протеом пухлинної клітини» стосується серії білків, що експресуються в пухлинній клітині. Сьогодні протеом розглядають як «місток» між функцією генів і клінічним проявом патологічного процесу та його чутливістю до МТ.

Саме завдяки протеому можна чітко виписати молекулярний профіль – портрет чутливої та резистентної пухлинної клітини. Фенотип таких клітин визначається не стільки кількістю і якістю функціонуючих генів, скільки особливостями взаємодії кодованих ними диких та мutowаних білків.

Сучасні технології імуногістохімії, спектроскопії, білкових мікрочіпів створюють могутню платформу для ідентифікації біомаркерів, що включають не тільки параметри ступеня злоякісності клітини, а й критерії, які характеризують чутливість останньої до МТ. Адаже сучасні дослідники й клініцисти все частіше фокусують увагу на тому, що пухлини, однорідні за гістологічною будовою та стадією за класифікацією TNM, характеризуються непередбачуваністю перебігу хвороби та різною чутливістю до засобів МТ. Цей факт переконливо свідчить про необхідність перегляду класифікації пухлин на засадах генетичних і молекулярно-біологічних особливостей злоякісних клітин, що суттєво наблизить індивідуалізацію терапії онкологічних хворих і знизить темпи розвитку РМЗ. Це ще раз застерігає від необхідності інтенсифікації впровадження стандартних методів МТ.

Експериментальними та клінічними дослідженнями доведено, що резистентність може формуватись як до окремих цитостатиків, так і до групи протипухлинних препаратів. Множинна РМЗ – це стійкість популяції клітин пухлинного пласта до значної низки протипухлинних препаратів із різною хімічною

Таблиця 2. Транспортні білки РМЗ і система координат генів, що їх кодують (за А.О. Ставровською)

Білок	Молекулярна маса, кДа	Ген людини	Хромосомна локалізація
P-глікопротеїн (P-gp)	140-170	MDR1	7q21.1
MRP	190	MRR1	16p13.1
LRP	110	LRP	16p11.2
VMAT (везикулярний транспортер моноамінів)	62	VMAT	10q26.1
ARX	72	ARX	1p22

Таблиця 1. Основні механізми клітинного рівня РМЗ

Механізми активації РМЗ	Рівень структурної організації та функції змін клітини	Особливості реалізації біологічної дії препарату
Активация систем зворотного транспорту. Надмірна експресія білків (P-gp, MRP, LPR та ін.)	Цитоплазматична мембрана, апарат Гольджі	Зростання елімінації та зниження накопичення препарату
Зниження активності ПОЛ	Збільшення кількості ліпідних доменів цитоплазматичної мембрани	Зниження активності препарату
Активация ферментів цитохрому P450 та детоксикації глутатіонтрансферази	Цитозоль, мітросоми, ядерна мембрана, мітохондріальний матрикс	Зниження активації та інактивації препарату
Мутація генів топоізомераз та активация репарації ДНК	Ядерно-цитозольний комплекс	Зміна мішені та зниження активності топоізомераз I і II, підвищення процесів репарації ДНК
Мутація wt-гену P53, активация родини генів BCL-2	Ядро, зовнішня мембрана мітохондрій	Відміна апоптозу та блоку клітинного циклу

будовою та механізмом дії. Термін MDR (multidrug resistance), прийнятий в англійській літературі, характеризує серйозну перепону на шляху до успішного лікування онкологічних хворих. Феномен MDR особливо інтенсивно почали досліджувати ще 1970 року після виявлення та ідентифікації гена MDR1, який експресує трансмембранний P-глікопротеїн (P-gp) з молекулярною масою 170 кДа та виконує функцію клітинного насоса, в клітинах яєчка китайського хом'ячка. За даними доступної літератури, найбільш виражений рівень експресії цього білка визначається у випадку рака нирки, надниркових залоз, товстокишкового, підшлункової залози, печінки; множинної мієломи, ретинобластоми. Середній рівень експресії спостерігається в пухлинних клітинах раку молочної залози, стравоходу, шлунка, шийки матки, кишечника; гліом, лімфом. Низький рівень експресії визначається у разі меланом, менингоми, раку яєчника, передміхурової залози, сечового міхура, щитовидної залози та легень.

У наш час РМЗ розглядають як багатфакторний феномен на генетичному та епігенетичному рівнях, обумовлений взаємодією багатьох механізмів, спрямованих на структурно-функціональні зміни мембрани; зниження накопичення, інактивації препарату в клітині; порушення внутрішньоклітинного розподілу, метаболізму та механізмів детоксикації препарату; порушення взаємодії цитостатика з мішенню дії; дерегуляцію та порушення фаз клітинного циклу; посилення сигнальної трансдукції та репарації пошкоджень ДНК; підвищення толерантності ДНК до пошкоджуючих агентів; порушення механізмів апоптозу; зміну апоптотичної програми клітин, зміну процесів метилювання ДНК чи рівня регуляторних мікро-РНК та ін.

Аналіз і синтез клітинних механізмів РМЗ

Результати власних досліджень та аналіз даних доступної літератури дозволяє виділити низку взаємопов'язаних клітинних механізмів (табл. 1), у яких задіяні різні молекулярно-генетичні та структурно-функціональні процеси; їх логічно виділити в три основні групи: транспортні, метаболічні, апоптотичні.

Кожен із зазначених у таблиці 1 рівнів має свою систему координат і продовжує досліджуватись із урахуванням особливостей активності системи сигнальної трансдукції клітини, епігенетичних процесів, стану позаклітинного матриксу та мікрооточення пухлини. Так, крім класичного Р-gp 170, ідентифікована ціла родина АТФ-залежних транспортних білків, що активуються в процесі МТ та визначають РМЗ.

Транспортні білки в механізмі формування РМЗ

Підвищений рівень експресії Р-gp (табл. 2) найчастіше спостерігається в клітинах пухлини, що розвиваються з органів і тканин, які контактують із ксенобіотиками (шлунок, нирки, легені). Пояснення цього явища необхідно шукати в підвищенні захисних функцій трансформованої клітини, що приводить до формування первинної РМЗ. Донедавна вважалося, що Р-gp безпосередньо зв'язується із цитостатиками через спеціальні сайти в трансмембранному домені, що виконують функцію елеватора. Відповідно до сучасної моделі підвищений рівень експресії цього білка ініціює також зміни в транспорті низки іонів, які впливають на формування каскаду сигнальних шляхів, що визначає в подальшому дифузії цитостатика через цитоплазматичну мембрану та реалізацію його

біологічного ефекту. До зростання концентрації Р-gp приводить підвищення експресії або ампліфікація гена MDR1. Науковцями доведено, що родина MDR налічує два гена людини (MDR1 та MDR2) і три гена гризунів (mdr1, 2, 3) із яких лише MDR1 та mdr1 2 залучені до формування РМЗ. Транскрипційна активність гена MDR1 зростає у відповідь на дію різноманітних факторів, навіть тих, що не є субстратами Р-gp. На активність промотора MDR1 через систему сигнальних каскадів можуть суттєво впливати гени P53, RAS, RAF, RAR α і RAR β (гени рецепторів ретиноевої кислоти) c-fos, c-jun, а також протеїназа С, протеїназа А та ін. Велика кількість дублюючих складових, які впливають на регуляторну активність MDR1/Pgp, свідчить, що зазначена захисна система життєво важлива для функціонування клітини та її адаптації до існування в екстремальних умовах. У досліджах на мишах, «нокаутуваних» по гену MDR1, переконливо показано, що основною функцією його білка є захист організму від токсичного впливу.

Однак поруч з Р-gp у формуванні РМЗ бере участь комплекс мембранних транспортних білків з суперродиною ABC. Ця родина налічує понад сотню білків, що транспортують найрізноманітніші субстрати – від неорганічних іонів до полісахаридів і білків. Такі різноманітні транспортери об'єднує загальна трансмембранна та АТФ-зв'язувальна організація (рис. 1).

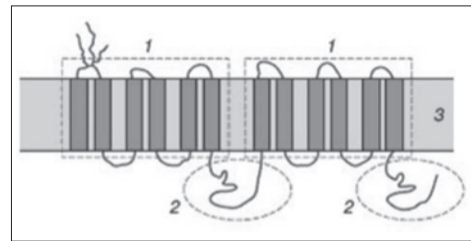


Рис. 1. Схематична будова Р-глікопротеїну (за Higgins, 1995):

1 – трансмембранні домен; 2 – внутрішньоклітинні АТФ-зв'язувальні домен; 3 – цитоплазматична мембрана

Відрізняються ці білки за сайтами зв'язування із субстратами, які локалізовані в трансмембранних доменах або безпосередньо під мембраною. До найбільш вивчених членів цієї родини, крім Р-gp, належить протеїн, який асоціюється з множиною РМЗ, – MRP з молекулярною масою 190 кДа. Його гіперекспресія обумовлює розвиток резистентності до таких препаратів, як доксорубіцин, вінкрістин, етопозид та ін. Дослідження останніх років показали, що зростання експресії білків MRP підвищує АТФ-залежний транспорт глутатіон-5-кон'югатів із цитостатиками, а також приводить до компартменталізації останніх та виведення їх шляхом екзоцитозу. Підвищений рівень експресії MRP є несприятливим прогнозом для пацієнтів із гострими та хронічними формами лейкозів, а також із деякими солідними пухлинами.

Важливим індикатором чутливості є рівень білка, асоційованого з РМЗ легень (LRP), з молекулярною масою 110 кДа. Важливо зазначити, що саме цей білок відіграє важливу роль у рухливості органел у клітині. Його експресія часто зростає в пухлинних клітинах, які спочатку були Р-gp-позитивними, а потім через різні причини її втрачають. Спостереження такого явища можна, з одного боку, пояснити компенсаторною експресією LRP, а з другого – селекцією Р-gp-негативних клітин. Підвищена експресія LRP може бути показником низької відповіді на МТ та несприятливого прогнозу у хворих на рак яєчника та гострий лімфобластний лейкоз.

Далі буде.

Онкологические заболевания в Украине: не теряя надежду на выздоровление!

По материалам научно-практической конференции

17 февраля в г. Киеве при поддержке ООО «Рош Украина» и ООО «Санофи-Авентис Украина» состоялась конференция, посвященная медико-социальным аспектам борьбы с онкологическими заболеваниями в Украине. Союз общественных организаций «Всеукраинская ассоциация защиты прав пациентов «Здоровье нации», Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, общественная организация «Здоровое человечество», Всеукраинская общественная организация «Ассоциация помощи пациентам и инвалидам с хроническими лимфопролиферативными заболеваниями» также объединили свои усилия против рака.

Конференция состоялась в Национальной медицинской академии последипломного образования им. П.Л. Шупика и проходила в формате пленарного заседания и обсуждения в рабочих группах. Ведущие отечественные специалисты в области онкологии, организации здравоохранения, представители общественных организаций, практикующие врачи обменивались опытом и знаниями по решению злободневных проблем: как снизить распространенность и заболеваемость основными формами рака в Украине, повысить уровень ранней диагностики злокачественных новообразований, усовершенствовать структуру организации онкологической помощи населению и улучшить ее качество, адекватно подойти к решению этического-правовых вопросов, касающихся взаимоотношений медицинских работников и пациентов и др.

В настоящее время серьезную тревогу отечественных и зарубежных специалистов вызывает неуклонный рост заболеваемости злокачественными новообразованиями. Согласно статистическим данным, ежегодное количество смертей от рака превышает половину от вновь выявленных случаев этой патологии, которая наряду с кардиоваскулярными заболеваниями занимает лидирующее положение в определении уровня здоровья популяции.

По данным Национального онкологического регистра, в Украине ежегодно регистрируют более 160 тыс. новых случаев онкологических заболеваний. Количество лиц, умерших вследствие рака, превышает 87 тыс., на учете в онкологических учреждениях находятся свыше 910 тыс. пациентов. Это означает, что в среднем на каждые 50 жителей Украины приходится 1 больной с онкопатологией.

Злокачественные новообразования определяют до 25,7% всех случаев инвалидизации. В пересчете на 10 тыс. работающих количество первично признанных инвалидами по поводу онкологической патологии достигает 10,0. Кроме этого, онкологические заболевания наносят непоправимый экономический ущерб государству, унося сотни тысяч жизней лиц трудоспособного возраста. Сложившаяся ситуация диктует необходимость внедрения эффективных мероприятий, направленных на снижение заболеваемости онкопатологией. Участники конференции единодушно сошлись во мнении, что внедрение эффективных мер по первичной и вторичной профилактике рака, улучшению качества диагностики, лечения и реабилитации пациентов с онкологическими заболеваниями позволит справиться с этой проблемой. Приоритетное значение в борьбе против рака должно отводиться профилактическим мероприятиям, направленным на информирование населения об основных факторах риска злокачественных новообразований: курении, злоупотреблении алкоголем, инсоляции, малоподвижном образе жизни, избыточном весе, инфекционных (вирус папилломы человека, гепатиты В, С) и профессиональных (канцерогенноопасные производства) заболеваниях, а также повышению уровня онкологической настороженности. Население должно владеть исчерпывающей информацией о возможности профилактики рака, современных методах успешного лечения этой патологии

в случае раннего обнаружения и своевременного обращения за медицинской помощью.

Безусловно, решающее значение должно отводиться своевременной диагностике злокачественных новообразований, поскольку раннее их выявление значительно повышает шансы пациентов на полное излечение. По данным мирового опыта, скрининговые программы по выявлению визуальных форм рака (рака шейки матки, рака молочной железы, меланомы и др.) позволяют значительно повысить качество диагностики и лечения пациентов.

При этом первичное звено медицинской помощи – врачи семейной медицины, терапевты и другие специалисты – играют огромную роль в выявлении предраковых состояний. Поэтому в рамках внедрения образовательных программ для специалистов немаловажное значение имеет повышение уровня их информированности и квалификации по вопросам клиники и диагностики онкопатологии.

Особый интерес участников конференции вызвали доклады, посвященные нормативно-правовым аспектам деятельности врача, вопросам оказания паллиативной и психологической помощи пациентам, координации деятельности медицинских учреждений, доступу к медицинской информации, внедрению инновационных технологий лечения рака.

Какие у врача есть права? Есть ли обязанности у больного? Надо ли пациенту сообщать о его заболевании? Ответы на эти и многие другие вопросы можно было получить в ходе оживленной дискуссии.

Среди перспективных направлений дальнейших исследований были отмечены следующие: развитие научных исследований по изучению факторов риска развития рака, внедрение новых методов ранней диагностики злокачественных новообразований, разработка органосохраняющих хирургических вмешательств, изучение социальных аспектов онкологии, развитие сотрудничества с международными организациями и прочие, что позволит значительно приблизиться к международным стандартам оказания помощи онкологическим больным.

Интересным продолжением конференции стало проведение дебатов на тему возможности снижения уровня смертности от онкологической патологии с учетом реалий сегодняшнего дня и целесообразности проведения диспансеризации в Украине. С этой задачей отлично справились модераторы – Богдан Бенюк и Виктор Галкин.

Главным итогом мероприятия стало принятие участниками конференции текста резолюции с перечнем организационных мероприятий по улучшению онкоэпидемиологической ситуации в Украине.

В заключение следует отметить, что конференция проходила под девизом: «Предупредить то, что может быть предупреждено, лечить то, что может быть вылечено!». И это не случайно, поскольку только совместными усилиями научных работников, практикующих докторов, общественных организаций и прежде всего самих пациентов можно победить рак.

Подготовила
Наталья Пятница-Горпинченко