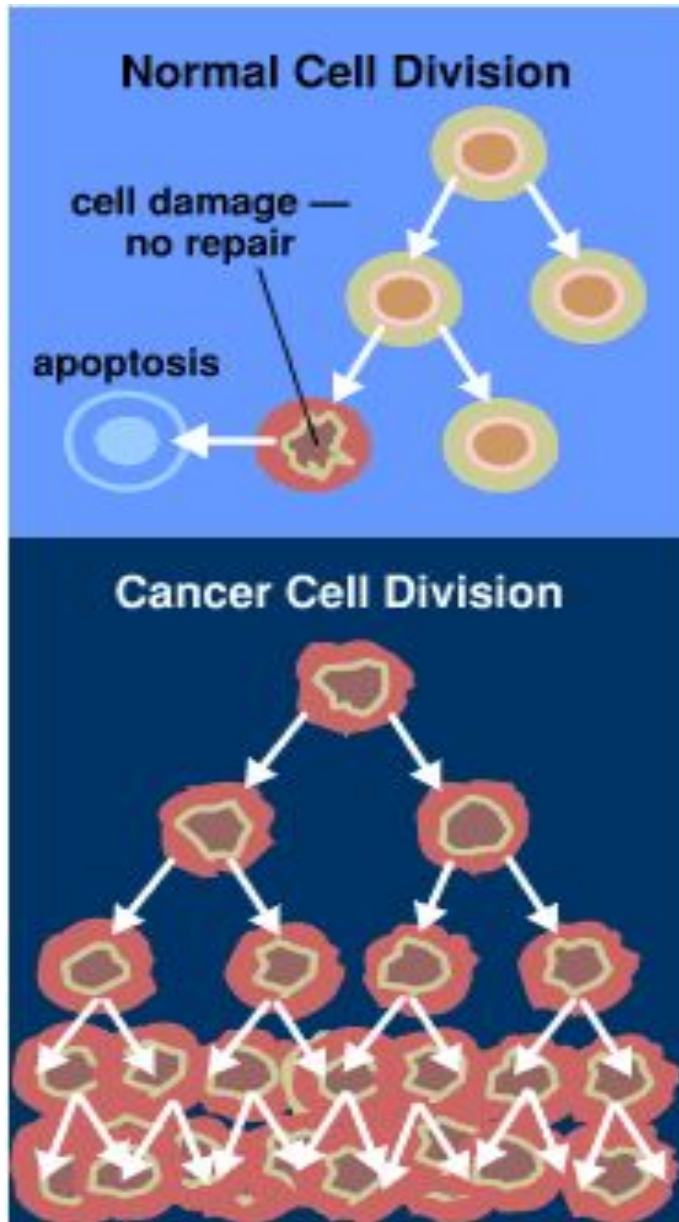


Биохимия онкогенеза

Лекция № 36

Дмн, проф. А.И. Грицук



Введение

Опухоли – группа **генных** болезней с неконтролируемой пролиферацией клеток

Подразделяют на

Доброкачественные имеют:

- *ограниченный рост*

Злокачественные имеют:

- *Инвазивный рост*
- *Метастазирование*
- *Неконтролируемую пролиферацию*

По происхождению:

1. *Карциномы (раки) экто- и эндодерма*
2. *Саркомы (мезодерма)*
3. *Гемобластозы (кроветворная и лимф)*

Этиология опухолей

В 80% возникновение опухолей связано с воздействием факторов внешней среды (*образ жизни, питание, вредные привычки, и наследств. прераспол*):

1. **Излучение** –УФО, R- и γ -лучи оказывают мутагенное и канцерогенное действие
2. **Химический канцерогенез** – огромное кол-во в-в обладают мутагенным и канцерогенным действие
3. **Вирусный канцерогенез** – ДНК и РНК содержащие вирусы
4. **Наследственная предрасположенность**

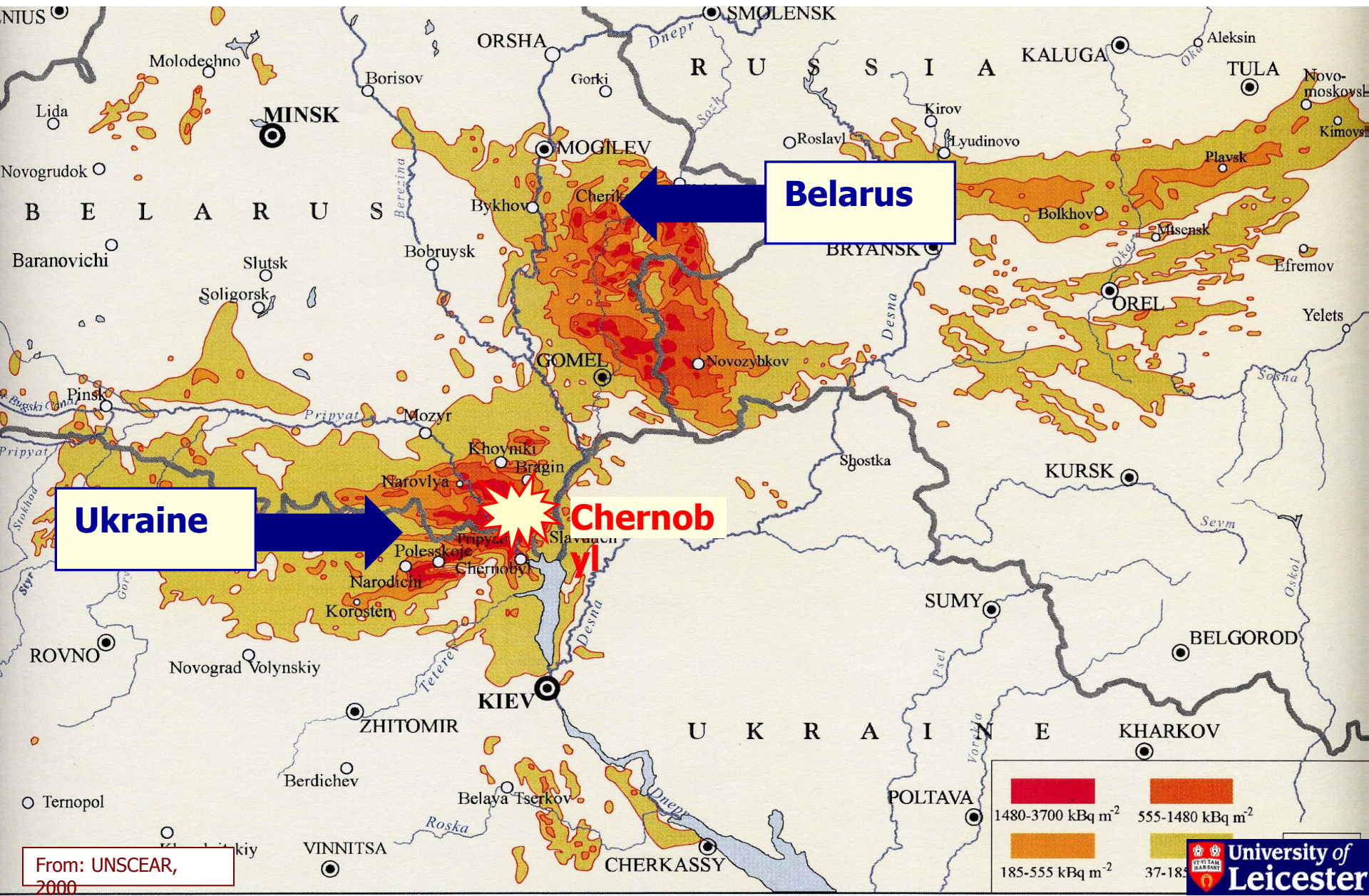
Радиационный канцерогенез

Интенсивное УФО, проживание на территориях, зараженных радионуклидами, увеличивает риск появления меланом и карцином кожи, лейкозов.

Механизм действия

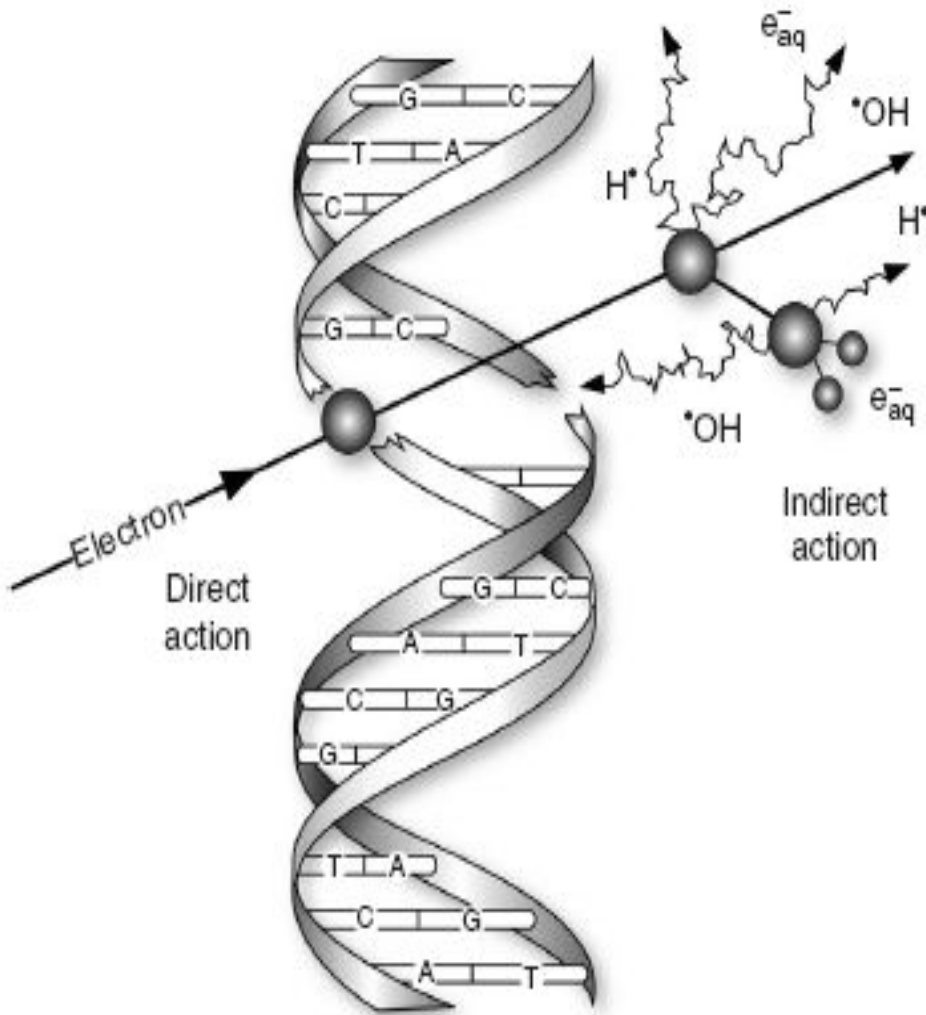
- удаление АО и образование *апуринизированных и апиримидинизированных* участков
- Одно- и двунитевые *разрывы* или сшивки
- УФО вызывает обр *тиминовых димеров*
- R- и γ -излучение индуцирует образование в тканях **АФК** (O_2^* , OH^* , H_2O_2 и др.)

Территории Украины, Беларуси и России загрязненные ^{137}Cs в результате аварии на ЧАЭС



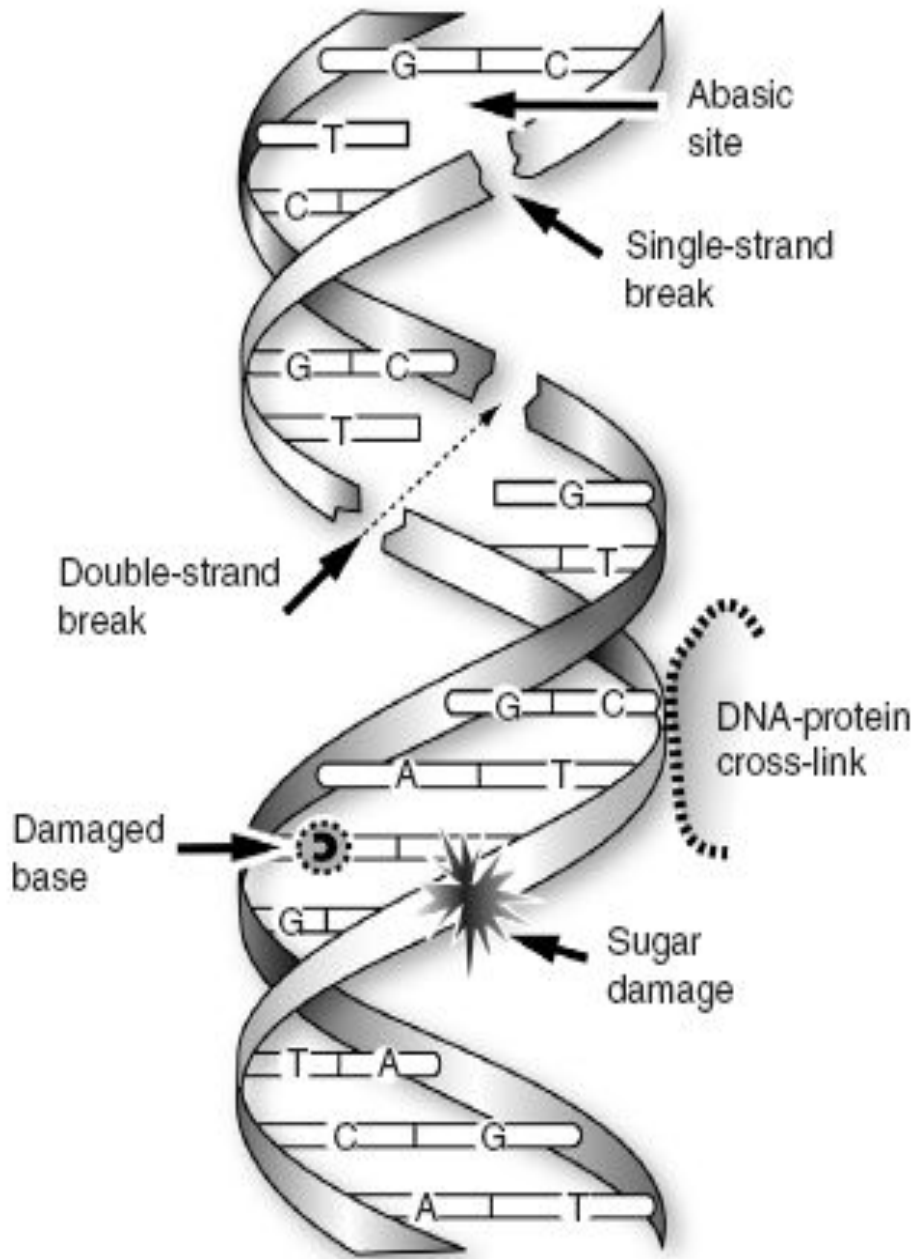
From: UNSCEAR, 2000

Действие радиации на ДНК



- Прямое действие – непосредственное влияние e^- на ДНК (образование радикалов)
- Непрямое действие – радиолиз воды, образование АФК

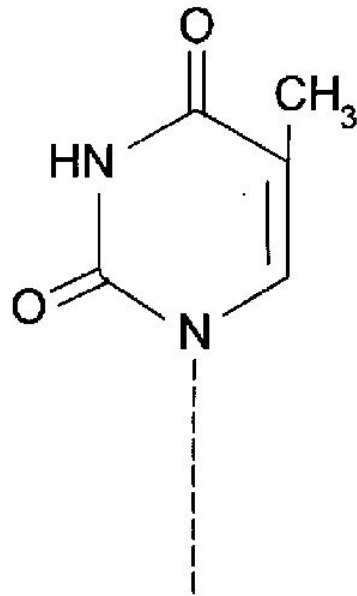
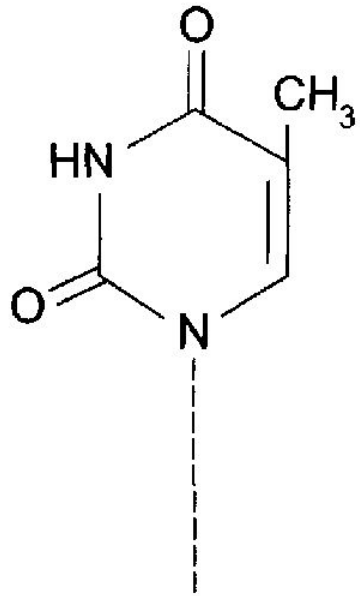
Радиационные повреждения ДНК



- Потеря оснований
- Единичные разрывы ДНК
- Двойные разрывы ДНК
- ДНК-белковые сшивки
- Повреждение оснований
- Повреждение дезоксирибозы

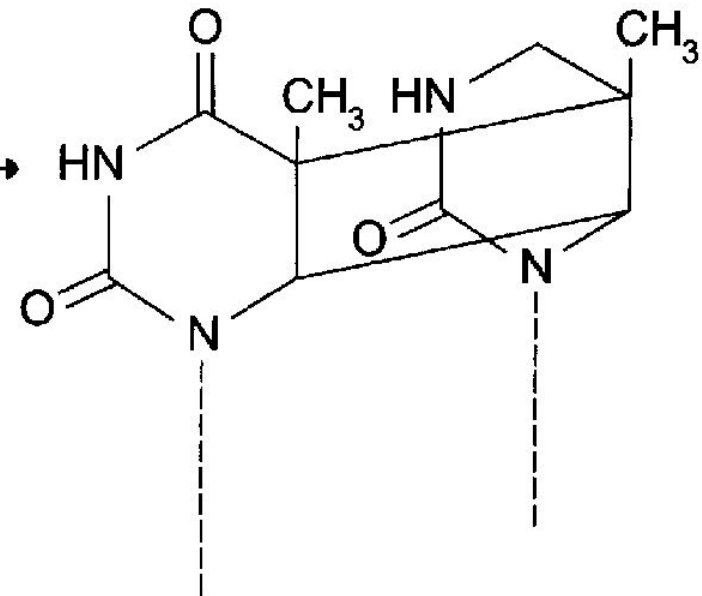
Образование ТИМИНОВЫХ димеров

Тимины



УФО

Тиминовый димер



Механизм образования АФК

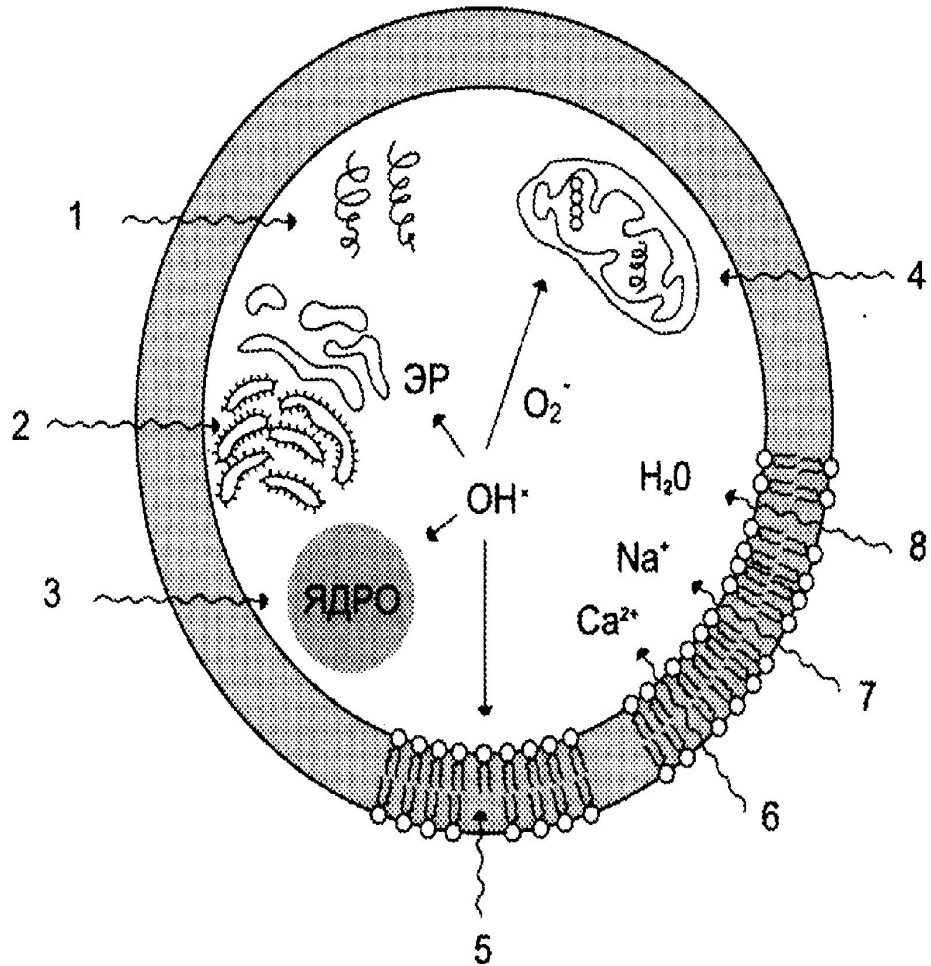


Источники e^- - ионизирующее излучение (радиолиз воды), Fe^{2+} , $\text{NAD(P)H} + \text{H}^+$, стимуляция МС окисления



- АФК атакуют любые молекулы иницируя цепные реакции, повреждая мембраны, белки, ДНК, вызывая т.о. повреждение и гибель клеток, мутации, канцерогенез и т.д

Повреждающее действие АФК на клетку



Повреждение:

1. белков
2. мембран ЭР
3. ядра и ДНК (мутации)
4. Мх (деэнергизация клетки) и увеличение образования АФК

Активация:

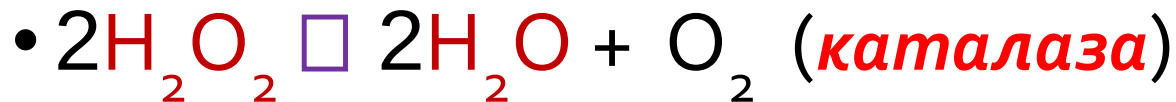
5. ПОЛ плазмалеммы, появ-ление пор проницаемых для ионов и воды

Нарушение:

- 6, 7, 8. ионных градиентов и осмолярности (набухание) клетки за счет увеличения проницаемости мембран для ионов и воды

Антиоксидантная защита (АОЗ)

- 1. Неферментативная** – АО вещества образующие менее активные радикалы и «гасят» цепные реакции (*вит А,Е,С, GSH, гис, адреналин, КС, мочевины, билирубин, природные полифенолы, красители, флавоноиды и др.*)
- 2. Ферментативная** представлена ферментами (*СОД, каталаза, глутатион-пероксидаза, глутатион-редуктаза и др.*)



Химический канцерогенез

- Большинство канцерогенов существует в форме *проканцерогенов*, которые в печени превращаются в активные формы, реагирующими с НК и белками (*летальный синтез*).

pause

- Ферменты детоксикации (*МС окисление*) обладают выраженным полиморфизмом, при их низкой активности проканцерогены выводятся из орг-ма не успев превратиться в канцерогены (различная чувс-ть людей к канцерогенам табачного дыма).

Основные химические канцерогены (ХК)

Все ХК (орг. и неорг.), обычно электрофилы, реагируют с нуклеофильными группами ДНК и белков

Группы веществ	Представители групп
ПАУ Аромат. Амины Нитрозамины Алкилир. Агенты Природные в-ва Неорганические	<i>Бензопирен, метилхолантрен</i> <i>N-метил-4-аминоазобензол</i> <i>Ди(метил)этилнитрозамин</i> <i>Диэтилстильбестрол, циклофосфамид</i> <i>Афлатоксин В, дактиномицин</i> <i>Cr, Be, Pb, Cd, асбест</i>

Химические канцерогены (ХК)

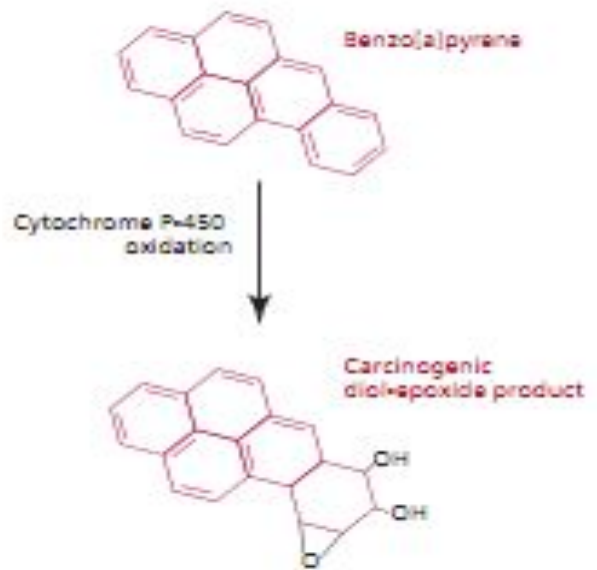
ПАУ- продукты неполного сгорания угля, нефти, табака, пиролиза масел, органических компонентов пищи и др.

- **Афлатоксины** ($B_1, B_2, G_1, G_2 \dots$)— микотоксины, вторичные метаболиты *Asp. Flavus* и др.
- После ферментативной активации *цит P450* и образования эпоксидов, реагируют с пуринами (особенно с G)

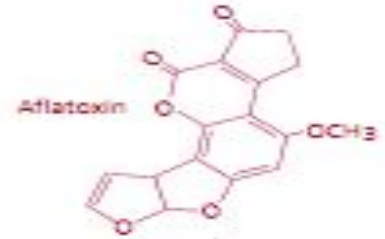
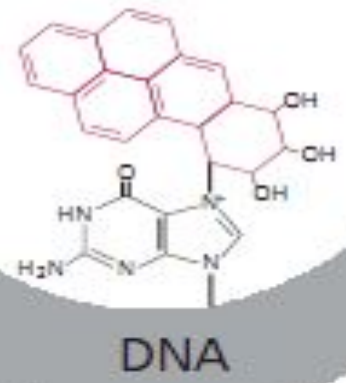
Химический канцерогенез

(бензопирен, афлатоксин)

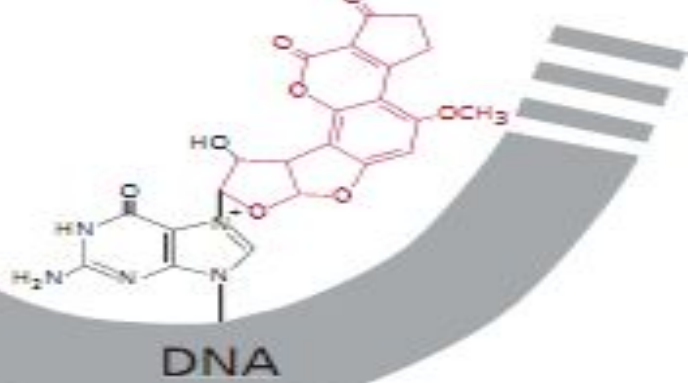
A)



Binding of diol-epoxide to a guanine base of DNA



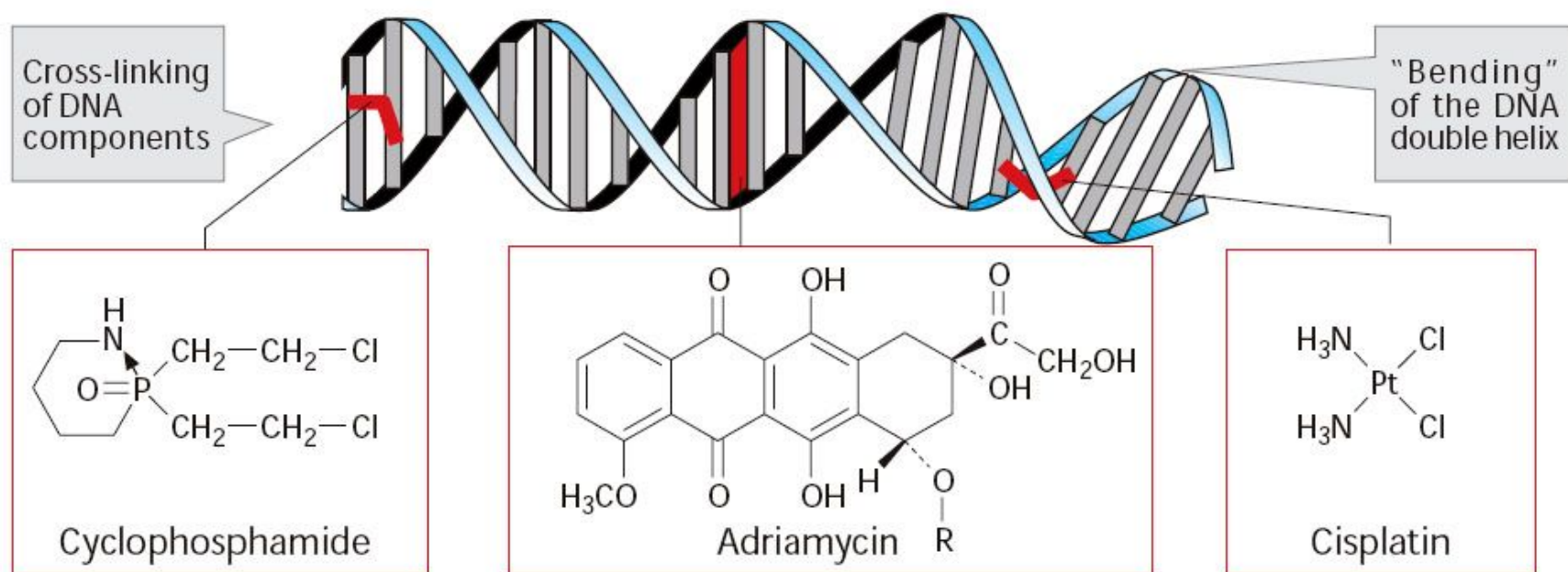
Binding of epoxide to a guanine base of DNA



Химические канцерогены (прод.)

- **Ароматические амины** - анилиновые красители и в-ва используемые в резиновой пром-сти
- **Нитрозамины** – образуются в организме при взаимодействии NO_2 и *вторичных алифатических аминов*, постоянных компонентов пищи и обр при запекании мяса и рыбы. NO_2 широко используются как консерванты пищи. Нитрозамины обр с ДНК N_7 -метил G ДНК и O_7 -метил G ДНК
- **Алкилирующие и ацилирующие агенты** повреждают структуру ДНК

Алкилирующие агенты



Вирусный канцерогенез

- **ДНК**-содержащие вирусы (*герпеса, аденовирус, ветряной оспы*) полностью или частично встраиваются в геном хозяина и экспрессируют свои гены
- **РНК**-содержащие вирусы содержат *ревертазу* и онкогены, ответственные за опух трансформацию (вирус саркомы Рауса – *src-онкоген, встраивание в геном клеток приводит к их трансформации*).

Наследственная предрасположенность

– **Нестабильность генома** приводит в дефектам системы репарации ДНК

- У детей предрасположенность к **Rb** (*ретино-бластоме*) наследуется как аутосомно-доминантный признак
- В последнее время изучаются фрагменты генома (**SNP** *single nucleotide polymorphism*) однонуклеотидные вариации
 - *приходящиеся ~ на каждые 1000 нуклеотидов*
 - *характеризующие индивид. особенности генома и*
 - *ответственные за наследственную предрасположенность к развитию опухолей (в российской популяции до 50% предрасположены к раку легкого)*

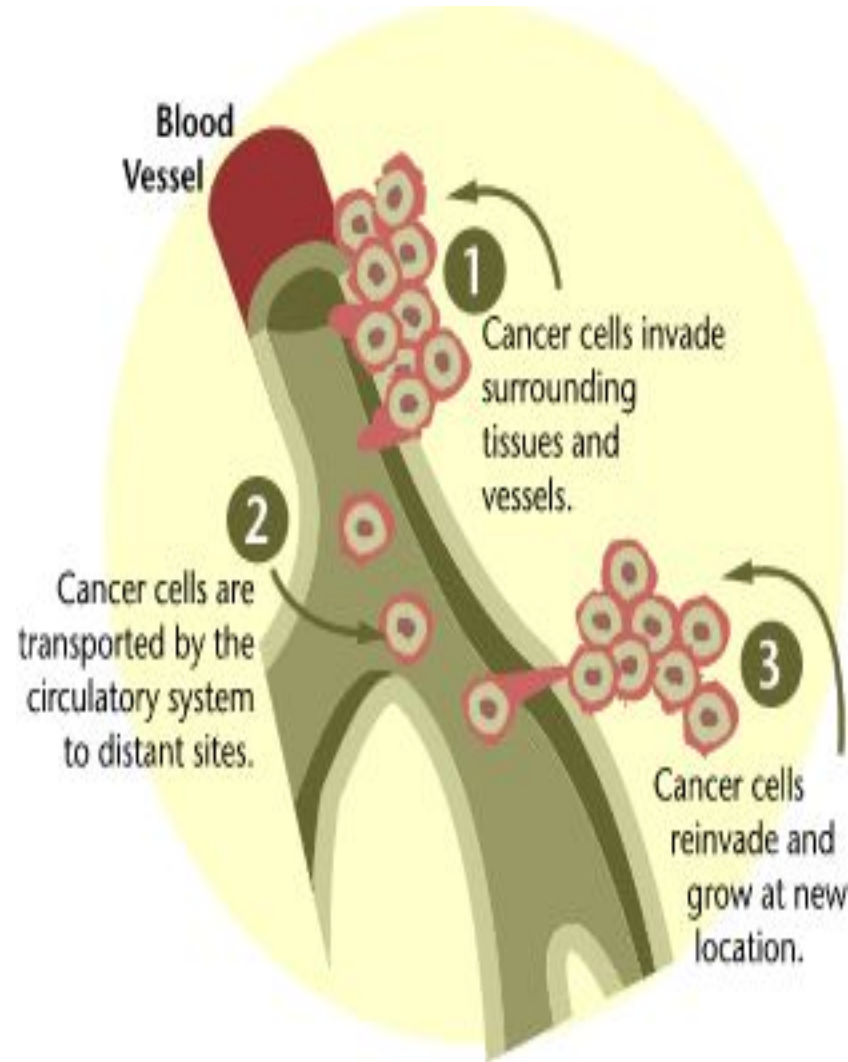
Нестабильность генома – эпигенетический феномен

- Нестабильность генома вызвана длительными изменениями экспрессии генов и переносится через много поколений выживших клеток (*memorized*) (*Morgan, 2003*).
- Его основные механизмы – метилирование ДНК и модификация гистонов (*Barton et al., 2005*).
- Облучение приводит к индукции наследуемых изменений метилирования ДНК, вызывая нестабильность генома (*Kaup et al., 2006*).
- Ряд генов, вовлеченных в канцерогенез, инактивируется путем метилирования (*APC, p16, p14, RB1, LKB, ER, RAR2β, VHL, DAP, MGMT, CDI* и др.);

Общая характеристика опухолевых клеток

Часто единственные признаки опухолевых клеток:

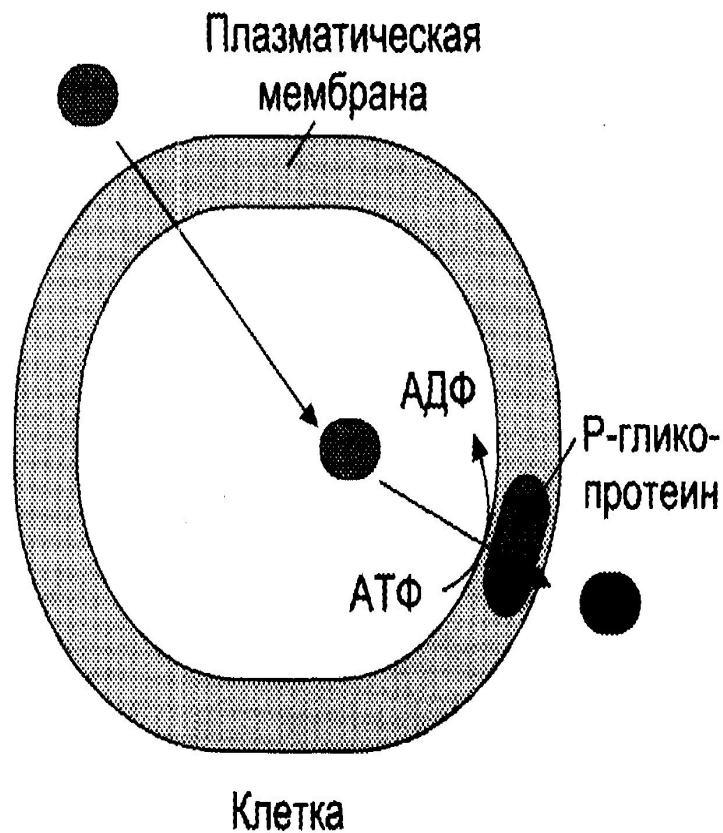
- Изменение формы клеток
- Дедифференцировка,
- нарушение контактного торможения и адгезии
- Полиплоидия, анеуплоидия
- Способность расти неопределенно долго (*«бессмертие» - иммортализация*)



Защитные механизмы опухолевых клеток

1. Высокий уровень экспрессии шаперона **БТШ 70** (*Hsp70*), который:
 - фолдирует новые белки
 - транспортирует их ч/з мембраны
 - встраивает в «нужное» место
 - «ремонтирует» поврежденные белки
 - защищает от факторов, индуцирующих апоптоз (α -ФНО, стауроспорин, тепловой стресс и др.)
 - препятствует противоопухолевой терапии

Защита опухолей от химиопрепаратов



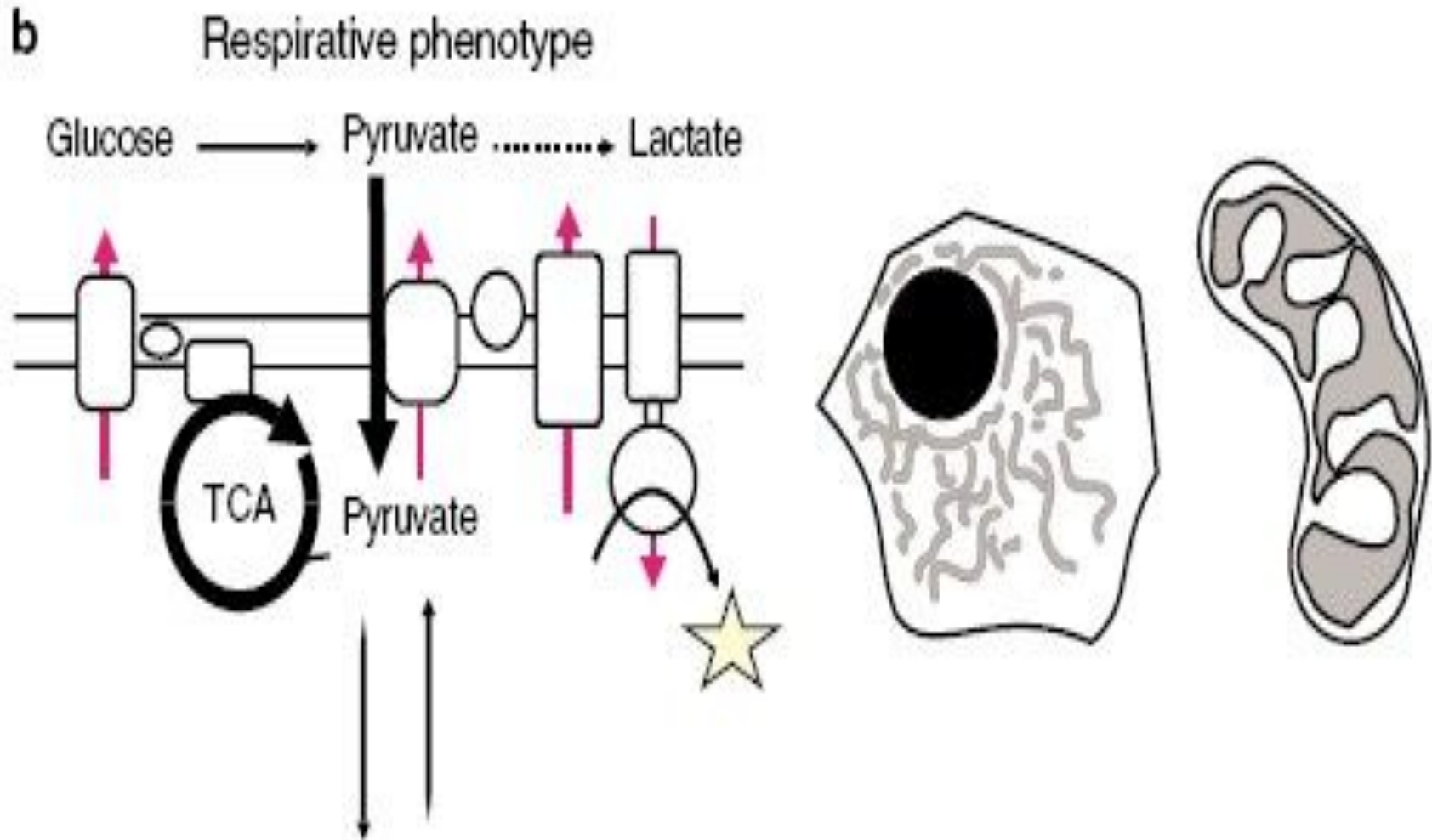
- **Р-гликопротеид** – транспорт. АТФ-аза, плазм. мембранах многих тканей (почек, ЖКТ)
Мм 170 kD
- Осн. функция – экскреция ионов Cl^- и гидрофобных ксенобиотиков
- При химиотерапии в опухолевых клетках резко возрастает индукция Р-гликопротеида, что снижает эффективность лечения

Рис. 12-16. Функционирование Р-гликопротеина. Заштрихованный овал — противоопухолевое лекарство (гидрофобное вещество).

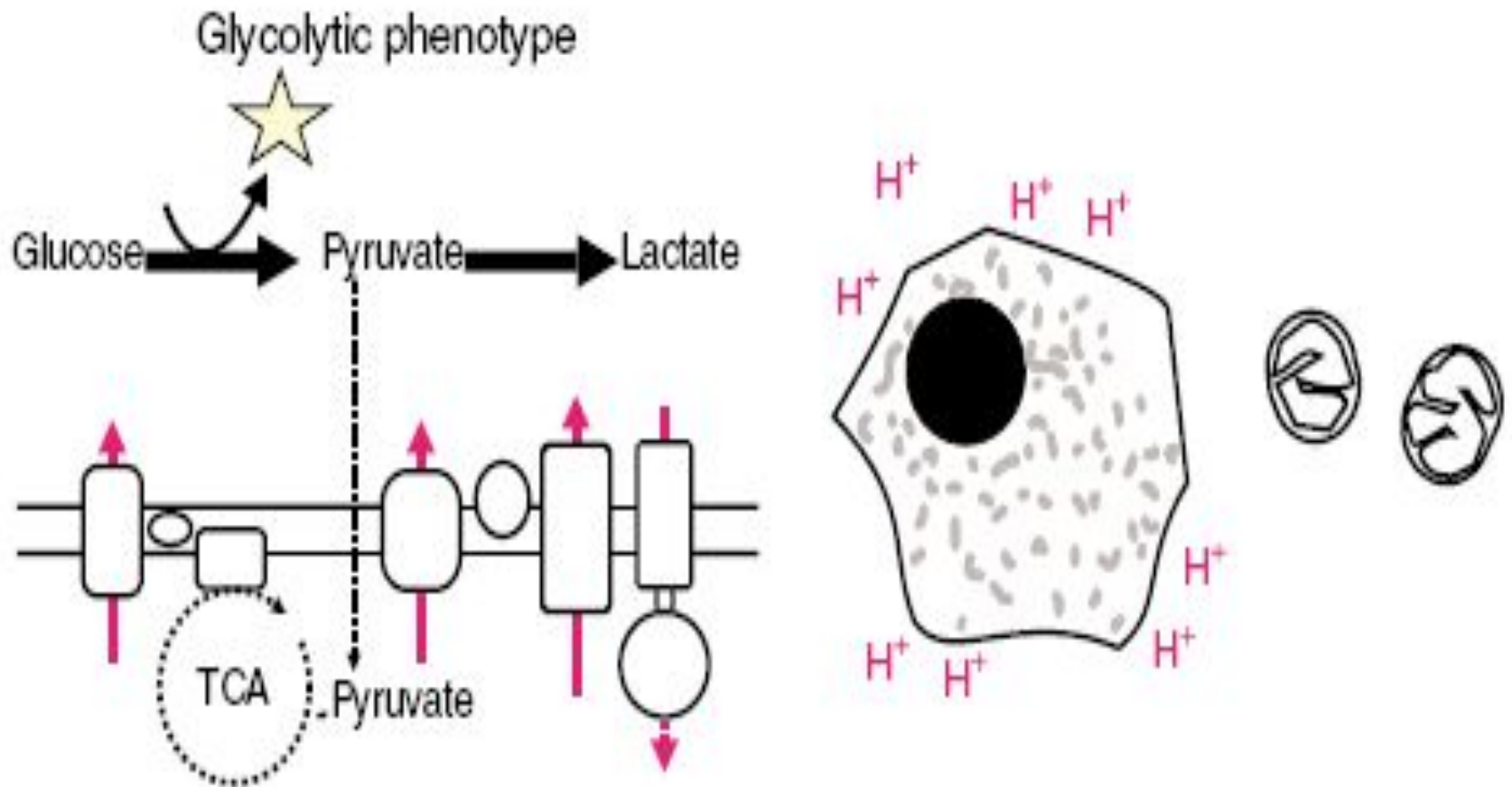
Особенности метаболизма опухоли подчинены обеспечению роста клеток

- ↑ активность *рибонуклеотидредуктазы* (*рибоза* → *дезоксирибоза*) и синтеза ДНК и РНК
- ↑ скорость ПЦ - биосинтезы
- ↓ катаболизм пуринов и пиримидинов
- ↑ скорость анаэр гликолиза (обратный эффект Пастера – эфф. Кребтри) - *гликолитический фенотип*
- ↓ аэробные процессы (Мх окисление)
- Сдвиг изоферментов в сторону фетальных форм

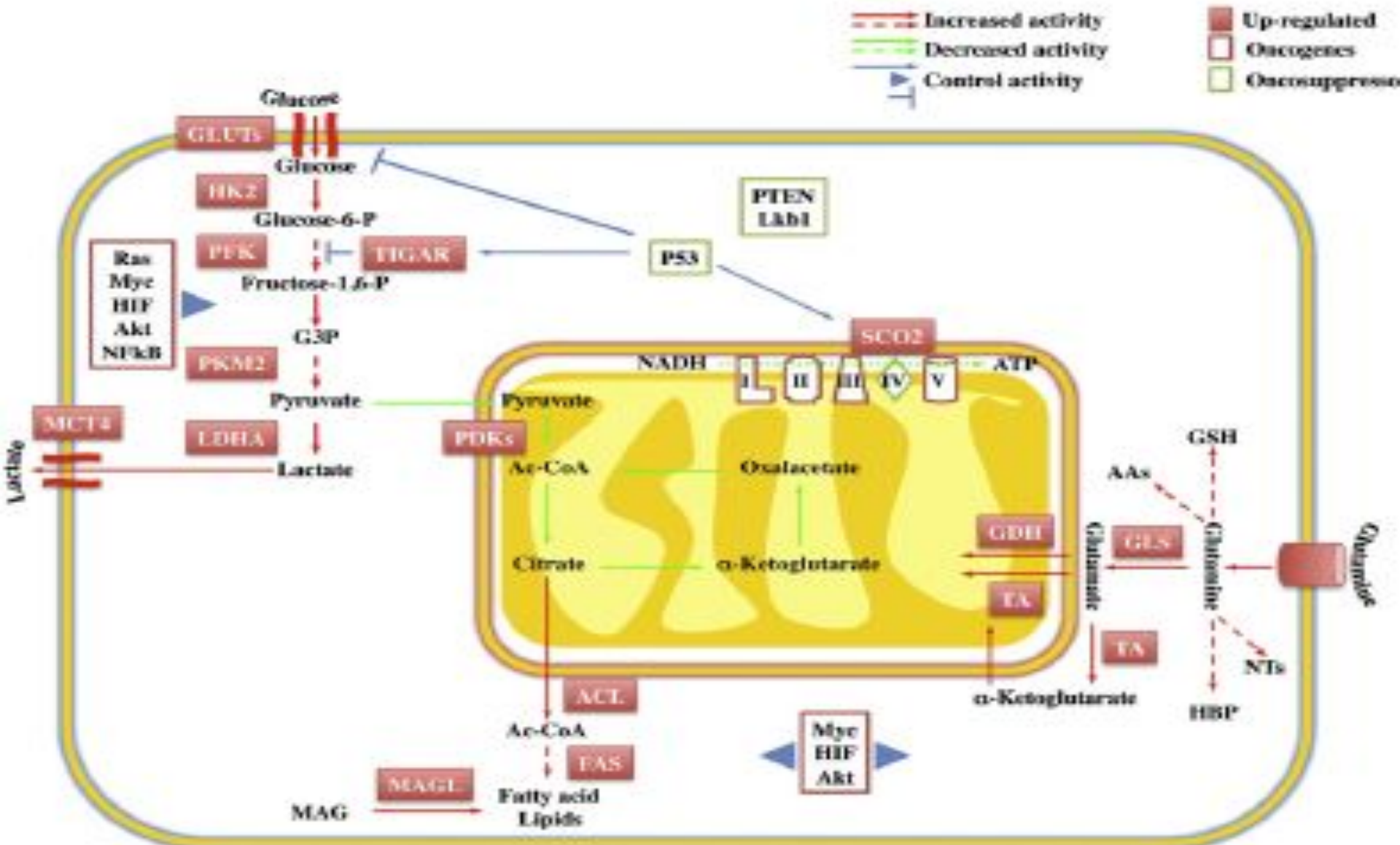
Дыхательный фенотип ткани (миокард, НС)



Гликолитический фенотип опухоли



Изменение метаболизма в раковой клетке



Особенности метаболизма опухоли

(прод)

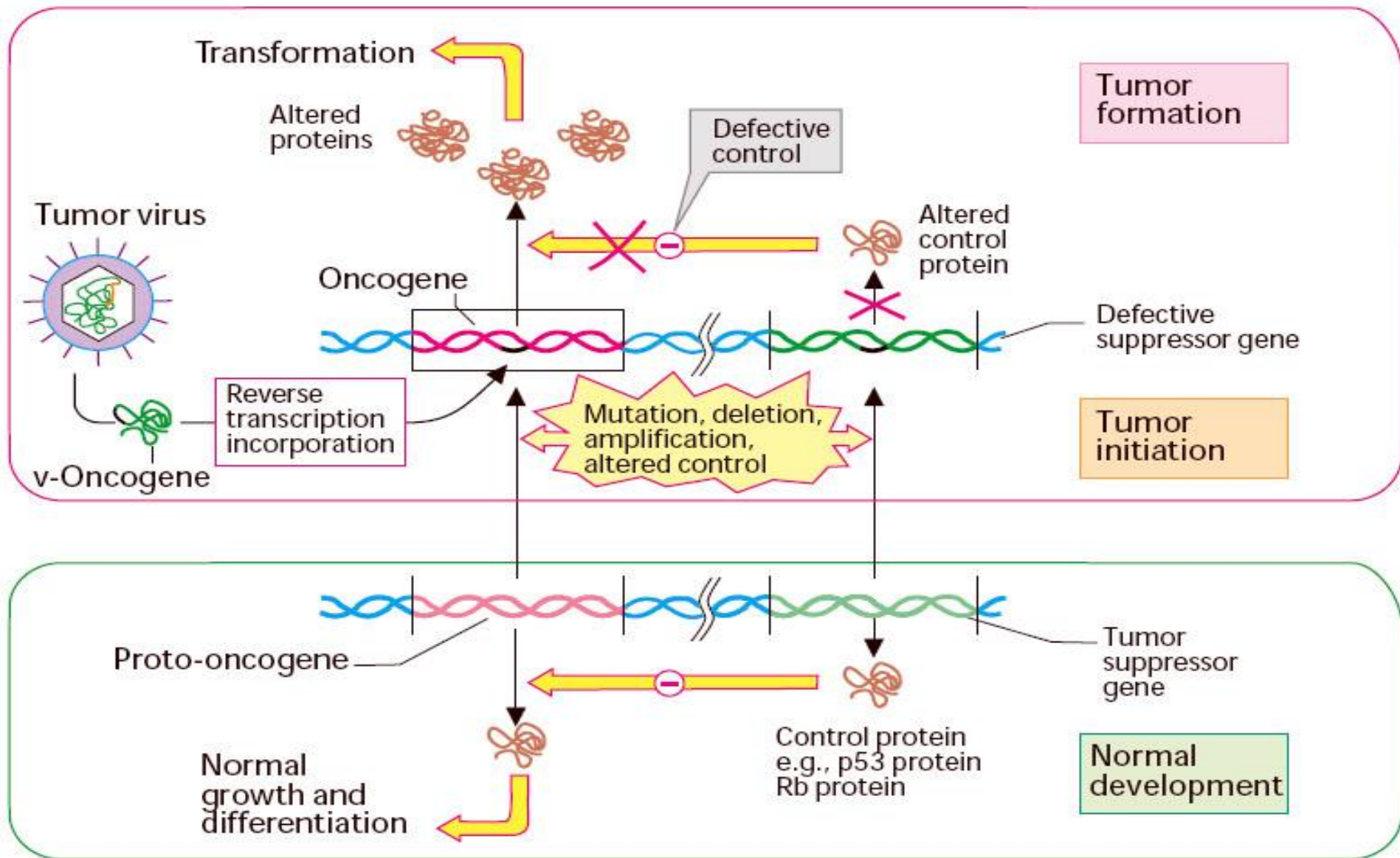
В связи с этим опухоль:

- Является ловушкой глюкозы, АК, ЖК, АО и др.
- Ведет «крупноблочное строительство» - для синтеза РНК и ДНК использует целые блоки нуклеотидов
- Синтезирует эмбриональные белки и ферменты (α-ФП, РЭА, теломераза)
- Изменяется структура плазм мембран – снижен синтез интегринов, адгезивных молекул
- Усиливается б/с протеаз, коллагеназ, гликозидаз обеспечивающих инвазивный рост опухоли
- Усиливается б/с *ангиогенина* – цитокина активирующего рост сосудов

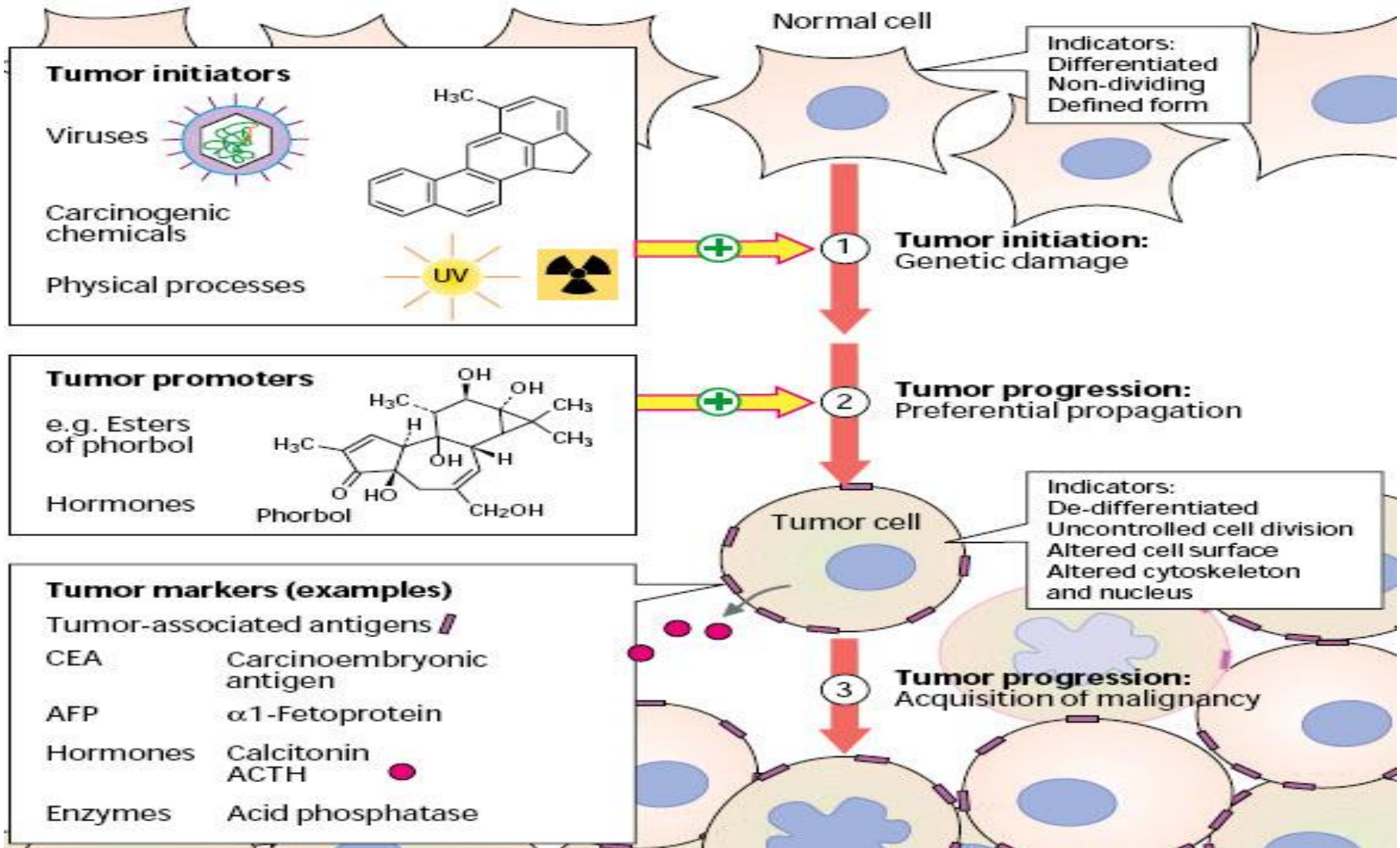
Онкогены, протоонкогены и гены супрессоры опухоли

- **Протоонкогены** – гены экспрессирующие белки контролирующие рост ФР, их рецепторы, транскрипционные факторы и др
- **Онкогены** - гены трансформации (*мутантный вариант Протоонкогенов*)
- **гены супрессоры** опухоли описано более 10 (*rb1, p53, p15, p16, p21wt1 и др*)

Онкогены, протоонкогены и гены супрессоры опухоли



Трансформация



Механизмы трансформации

- *1. нарушение баланса генома*
- «Выключение» генов путем метилирования ДНК
- Превращение протоонкогенов в онкогены
- Точечные мутации регуляторных участков
- Мутации в генах-супрессорах
- Хромосомные aberrации
- *2. изменение поверхности клеток*
- Рецепторных белков
- Выделение литических ферментов
- Нарушение «*контактного торможения*»
- Инвазия и метастазирование

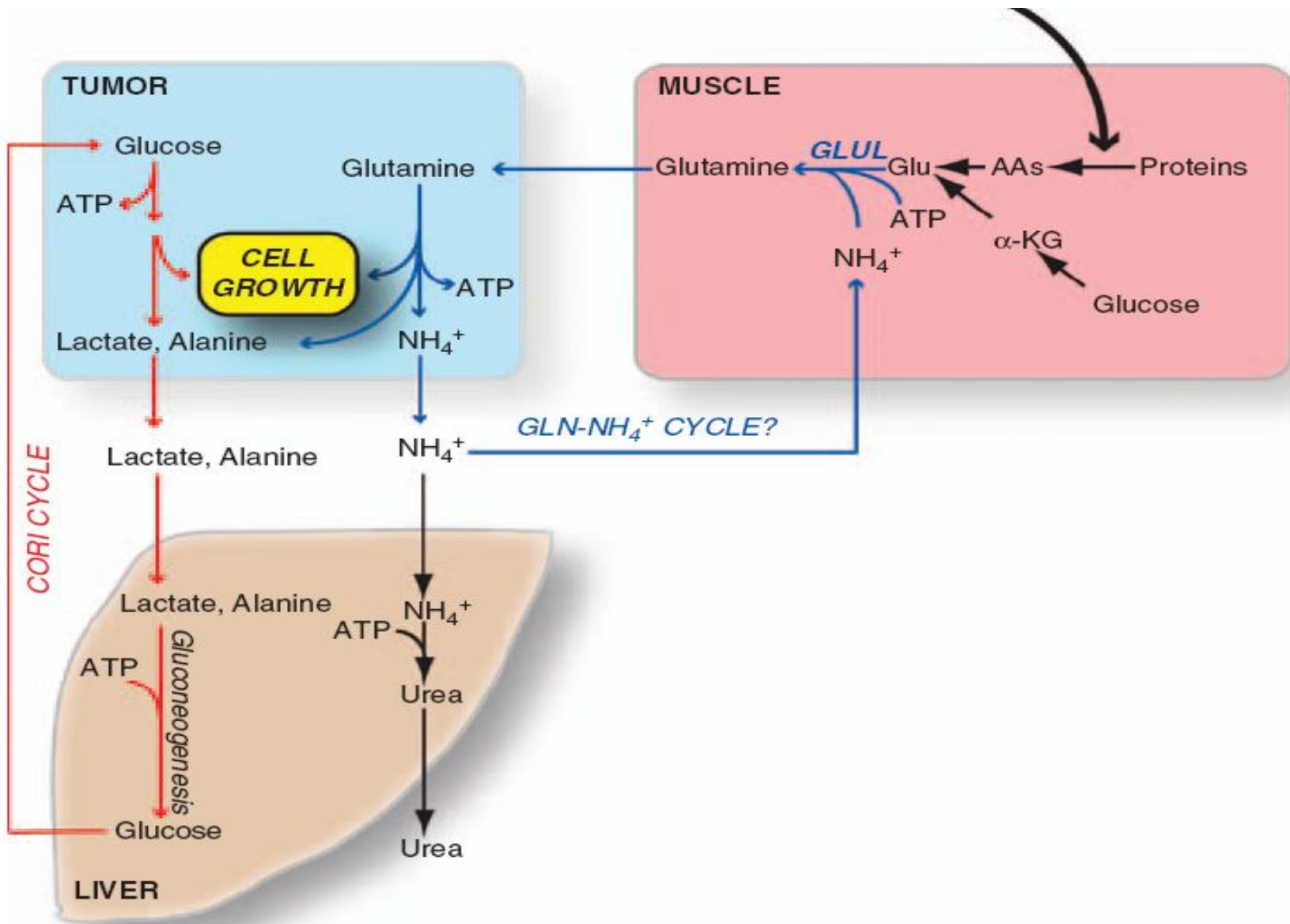
Основные подходы лабораторной диагностики опухолей

- Опухолевые маркеры
- Онкофетальные белки (а-ФП, РЭА и др.)
- мРНК онкофетальных белков раковых клеток:
 - мРНК теломеразы, мРНК а-ФП (рак печени), мРНК РЭА и мРНК цитокератина-белка эпителиальных клеток (рак толстой кишки),*
- Гормоны и их рецепторы (*инсулин-инсулинома*)

Межорганный метаболизм кахектичного ракового пациента

- Рост опухоли сопровождается потреблением **глюкозы** и **глн** с секрецией лактата, ала и NH_4^+ .
- Часть лактата окисляется в хорошо оксигенируемых областях опухоли и используется как дыхательное топливо.
- Др часть лактата и ала в печени используется в ГНГ и возвращается в опухоль в виде глюкозы (цикл Кори). NH_3 поступает в ЦСМ или для синтеза новых молекул глн, образуемого при протеолизе и метаболизме глюкозы.
- Цикл Кори и глюкозо-аммонийный цикл поставляет энергию опухоли, но цена энергии в др. органах формирует раковую кахексию.

Межорганный обмен опухоленосителя



мРНК теломеразы

- Теломераза синтезирует концевые участки хромосом (теломер)
- Обнаружена во всех **c-r** клетках
- мРНК теломеразы присутствует в и в N стволовых клетках, которые, как и **c-r** в могут неограниченно делиться, но отличие от **c-r** клеток они занимают свою нишу и не распространяются по организму
- онкофетальных белков раковых клеток:

Метилированная ДНК - ценный биомаркер диагностики рака

1. Ряд генов, вовлеченных в канцерогенез, инактивируется путем метилирования (*APC, p16, p14, RB1, LKB, ER, RAR2 β , VHL, DAP, MGMT, CD1* и др.);
2. Разработаны новые методы качественного и количественного анализа метилирования ДНК.
3. Метилирование генов, вовлеченных в канцерогенез:
 - является одним из наиболее ранних событий в канцерогенезе
 - высоко специфичный и чувствительный биомаркер опухоли
 - не наблюдается в ДНК нормальных тканей;
 - мб определен в сыворотке крови
 - строго соответствует профилю метилирования ДНК, выделенной из соответствующей опухоли;
 - позволяет предсказать поведение опухоли (эффективность терапии, метастазирование)

(A.Patel, J.D.Groopman, A.Umar. DNA methylation as a Cancer-Specific Biomarker. Ann. N.Y. Acad. Sci., 2003, 983: 286-297).

Принципы лечения

- Цитостатики и цитотоксиканты
- Алкилирующие агенты
- Антиоксиданты
- Антиметаболиты
- Гормональная терапия
- Фотодинамическая терапия предварительная сенсibilизация и последующее облучение лазером
- Направленная доставка лекарств в опухоль
- Подавление ангиогенеза (*ангиостатины, тромбоспондины. Синтетич пептиды-ингибиторы металлопротеиназ*)
- Генная терапия