

Лекция 23.

Биохимия опухолевой ткани

Дисциплина: Б1.Б.15. Биохимия

Специальность: 31.05.02 Педиатрия

НГМУ, кафедра медицинской химии

д.б.н., доцент Суменкова Д.В.

Актуальность темы

Проблема опухолевого роста (ранней диагностики и лечения) является одной из центральных в современной медицине. В последние десятилетия произошло значительное увеличение частоты онкологических заболеваний. Злокачественные опухоли занимают второе место в списке причин смертности населения.



Цель лекции

Знать:

- Молекулярно-биологические основы опухолевого роста (химические канцерогены, механизмы опухолевой трансформации)
- Особенности метаболизма опухолевой ткани

Иметь представление о механизме действия противоопухолевых лекарственных препаратов-ингибиторов синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, о биохимических методах диагностики

План лекции

- Молекулярно-биологические основы канцерогенеза. Химические и биологические канцерогены.
- Метаболический атипизм опухолевой ткани.
- Биохимические основы диагностики и терапии опухолей.

Молекулярно-биологические ОСНОВЫ канцерогенеза

Канцерогены – факторы окружающей среды, вызывающие повреждения генетического аппарата (мутации) и, как следствие, опухолевую трансформацию клеток (лат. cancer – рак).

- Природа канцерогенов:
 - Физическая (например, ионизирующая радиация, УФО, ЭМП)
 - Химическая
 - Биологическая (например, вирусы, некоторые бактерии)

80-90% всех злокачественных опухолей вызваны **химическими канцерогенами**

Химические канцерогены

- Доктор Персиваль Потт (18 век): химический канцерогенез - основа в этиологии рака. Связал рак мошонки у трубочистов с длительным контактом кожи с сажей.
- В 19 веке была выявлена высокая частота рака кожи у немецких рабочих, имевших длительный контакт с каменноугольной смолой — основным ингредиентом сажи.
- Позже было установлено и доказано экспериментальным путём, что канцерогенными веществами, которые содержатся в каменноугольной смоле и саже являются **полициклические ароматические углеводороды**.

Химические канцерогены

Многие химические вещества являются проканцерогенами и становятся канцерогенами после метаболической модификации.

- Полициклические ароматические углеводороды (например, бензопирен) - продукты неполного сгорания каменного угля, нефти, табака, бытового мусора, выхлопных газов;
- ✓ основные пищевые источники – копченое, пережаренное мясо;
- ✓ становятся канцерогенами под действием ферментов детоксикации ксенобиотиков
- Ароматические амины – вещества, использующиеся в производстве анилиновых красителей и резиновой промышленности

Химические канцерогены

- **Нитрозамины** – образуются в результате взаимодействия вторичных аминов с нитритами и нитратами (компоненты пищи)
- **Алкилирующие агенты** (например, винилхлорид, поливинилхлорид)
- **Неорганические вещества** (свинец, кадмий, асбест, хром)

Биологические канцерогены

- Вирусный канцерогенез (экспрессия вирусных генов нарушает регуляцию клеточного цикла)
- ✓ вирус Эпштейна-Барр – лимфома Ходжкина (30-50% случаев)
- ✓ вирус папилломы – рак гениталий (около 300 тыс. случаев в год)
- ✓ вирус гепатита В – рак печени (в 25% случаев в странах Азии и Африки)
- Бактериальный канцерогенез
- ✓ большинство разновидностей рака желудка связано с инфицированием *Helicobacter pylori*

Молекулярно-биологические основы канцерогенеза

- ❑ Под действием канцерогенов возникают повреждения генетического аппарата клеток – молекулы ДНК (мутации)
- ❑ Нерепарированные мутации генов белков, участвующих в механизмах регуляции деления и роста клеток – основа опухолевой трансформации
 - Возможна наследственная предрасположенность, которая значительно увеличивает риск развития опухолей под влиянием канцерогенов:
- ✓ пигментная ксеродерма (дефект ферментов репарации) сопровождается развитием карциномы кожи на участках, подверженных УФО

Молекулярно-биологические основы канцерогенеза

Гены белков, которые играют важную роль в регуляции процессов роста и деления клеток (факторы роста, рецепторы факторов роста, факторы транскрипции, белки сигнальных систем, ингибиторы апоптоза bcl-2 bcl-x) – протоонкогены

- Протоонкогены в результате нерепарируемых мутаций превращаются в **онкогены**
- **Канцерогенные факторы повышают нерегулируемую активность протоонкогенов**

Молекулярно-биологические основы канцерогенеза

Гены, подавляющие активность онкогенов, - гены-супрессоры опухолевого роста

- Главный представитель – ген, контролирующий синтез белка p53 (белок с молекулярным весом 53кДа)
- P53 регулирует апоптоз, контролируя таким образом активность протоонкогенов (запускает гибель клетки, предотвращая появление вредоносных мутаций, в том числе и опухолеродных)

Молекулярно-биологические основы канцерогенеза

- Большинство опухолей человека возникают путем ступенчатых изменений, в начале которых лежит инактивация гена p53 путем случайно или индуцированной мутации или инактивации онкогеном (например, онкогены некоторых вирусов инактивируют p53)
- «Поломка» процесса апоптоза приводит к накоплению различных мутаций, среди которых – мутации, активирующие проонкогены, которые, в свою очередь, превращаются в онкогены

- Таким образом, **причиной развития опухоли** и ее последующей прогрессии является **накопление в клетках мутаций специфических генов** и изменение структуры соответствующих белков и, как следствие,
 - либо **неадекватная митогенная стимуляция** клетки
 - либо **инактивация генов-супрессоров**, обеспечивающих профилактику опухолевой трансформации
 - либо сочетание того и другого (чаще всего)

- Согласно **альтернативной (эпигенетической) точке зрения**

Опухоль – результат не повреждения, а неправильной работы генов, которая может быть обусловлена, например, метилированием ДНК

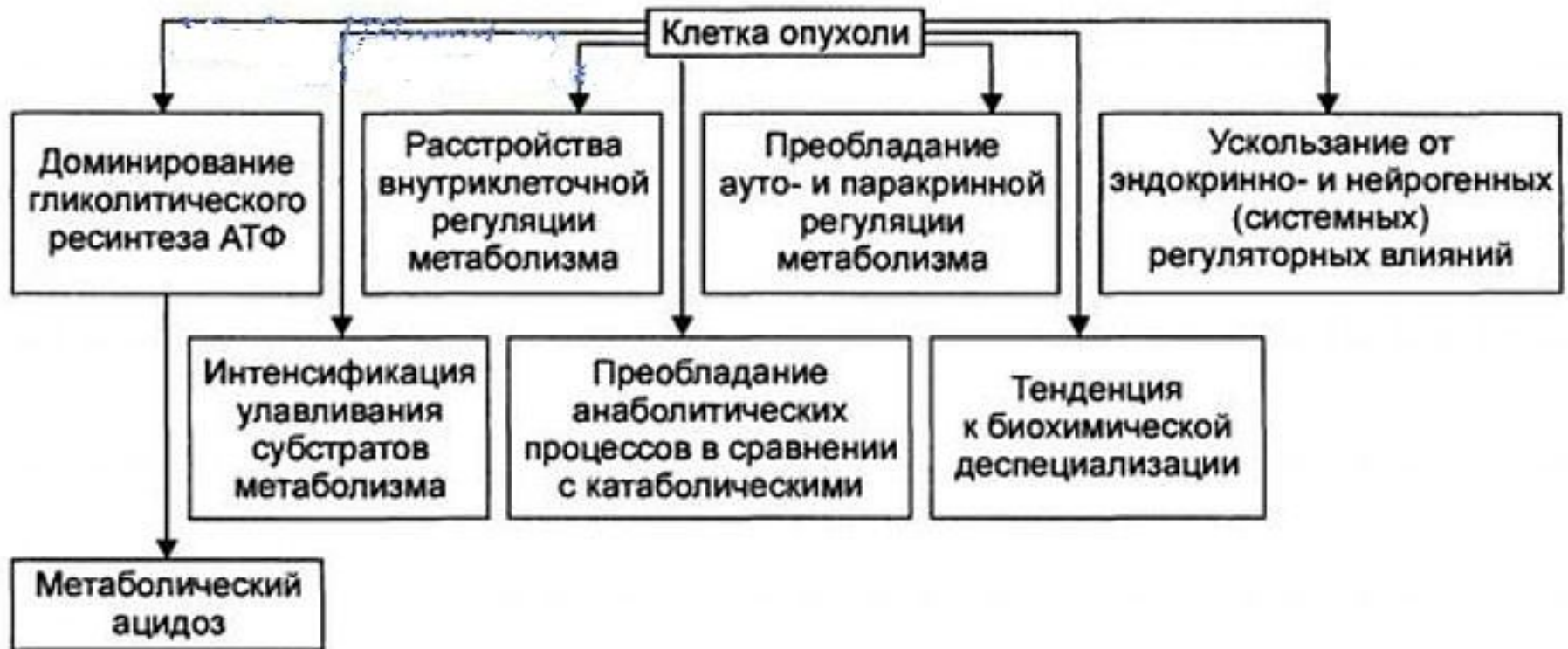
Исследования последних лет показали, что **в канцерогенезе две составляющие – генетическая и эпигенетическая**, причем вклад каждой из них в конкретные формы опухолей человека варьирует в широких пределах.

Гены-супрессоры и гены репарации в опухолях инактивированы в результате либо их повреждения, либо метилирования промоторов. Поэтому **канцерогенами могут быть не только мутагены, но и другие факторы**, воздействующие на клеточный метаболизм (в частности, на метилирование).

В отличие от мутаций, которые не обратимы, модификации ДНК, хотя и весьма стабильны, но в принципе обратимы, что позволяет думать о перспективах терапевтического воздействия

Метаболический атипизм опухолевой ткани

- Особенности обмена углеводов
- Особенности обмена липидов
- Особенности обмена аминокислот и белков
- Особенности обмена нуклеотидов и матричных синтезов
- Особенности обмена витаминов, микро- и макроэлементов
- Синтез атипичных и эмбриональных белков, факторов роста, протеаз
- Биохимические особенности структурных компонентов опухолевой клетки



Метаболизм опухолевой клетки ориентирован на обеспечение непрерывного роста и пролиферации и имеет анаболическую направленность

Особенности обмена углеводов в опухолевых клетках

- ❑ **Опухолевая клетка – «ловушка» глюкозы:**
Высокая скорость гликолиза для синтеза АТФ

Преобладание анаэробного гликолиза даже в присутствии кислорода (обратный эффект Пастера):

чем менее дифференцирована опухоль и чем выше скорость ее роста, тем интенсивнее анаэробный гликолиз (субстратное фосфорилирование АДФ) и слабее окислительное фосфорилирование АДФ

Какие изменения в опухолевых клетках обеспечивают высокое сродство к глюкозе?

- **Аномальная изоформа гексокиназы** имеет высокое сродство к глюкозе (К_м имеет очень низкое значение) и не регулируется инсулином
- **Аномальная изоформа фосфофруктокиназы** не ингибируется АТФ и цитратом
- **Аномальная изоформа лактатдегидрогеназы** имеет высокую активность
- **Анаэробный гликолиз – источник повышенной секреция лактата (эффект Варбурга) и метаболического ацидоза**

Чрезвычайно высокое сродство опухолевых клеток к глюкозе приводит к глубокой гипогликемии и усилению синтеза глюкозы в печени из аминокислот и лактата (цикл Кори), что приводит к энергетическому дефициту в организме

Особенности обмена липидов в опухолевых клетках

□ Опухолевая клетка – «ловушка жиров»

- Опухолевые клетки интенсивно поглощают из крови свободные жирные кислоты, холестерин и фосфолипиды в составе липопротеинов, которые используются ими в качестве субстратов для построения липидов, входящих в состав цитоплазматических мембран.

В организме человека с опухолевым ростом усиливается липолиз (больной худеет – кахексия) и перекисное окисление липидов. Образующиеся при этом свободные радикалы повреждают ЦПМ, например, мембраны эритроцитов, приводя к гемолизу и анемии.

Особенности обмена аминокислот и белков в опухолевых клетках

❑ Опухолевая клетка – «ловушка азота»

- ❑ Опухолевые клетки интенсивно извлекают из притекающей крови аминокислоты
- ❑ В опухолевых клетках в 50 раз интенсивнее идет синтез аминокислот
- ❑ В опухолевых клетках резко **снижена активность ферментов, осуществляющих дезаминирование аминокислот (катаболизм)**

В организме человека с онкологическим заболеванием наблюдается отрицательный азотистый баланс за счет активации катаболизма белков

Особенности обмена нуклеотидов и матричных синтезов в опухолевых клетках

- Снижена скорость катаболизма пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов, которые используются как субстраты в синтезе нуклеиновых кислот
- Уменьшение содержания гистоновых белков в нуклеопротеидных комплексах (гистоны – супрессоры синтеза ДНК)
- Повышена активность ДНК- и РНК-полимераз, идет интенсивный синтез нуклеиновых кислот (репликация и транскрипция), стимулируется синтез как хромосомной, так и митохондриальной ДНК
- Повышена активность рибонуклеотидредуктазы (образование дезоксирибонуклеотидов для синтеза ДНК)
- Снижена активность нуклеаз
- Активация матричных синтезов – необходимое условие для активной пролиферации опухолевых клеток

Особенности обмена витаминов в опухолевых клетках

- Особенности обмена витаминов в опухолевой ткани изучены недостаточно.
- Многие водорастворимые витамины интенсивно захватываются опухолевыми клетками для образования коферментов и обеспечения биохимических реакций, интенсивного деления и роста клеток.
- Можно предположить особенно интенсивный захват опухолевыми клетками **фолиевой кислоты** и ее коферментов для обеспечения синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот.
- Различные опухоли являются «ловушкой» жирорастворимого **витамина Е**. Он обладает антиоксидантной активностью в связи с его способностью нейтрализовать свободнорадикальные агенты и способствовать стабилизации клеточных мембран. По-видимому, это является одним из механизмов повышения устойчивости опухолевых клеток к цитотоксическим воздействиям.

Особенности обмена микро- и макроэлементов в опухолевых клетках

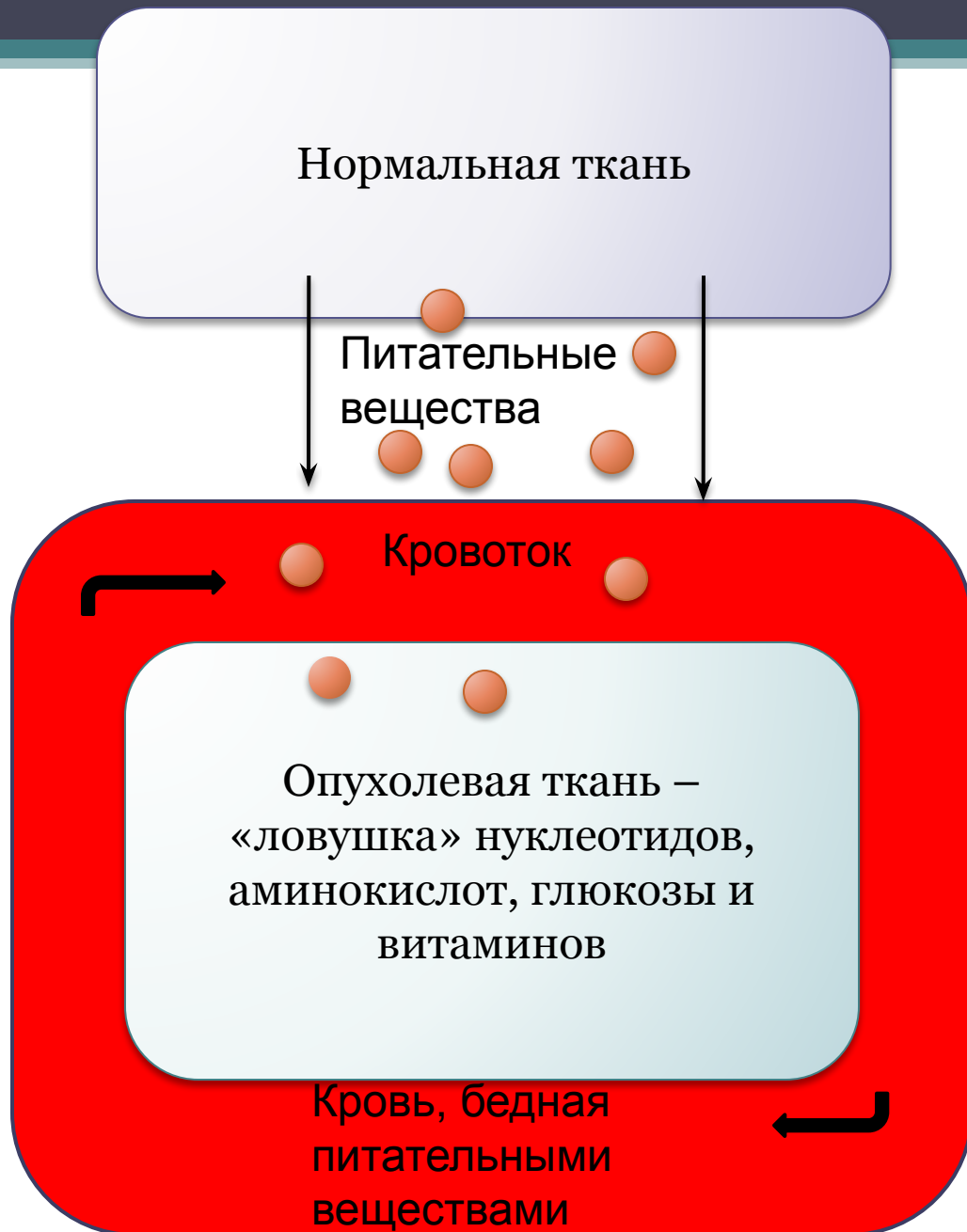
В ряде опухолей показано обеднение клеток **Ca, Na, Mg, Zn** и накопление в них **K** и **Cu**.

При злокачественных новообразованиях часто наблюдается гиперкальциемия. Причины гиперкальциемии:

- Синтез опухолевыми клетками паратгормон-подобных пептидов
- Метастазирование в кости (слабая корреляция между метастатическим поражением костей и степенью гиперкальциемии)

Последствия гиперкальциемии для организма:

- ✓ нарушение функции почек (образование камней)
- ✓ уменьшение секреции паратгормона, нарушение канальцевой реабсорбции кальция, вымывание кальция из костей



Развитие опухоли в организме приводит к значительным сдвигам в обмене веществ. Анаболическая направленность метаболизма опухоли усиливает катаболические процессы в нормальных клетках. На определенной стадии функциональные резервы органов и систем оказываются исчерпанными, возникает **раковая кахексия** (истощение)

Развитие кахексии отчасти связано с увеличением уровня кахектина (ФНО-альфа), который вырабатывается опухоль-ассоциированными макрофагами. Один из эффектов кахектина – увеличение затрат энергии.

Синтез атипичных белков

- **Эктопические гормоны** (производство гормонов клетками, которые его обычно не производят):
 - ✓ карцинома легких – АКТГ
 - ✓ карцинома почек - паратгормон
 - ✓ гепатома – хорионический гонадотропин
- **Аномальные белки**
 - ✓ парапротеины – структурно аномальные и функционально неполноценные иммуноглобулины при миеломной болезни (злокачественная опухоль плазматических клеток)

Синтез эмбриональных белков

- **α -фетопротейн** (у плода связывает и транспортирует незаменимые жирные кислоты, защищает от иммунного отторжения)
- **теломераза** (фермент, достраивающий *теломеры* – концевые участки хромосом, которые укорачиваются при каждой репликации и являются фактором, лимитирующим количество делений клетки; за счет работы этого фермента клетка становится бессмертной)

Синтез протеаз

Протеазы расщепляют компоненты межклеточного матрикса и базальных мембран, обеспечивая инвазивный рост и метастазирование

- Коллагеназа
- Катепсин В (активатор проколлагеназы и металлопротеаз)
- Гепараза
- Плазмин

Синтез факторов роста

- Усилен синтез факторов роста сосудистого эндотелия – факторов ангиогенеза, что является ключевым звеном в прогрессии опухоли
- Способность синтезировать гормоны и факторы роста, а также рецепторное «упрощение» позволяют опухолевой клетке «ускользнуть» от регуляторного влияния организма в целом и переходить на паракринно-аутокринный механизм регуляции клеточного деления и роста, приобретая таким образом «автономность».

Биохимические особенности структурных компонентов опухолевой клетки

- **Изменен состав, структура, количество гликопротеинов ЦПМ** (интегриновых и адгезивных белков), что лежит в основе нарушения межклеточных взаимодействий, нерегулируемого размножения, метастазирования и лекарственной устойчивости:
 - ✓ **фибронектина** (связывает клетки с компонентами межклеточного матрикса)
 - ✓ **кадгерина** (образует межклеточные связи)
 - ✓ **катенина** (связывает кадгерин с цитоскелетом, является компонентом сигнальных систем и регулирует пролиферацию в комплексе с APC-белком)
 - ✓ **P-гликопротеина** (транспортная АТФ-аза, экскретирующая ионы хлора и гидрофобные ксенобиотики, включая противоопухолевые лекарственные препараты)

Биохимические особенности структурных компонентов опухолевой клетки

- Повышена проницаемость ЦПМ
- Повышен отрицательный заряд ЦПМ, снижено количество кальция, участвующего в межклеточных взаимодействиях
- Рецепторное «упрощение» (например, снижено количество рецепторов к ряду гормонов, поэтому клетка теряет способность реагировать на регуляторное воздействие со стороны организма)
- Антигенное «упрощение» (например, снижено количество рецепторов главного комплекса гистосовместимости, что способствует «ускользанию» от надзора иммунной системы)

Биохимические основы диагностики опухолей

- Онкомаркёры

Онкомаркёры

Опухолевые маркёры (онкомаркёры) – соединения, которые синтезируются опухолевыми клетками или клетками нормальных тканей в ответ на рост опухоли.

Онкомаркёрами могут быть

- Атипичные и эмбриональные белки, т.е. продукты аномальной экспрессии генома опухолевой клетки (например, онкофетальные белки, эктопические гормоны)
- Нормальные белки, но продуцируемые опухолевыми клетками в больших количествах (например, простатоспецифический антиген)
- Ферменты (например, щелочная фосфатаза при метастазировании опухолей в печень)

Онкомаркёры

Необходимо иметь в виду, что во многих случаях при ряде патологических состояний, не связанных с ростом опухоли, отмечается неспецифическое, часто незначительное повышение уровня маркёра

Идеальный маркёр может использоваться для:

- Скрининга
- Диагностики
- Оценки прогноза
- Мониторинга лечения
- Дальнейшего наблюдения с целью выявления рецидивов

Многие маркёры с успехом применяются для нескольких целей одновременно, но всем требованиям отвечает хорионический гонадотропин – маркёр хориокарциномы (злокачественная пролиферация ворсин хориона). Этот маркёр является и исключительно чувствительным: позволяет обнаружить опухоли массой всего 1 мг (10^5 клеток)

Онкомаркёры: примеры

Карциноэмбриональный антиген –
диагностика рака прямой кишки

- низкая специфичность: повышается при заболеваниях печени, поджелудочной железы, воспалительных заболеваниях кишечника
- низкая чувствительность не позволяет использовать его для скрининга
- концентрация в плазме слабо коррелирует с размером опухоли

Онкомаркёры: примеры

Парапротеины – диагностика миеломной болезни

- концентрация в плазме и моче хорошо коррелирует с размером опухоли
- снижение их количества – хороший показатель эффективности лечения

Онкомаркёры: примеры

Альфа-фетопротейн – диагностика рак печени и тератомы яичка

- повышен у большинства пациентов с циррозом, но при наличии цирроза и концентрации α -ФП более 500 мкг/л диагноз гепатоцеллюлярной карциномы не вызывает сомнения
- при тератоме яичка может эффективно использоваться для оценки прогноза, определения стадии заболевания и мониторинга лечения

Онкомаркёры: примеры

Простатоспецифический антиген – диагностика рака предстательной железы

- чувствительность и специфичность ограничены тем, что присутствует в плазме в норме, его концентрация повышена у людей пожилого возраста и при доброкачественной гипертрофии предстательной железы
- вероятность рака значительно повышается при уровне ПСА более 10 мкг/л (норма до 4 мкг/л)
- совершенствуются методы определения связанного и свободного ПСА (количество связанного ПСА увеличивается при раке)

Биохимические основы противоопухолевой терапии

- Ингибиторы синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот
- Молекулярная таргетная терапия
- Направленный транспорт лекарственных препаратов
- Генная терапия

Биохимические основы противоопухолевой терапии

□ Ингибиторы синтеза нуклеотидов (антиметаболиты):

- **Метотрексат** (производное фолиевой кислоты) – конкурентный ингибитор H_2 -фолатредуктазы в синтезе тимидиновых нуклеотидов
- **5-фторурацил** – может использоваться в синтезе дУМФ и образовывать неактивный комплекс с тимидилсинтазой и метилен- H_4 -фолатом, ингибируя синтез тимидиновых нуклеотидов

Биохимические основы противоопухолевой терапии

❑ Ингибиторы репликации и транскрипции

- Алкилирующие агенты (**циклофосфан**) – образуют связи с основаниями в ДНК, внутри- и межцепочечные сшивки, нарушают репликацию
- Антибиотики (**доксорубицин**) – внедряется между основаниями ДНК, вызывают одно- и двухцепочечные разрывы, генерируют свободные радикалы

❑ Митотические яды

- **Алкалоиды Vinca (винкристин и винбластин)**
 - ингибиторы тубулина - белка микротрубочек

Биохимические основы противоопухолевой терапии: новые направления

- **Таргетная терапия** – воздействие на молекулярные механизмы заболевания, например в лечении рака молочной железы:
 - ✓ препараты, блокирующие рецепторы эстрогена на гормон-зависимых опухолевых клетках молочной железы
 - ✓ препараты, ингибирующие ароматазу
- **Направленная доставка лекарств в опухолевые клетки**
 - для доставки используют лиганды к мембранным антигенам, экспрессия которых выше в опухолевых клетках, чем в нормальных

Биохимические основы противоопухолевой терапии: новые направления

- **Ингибиторы ангиогенеза** (ангиостатин, тромбоспондин), **ингибиторы металлопротеаз**
- **Генная терапия:** выделение клеток у пациента, включение в клетки «лечебных» генов, которые увеличивают иммуногенность опухоли и способствуют её уничтожению (например, ген фактора некроза опухоли), реимплантация клеток больному

Задание для самостоятельной работы

Используя учебник и интернет-ресурсы, найдите дополнительную информацию по вопросам:

- Биохимические основы канцерогенеза
- Биохимические маркёры опухолевого роста

Литература

Биохимия: учебник для студентов
медицинских ВУЗов / Е. С. Северин - М.:
ГЭОТАР-Медиа, 2014. -768 с. (раздел 16)