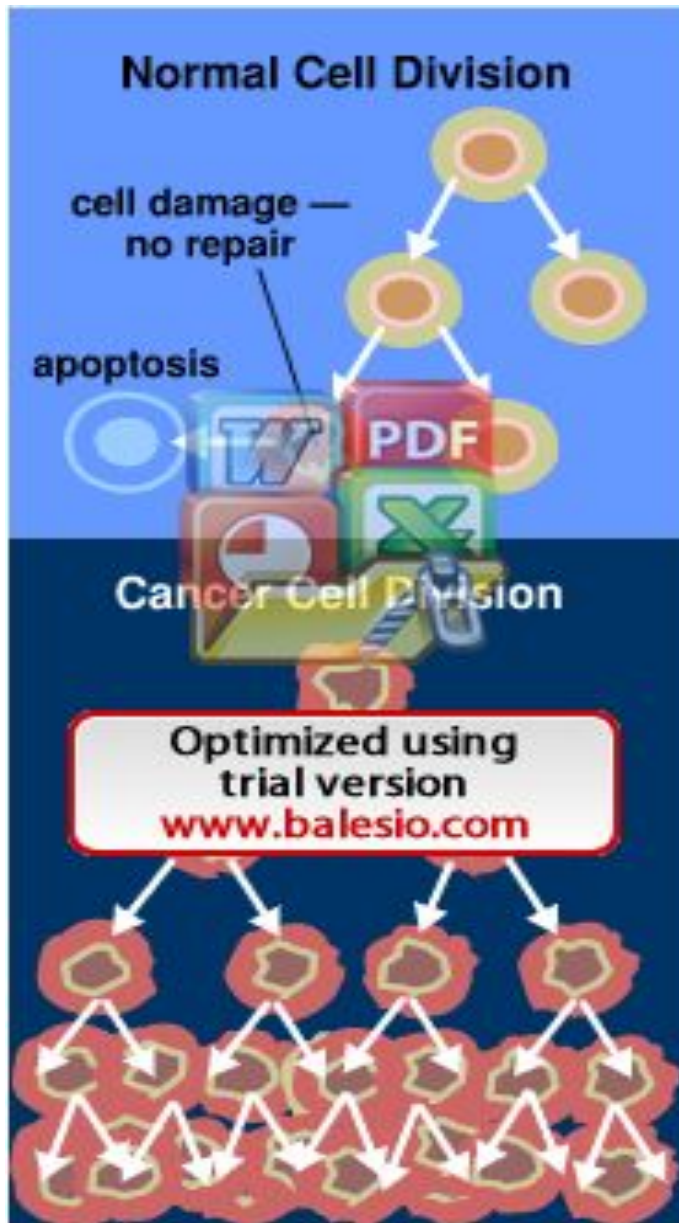


# Биохимия онкогенеза



# 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. предраспол*):

1. **Излучение** –УФО, R- и  $\gamma$ -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**

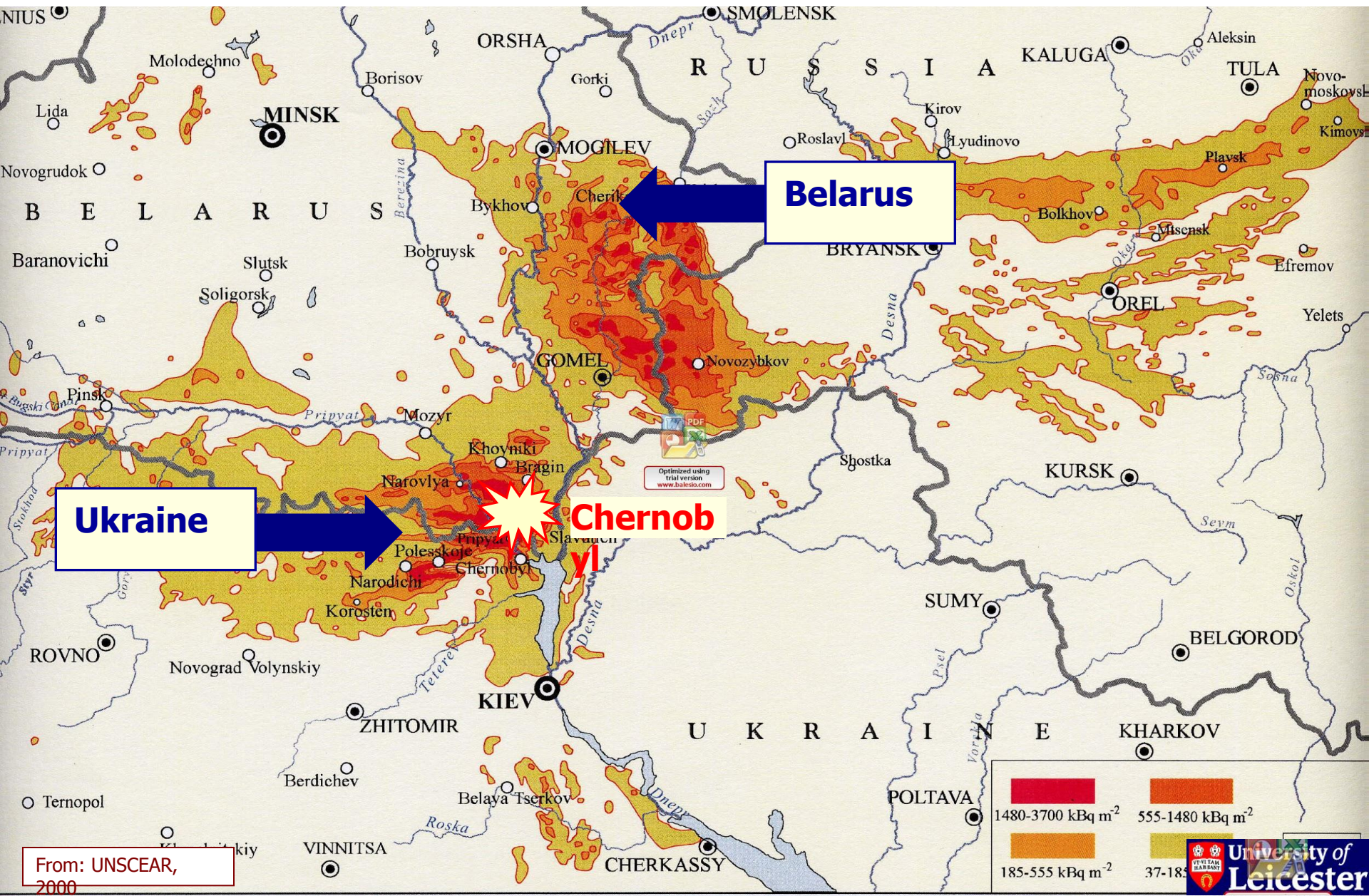
# Радиационный канцерогенез

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

## Механизм действия

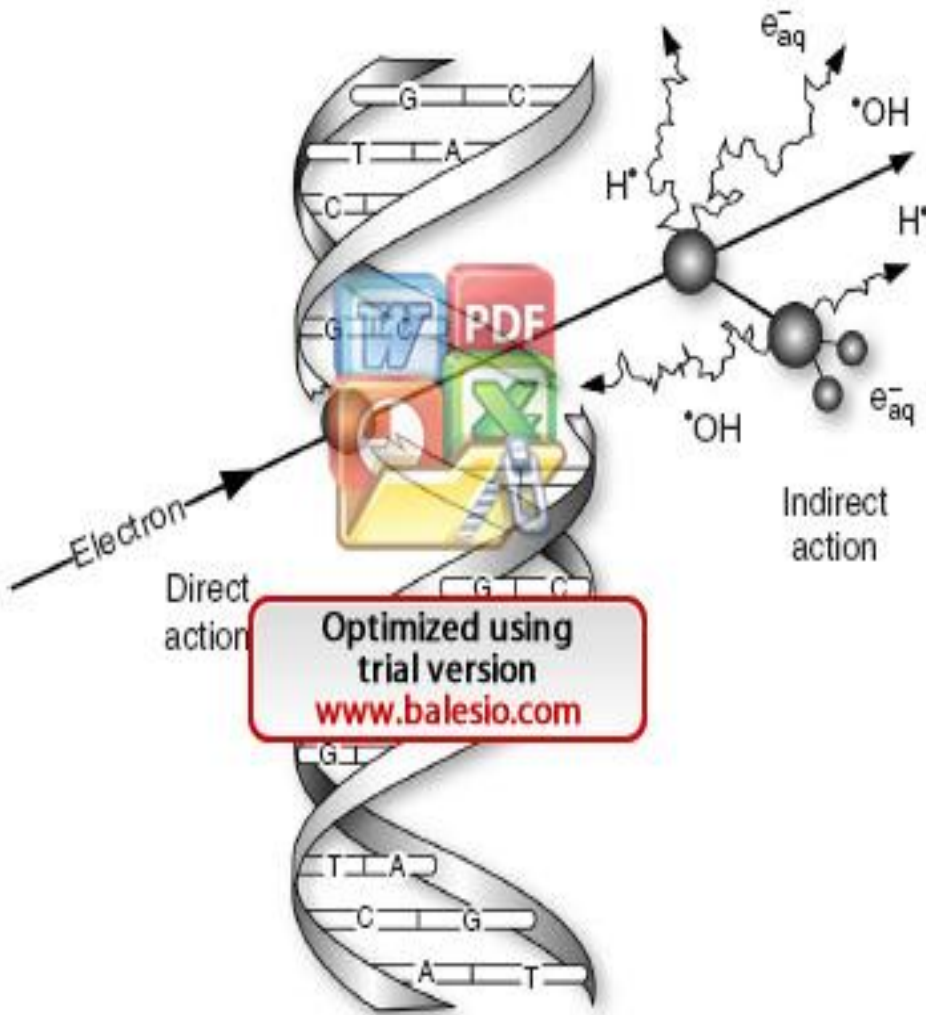
- удаление АО и образование *апуринизированных* и *апиримидинизированных* участков
- Одно- и двунитевые *разрывы* или сшивки
- УФО вызывает обр *тиминовых димеров*
- R- и  $\gamma$ -излучение индуцирует образование в тканях **АФК** ( $O_2^*$ ,  $OH^*$ ,  $H_2O_2$  и др.)

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



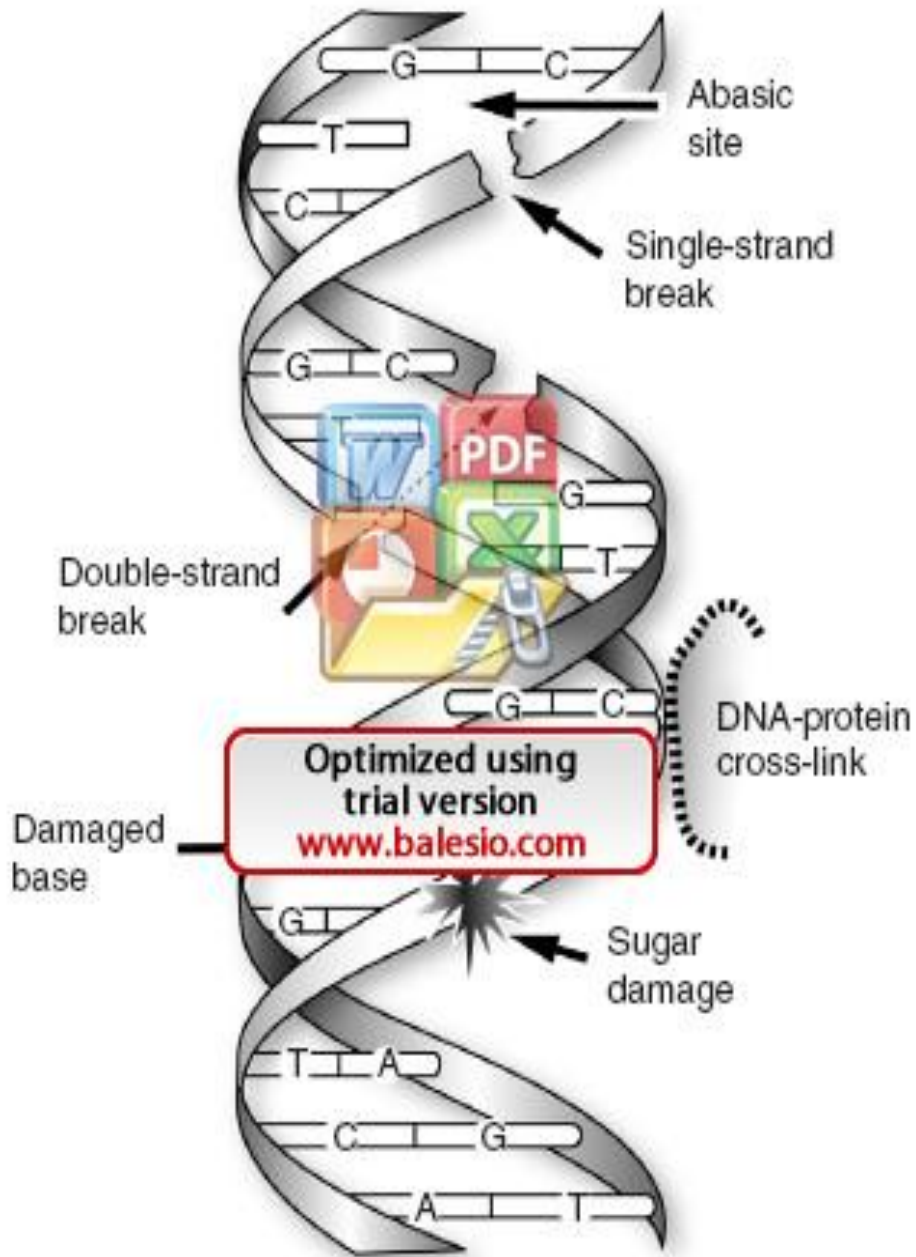
From: UNSCEAR, 2000

# Действие радиации на ДНК



- Прямое действие обусловлено непосредственным влиянием  $e^-$  на ДНК
- Непрямое действие опосредовано вторичным радиолизом воды, образованием АФК

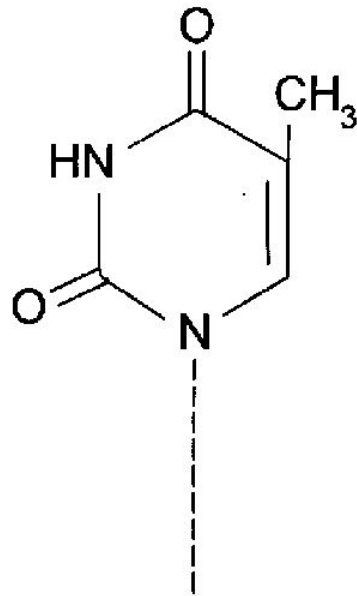
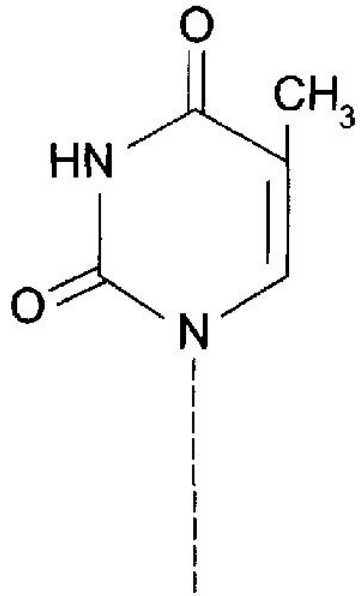
# Радиационные повреждения ДНК



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

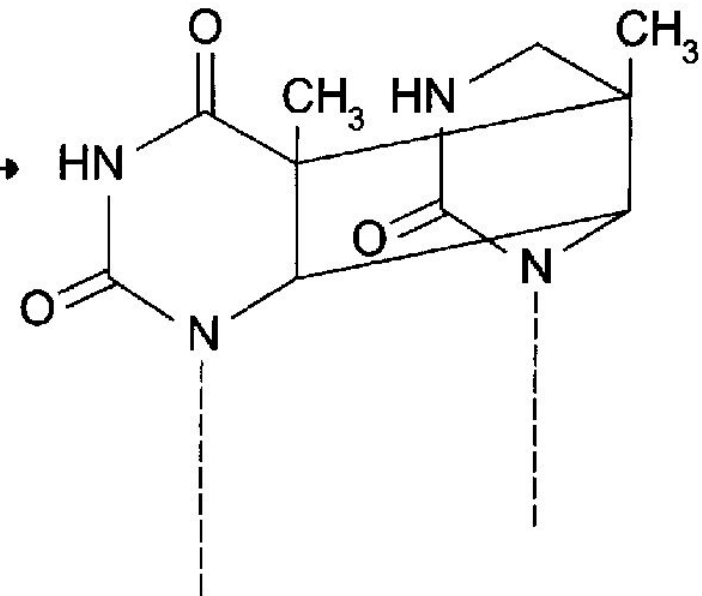
# Образование ТИМИНОВЫХ димеров

Тимины



УФО

Тиминовый димер





# Механизм образования АФК

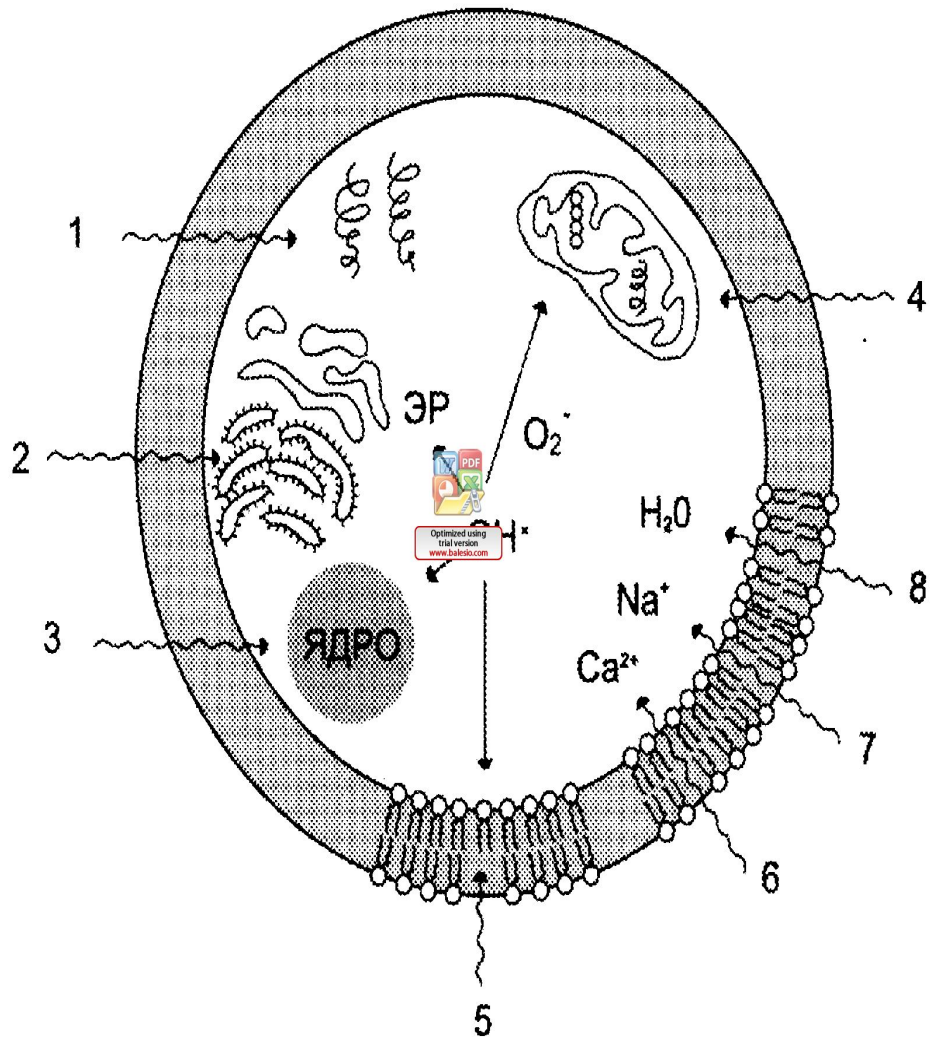


- Источником  $e^-$  является ионизирующее излучение (радиолиз воды),  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{NAD(P)H} + \text{H}^+$ , стимуляция МС окисления



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

# Повреждающее действие АФК на клетку



1. Повреждение белков
2. Повреждение мембран ЭР
3. Повреждение ядра и ДНК (мутации)
4. Повреждение Мх (деэнергизация клетки) и увеличение образования АФК
5. ПОЛ клеточной мембраны, появление пор проницаемых для ионов и воды
6. 7, 8. Нарушение ионных градиентов и осмолярности (набухание) клетки за счет увеличения проницаемости мембран для ионов и воды

# → Антиоксидантная защита (АОЗ)

- **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.*)
- **Ферментативная** представлена ферментами (СОД, каталаза, глутатион-пероксидаза, глутатион-редуктаза и др.)
- $O_2 \cdot + O_2 \cdot + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$  (*СОД*)
  - $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$  (*каталаза*)
- $2GSH + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + GS-SG$  (*GSH-пероксидаза*)

# Химический канцерогенез

- Большинство канцерогенов существует в форме *проканцерогенов*, которые в печени превращаются в активные формы, реагирующими с НК и белками (*летальный синтез*).
- 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
<b>ПАУ</b>	<i>Бензопирен, метилхолантрен</i>
<b>Аромат. Амины</b>	<i>N-метил-4-аминоазобензол</i>
<b>Нитрозамины</b>	<i>Ди(метил)этилнитрозамин</i>
<b>Алкилир. Агенты</b>	<i>Диэтилстильбестрол, циклофосфамид</i>
<b>Природные в-ва</b>	<i>Афлатоксин В, дактиномицин</i>
<b>Неорганические</b>	<i>Cr, Be, Pb, Cd, асбест</i>

# Химические канцерогены (ХК)

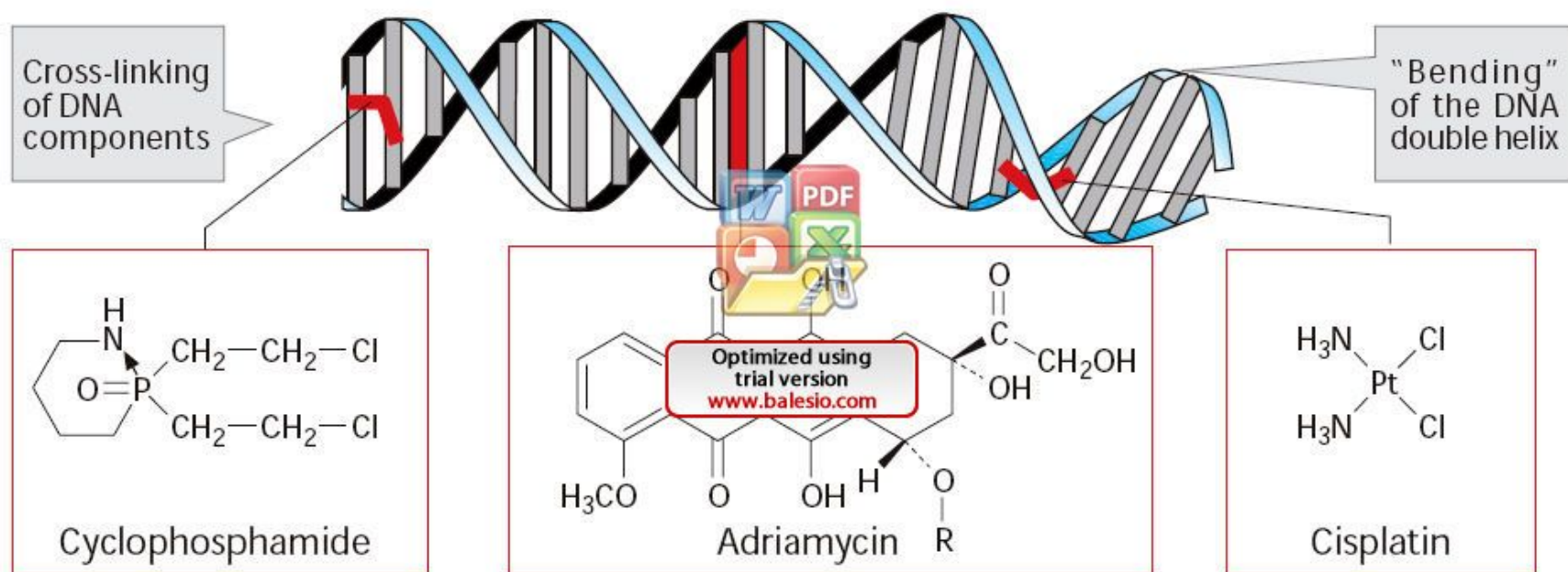
- **ПАУ** - продукты неполного сгорания угля, нефти, табака, пиролиза масел, органических компонентов пищи и др.
- После ферментативной активации *цит P450* и образования эпоксидов, реагируют с пуринами (особенно с G)

## Химические канцерогены (прод.)

» **Ароматические амины** - анилиновые красители и в-ва используемые в резиновой пром-сти

- **Нитрозамины** – образуются в организме при взаимодействии *нитритов и вторичных алифатических аминов*, постоянных компонентов пищи и обр при запекании мяса и рыбы. Нитриты 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)*

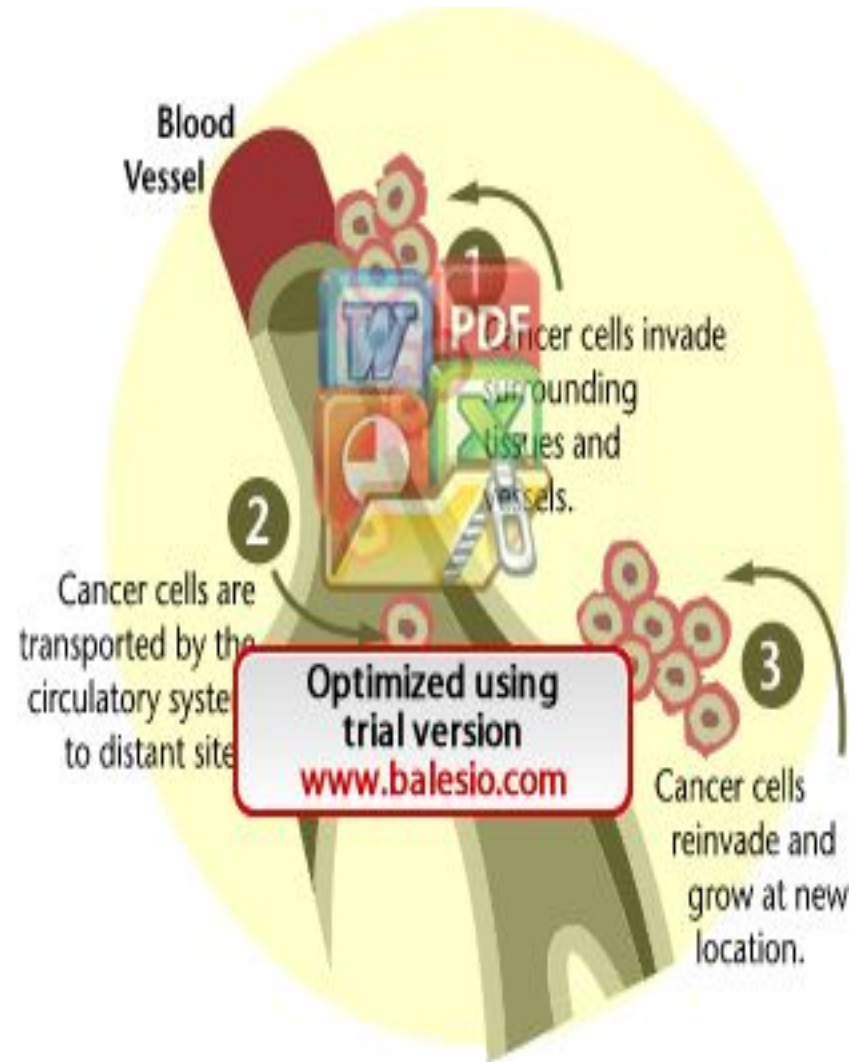
# Нестабильность генома – эпигенетический феномен

- 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 ( $\alpha$ -ФНО, стауроспорин, тепловой стресс и др.)
  - препятствует противоопухолевой терапии

# Защита опухолей от химиопрепаратов

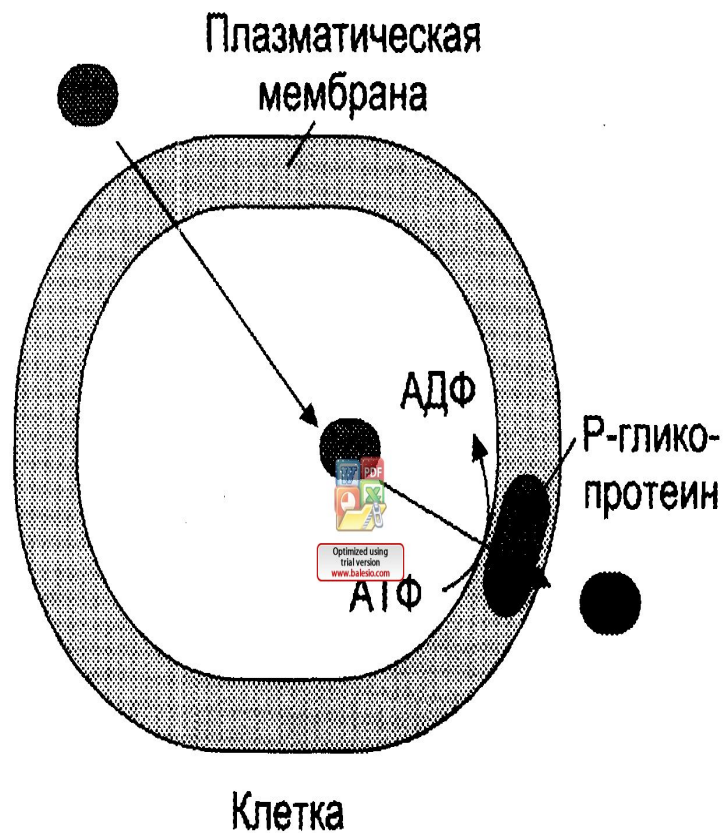


Рис. 12-16. Функционирование Р-гликопротеина. Заштрихованный овал — противоопухолевое лекарство (гидрофобное вещество).

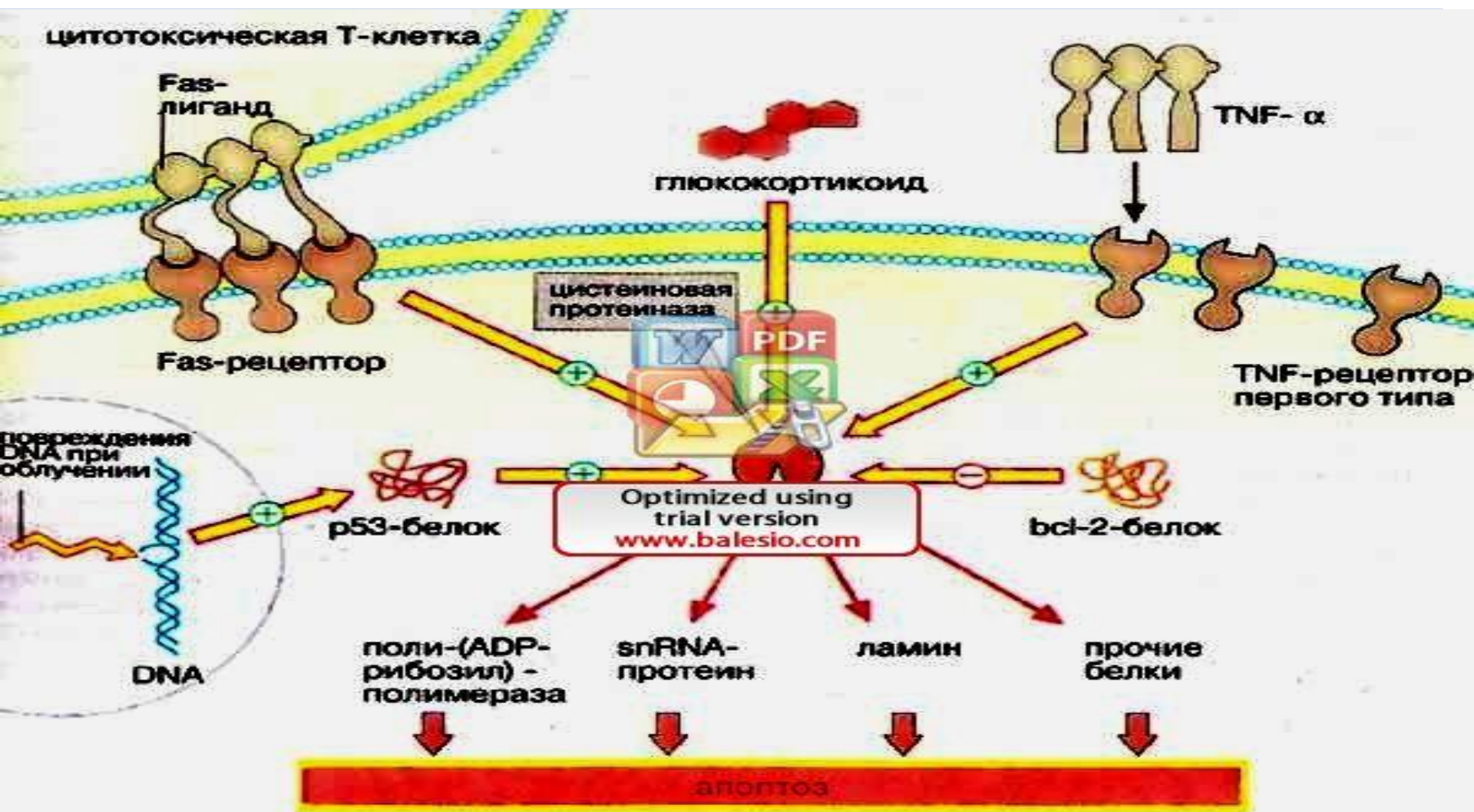
- **Р-гликопротеид** – транспорт. АТФ-аза, плазм. мембранах многих тканей (почек, ЖКТ)  
Мм 170 kD
- Осн. функция – экскреция ионов  $Cl^-$  и гидрофобных ксенобиотиков
- При химиотерапии в опухолевых клетках резко возрастает индукция Р-гликопротеида, что снижает эффективность лечения

# 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

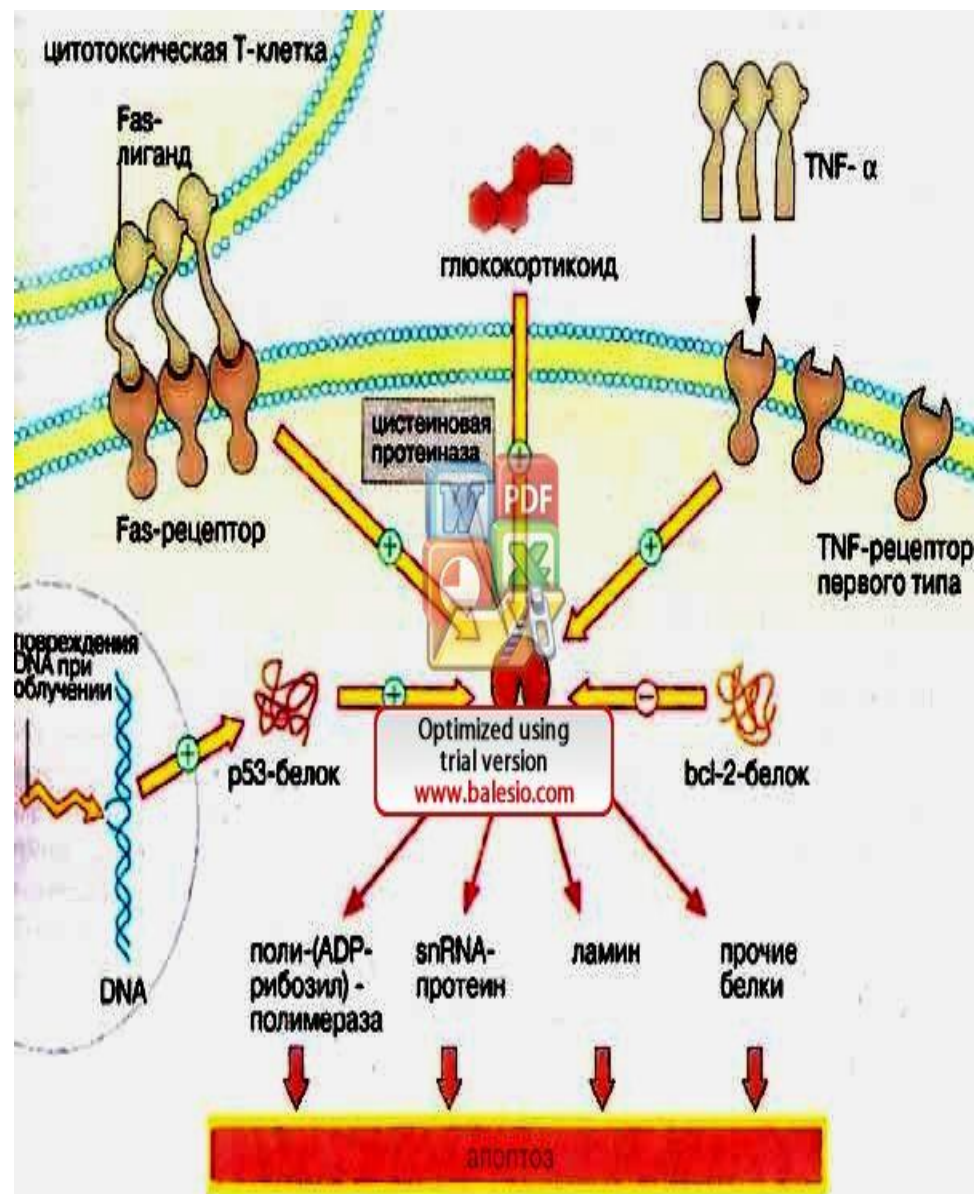
# Механизмы регуляции апоптоза





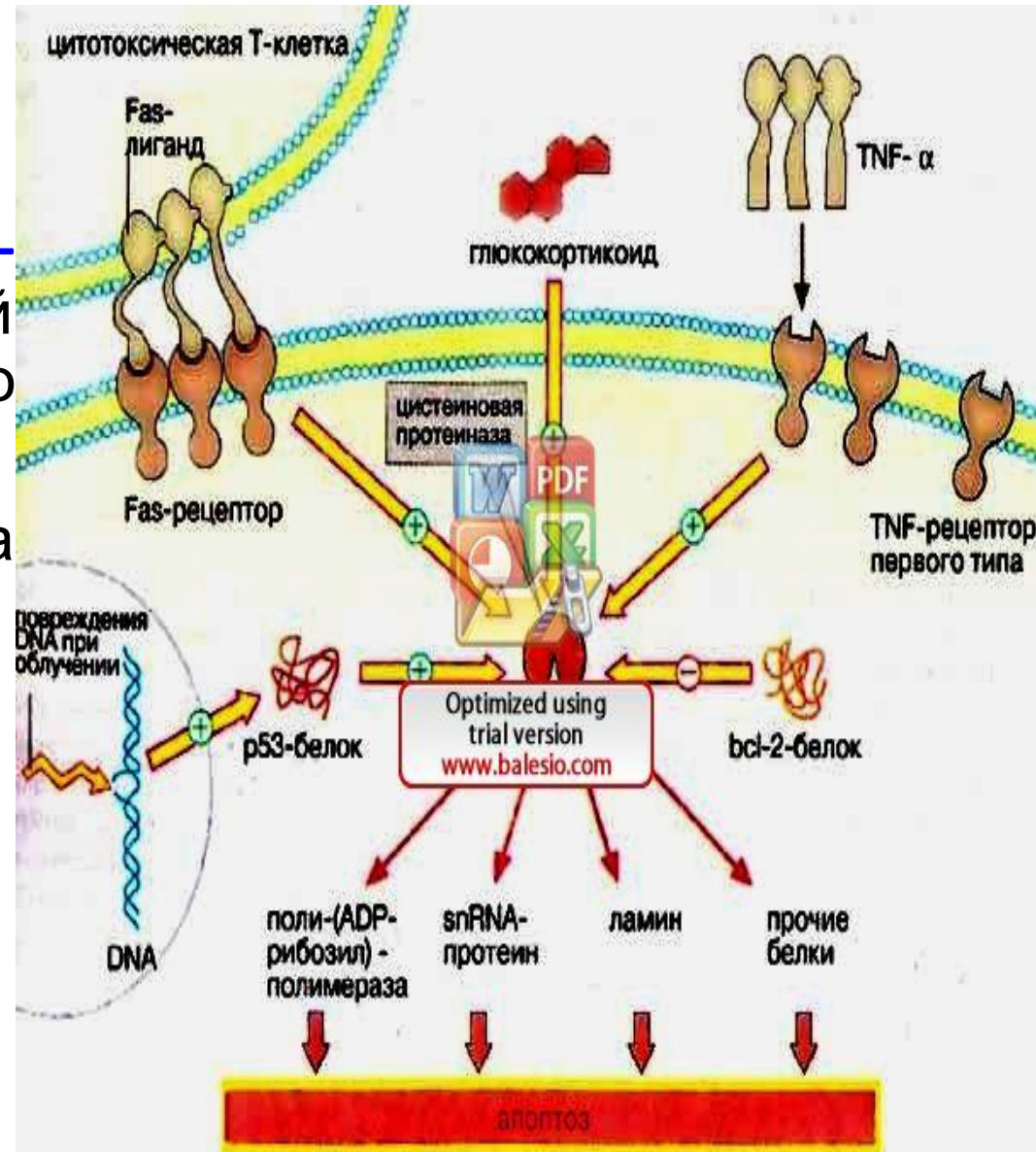
# 1 путь активации апоптоза:

- Фактор некроза опухолей [ $\alpha$ -ФНО ( $\alpha$ TNF)] связывается с ФНО-рецептором и запускает апоптоз.
- Центральную роль в регуляции апоптоза играют **цистеиновые протеиназы** (интерлейкин расщепляющие ферменты - **каспазы**).
- Их активация через ФНО-рецептор приводит к расщеплению:
  - поли-(АДФ-рибозил)-полимеразы,
  - белков sn-RНК (малоядерных РНК),
  - ламина (белка ядерной мембраны) и др. белков.



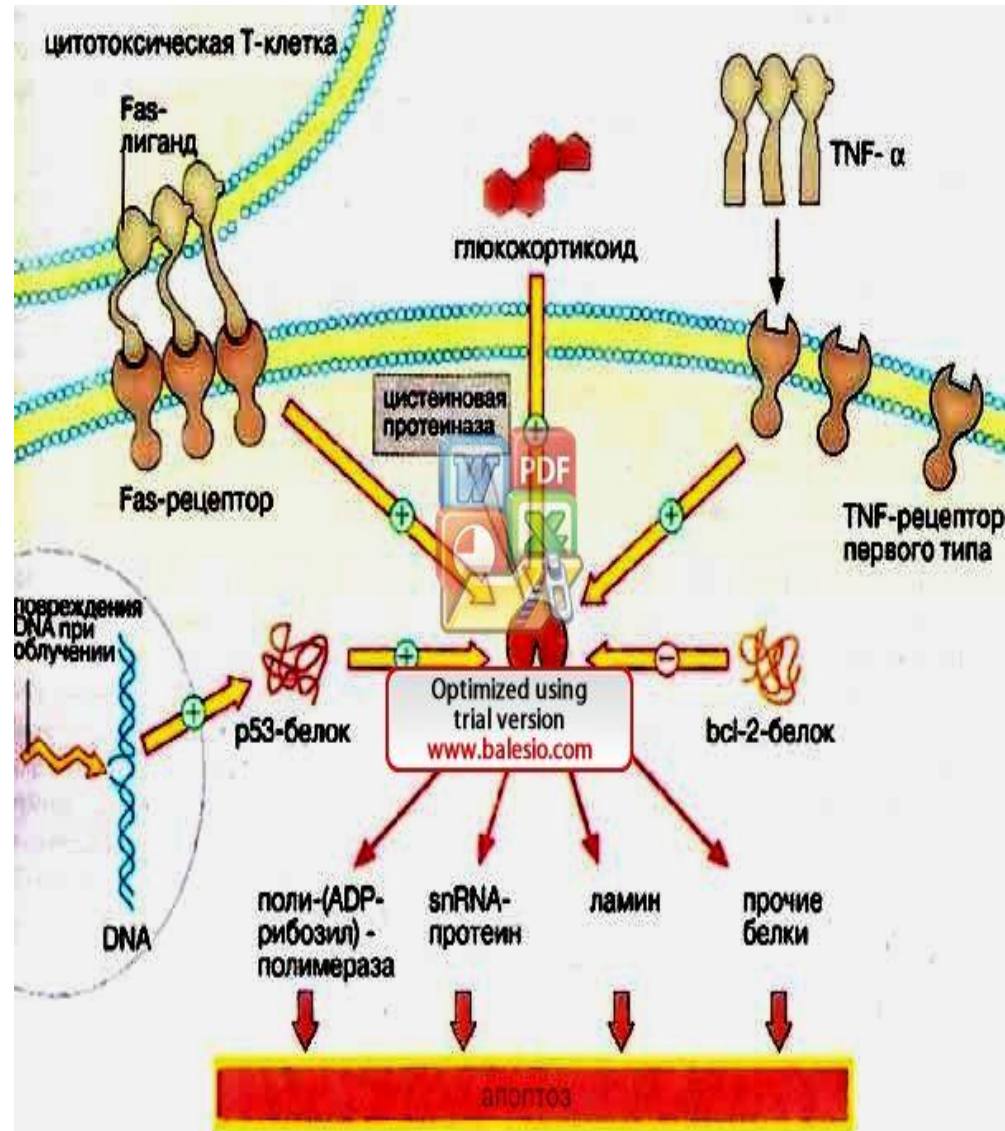
# 2 путь активации апоптоза:

- По аналогичному пути реализуется сигнал от **Fas-лиганда**, белка клеточной мембраны соседних клеток
- Fas-лиганд в виде тримера связывается с **Fas-рецептором** передавая сигнал на каспазы.
- ФНО- и Fas-специфичные рецепторы активируются путем образования олигомеров.



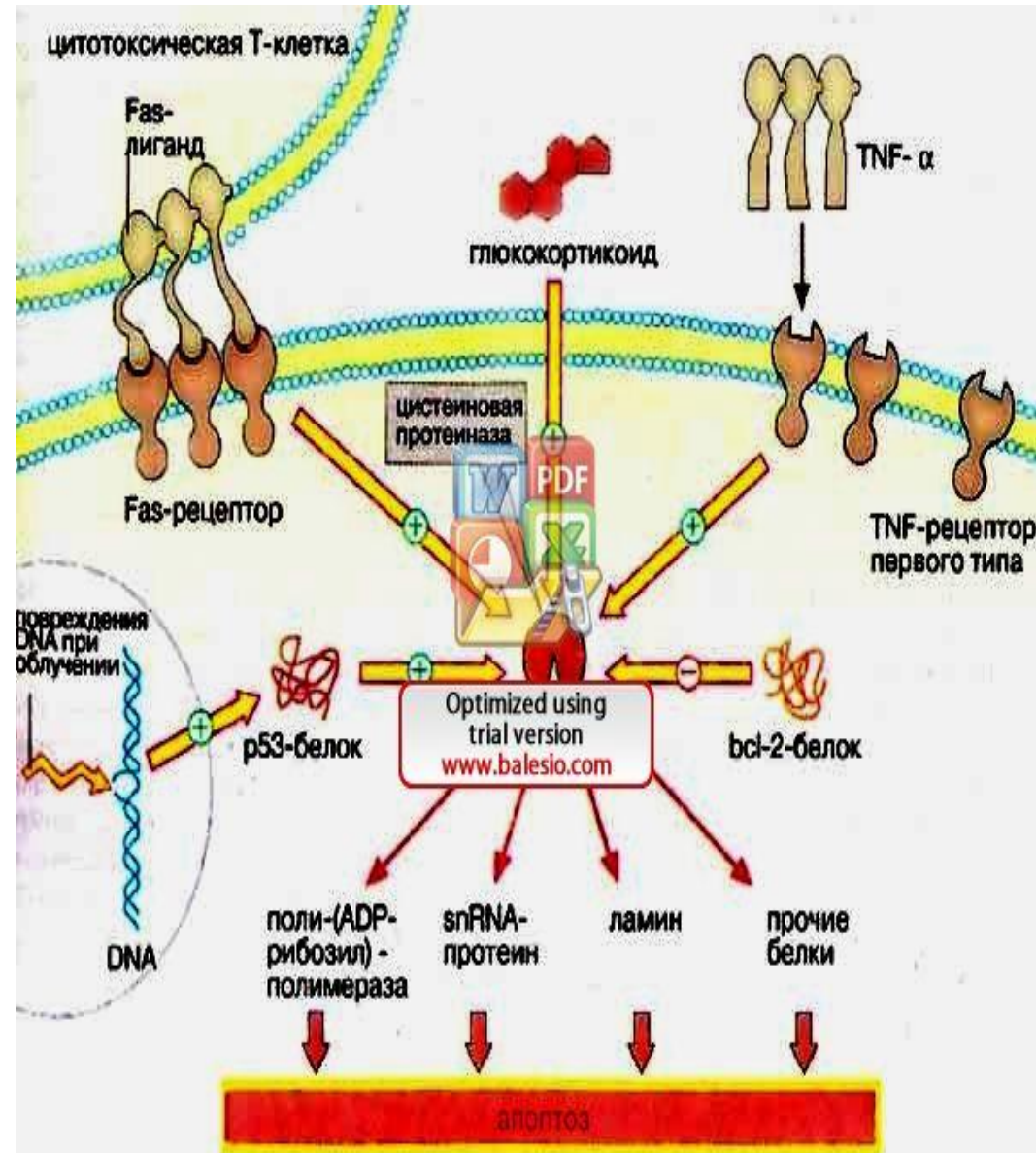
# 3 путь активации апоптоза:

- Источником сигнала м.б. клеточное ядро.
- **Белок p53**, продукт онко-супрессорного гена, который тоже активирует каспазы, может быть активирован посредством нерепарабельного разрыва ДНК.
- Утрата клеткой белка p53 ведет к повышенной скорости роста опухоли.



# Ингибиторы апоптоза

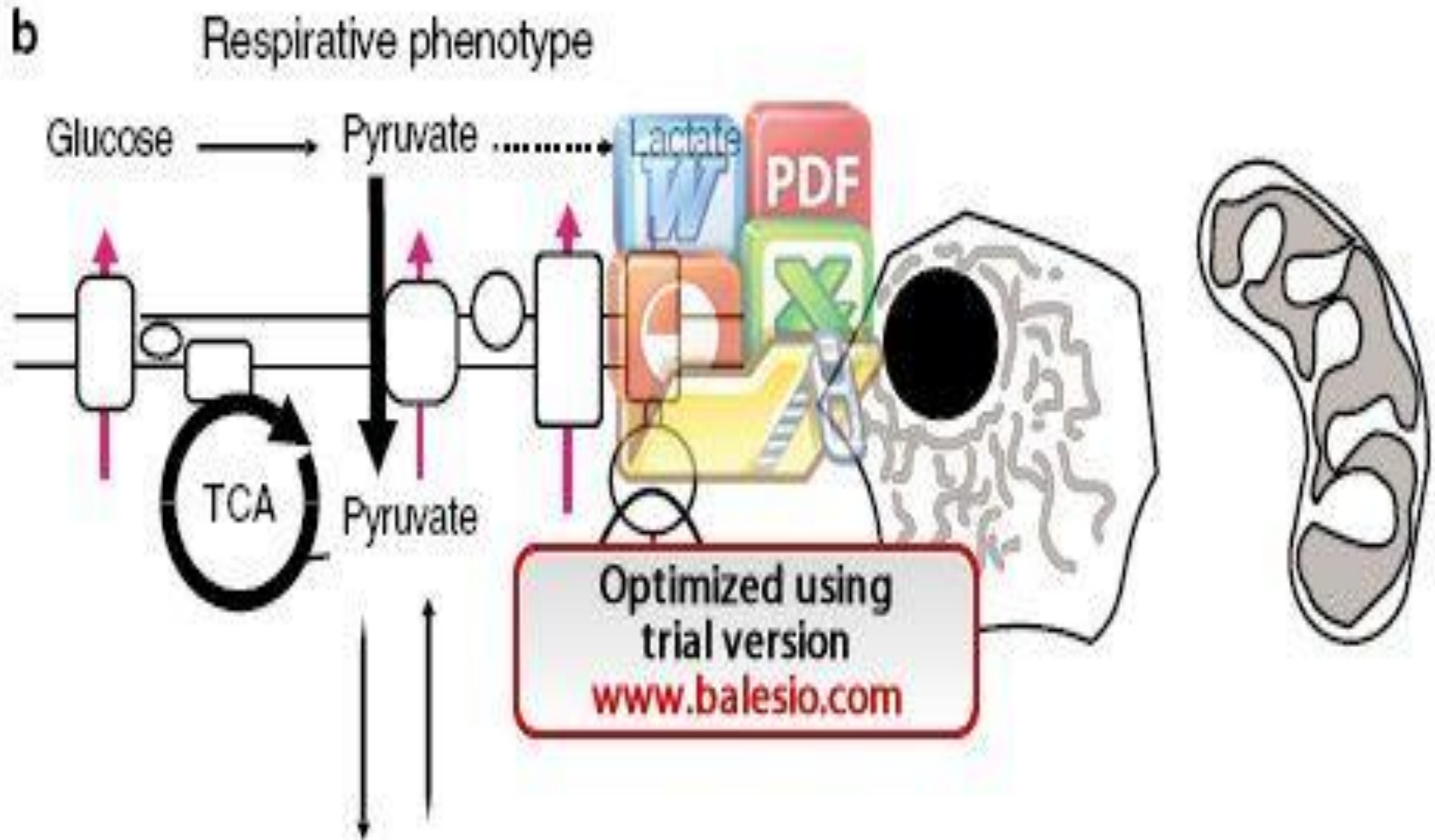
- Сигналам, активирующим апоптоз, противостоят, блокирующие сигналы.
- К ним относится **белок bcl-2** или родственные белки. Ген этого белка присутствует в геноме некоторых вирусов.
- С помощью **белка bcl-2** вирусы тормозят апоптоз, препятствуя преждевременной гибели клетки-хозяина.



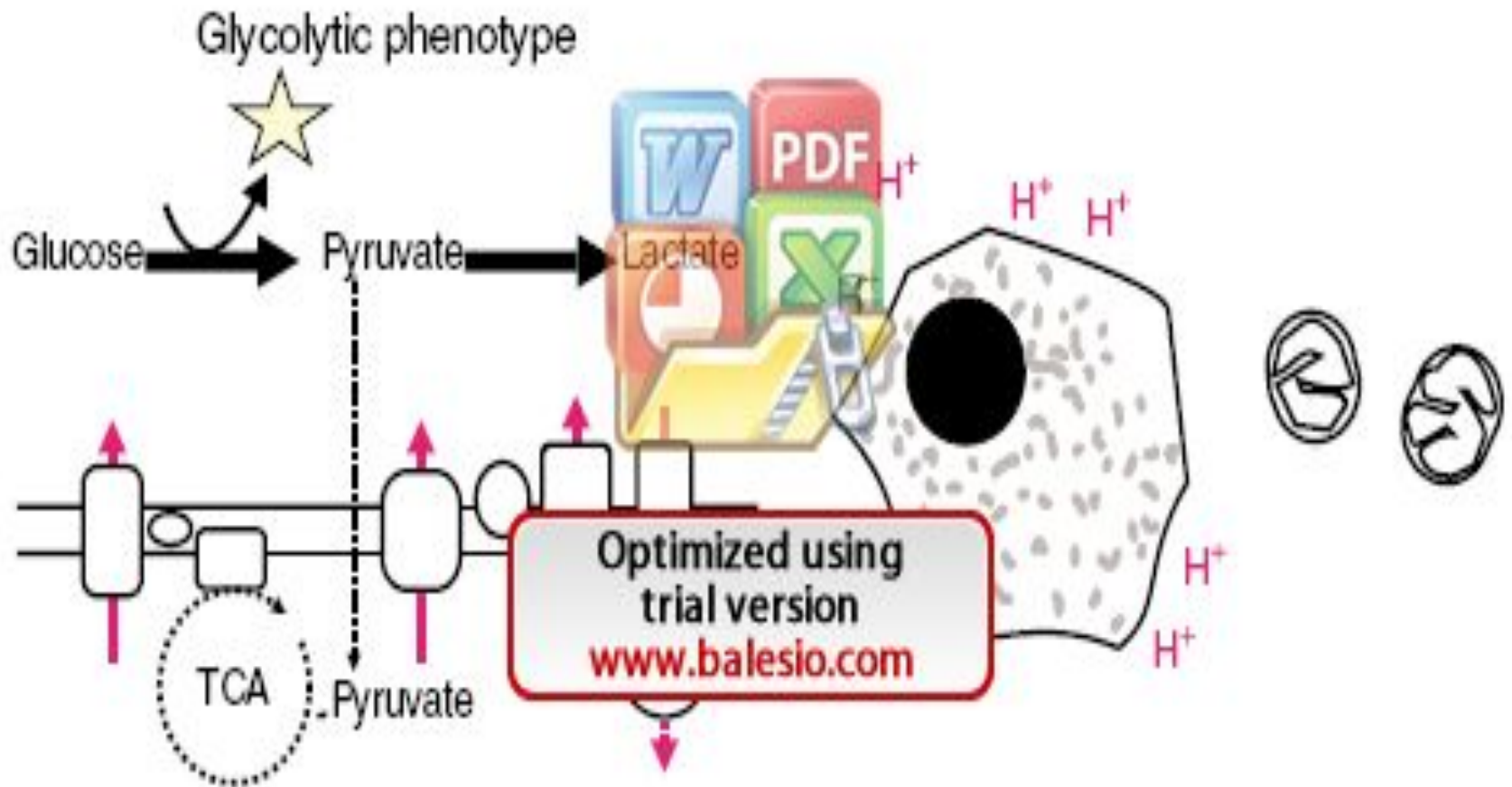
Б. Регуляция апоптоза

# Дыхательный фенотип ткани

(миокард, НС)



# Гликолитический фенотип опухоли



# Трансформация метаболического фенотипа опухоли

# Особенности метаболизма опухоли

## (прод)

### В связи с этим опухоль:

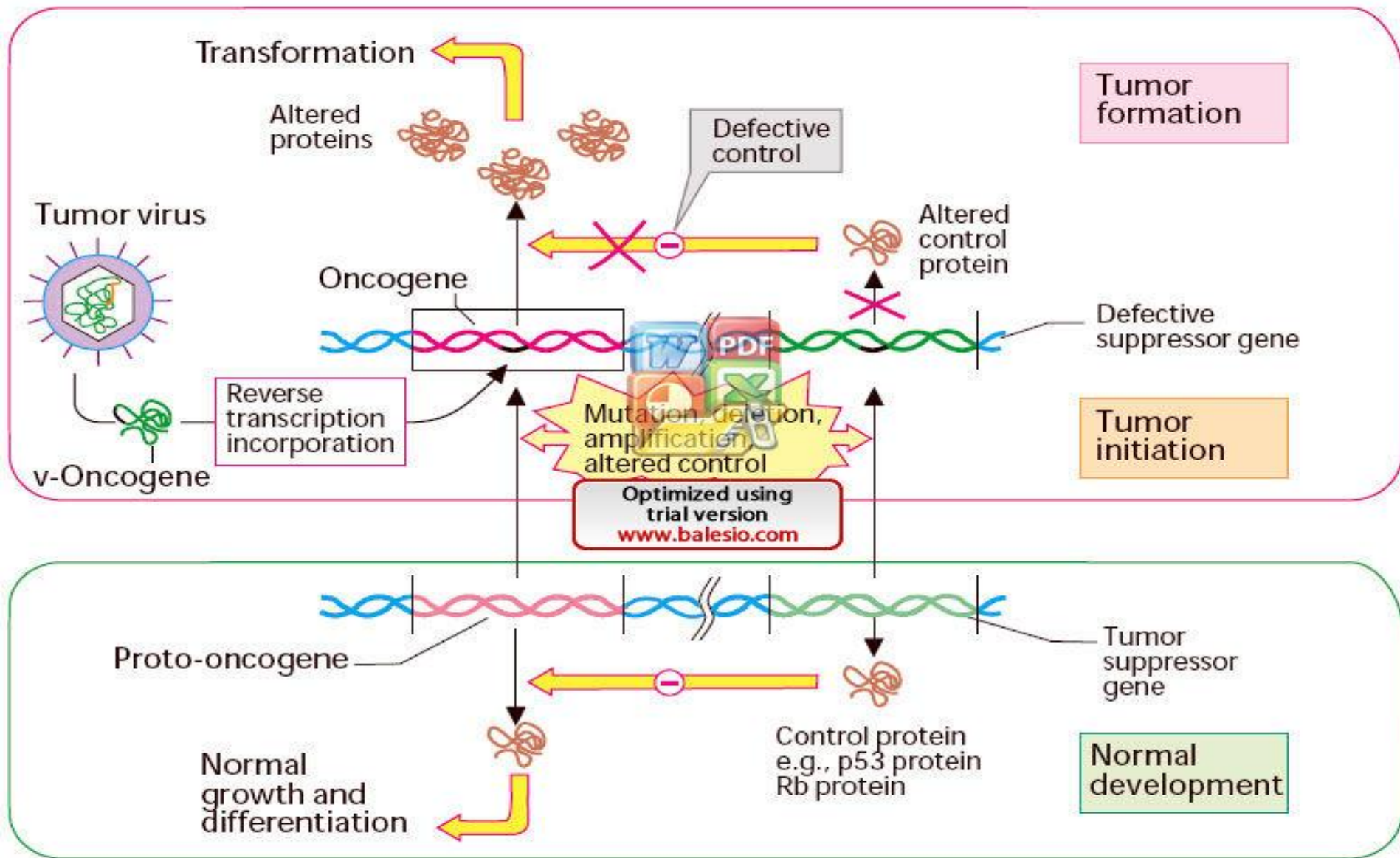
- Является ловушкой глюкозы, АК, ЖК, АО и др.
- Ведет «крупноблочное строительство» - для синтеза РНК и ДНК использует целые блоки нуклеотидов
- Синтезирует эмбриональные белки и ферменты (α-ФП, РЭА, теломераза)
- Изменяется структура плазм мембран – снижен синтез интегринов, адгезивных молекул
- Усиливается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



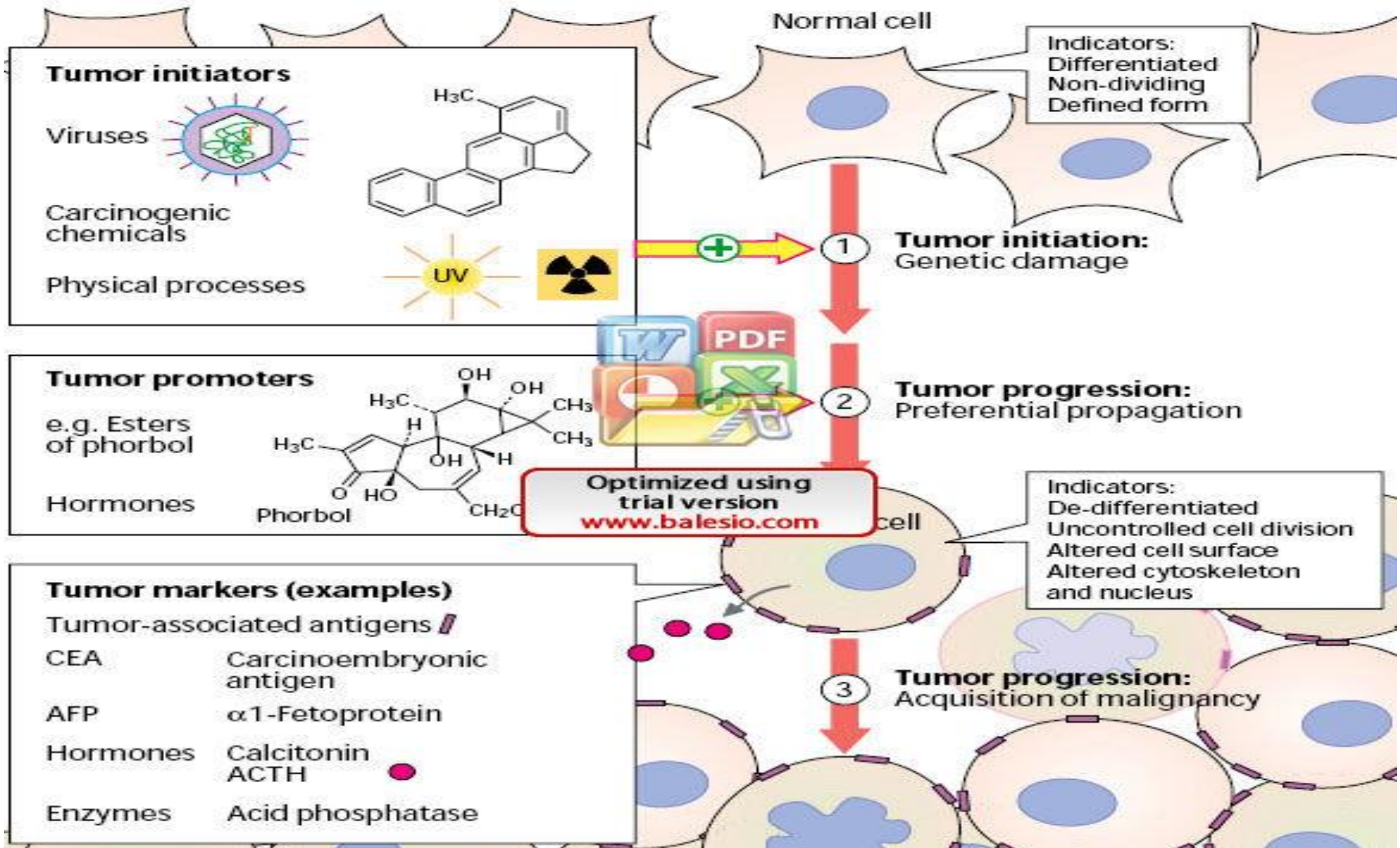
# Онкогены, протоонкогены и гены супрессоры опухоли

- **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

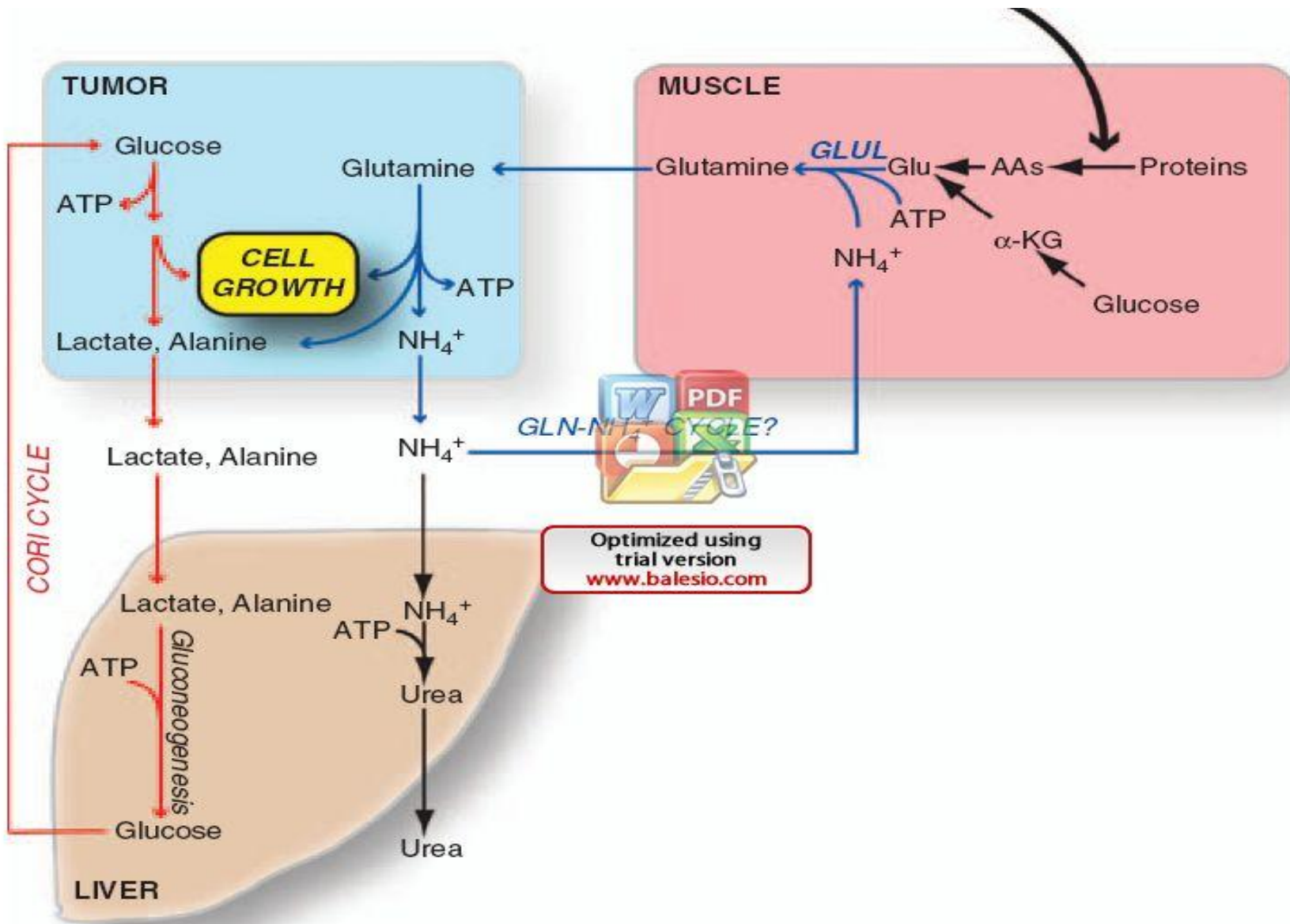
# Основные подходы лабораторной диагностики опухолей

- 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  $\text{NH}_4^+$ .
- 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).  $\text{NH}_3$  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 $\beta$ , 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