

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-6-3-10
© Коллектив авторов, 2020

*Л. А. Браун**, *Э. Э. Варпетян**, *Г. А. Завьялов**,
*Ф. В. Куликов**, *В. Е. Мариевский**, *Д. А. Тюльганова**,
*А. О. Шишненко**, *Д. С. Степанова***, *Н. Л. Шимановский*

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ — НОВЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова Минздрава России, Россия, 117997, Москва,
ул. Островитянова, д. 1.

* - авторы внесли равноценный вклад в создание статьи.

** e-mail: Dina.Stepanova@gmail.com

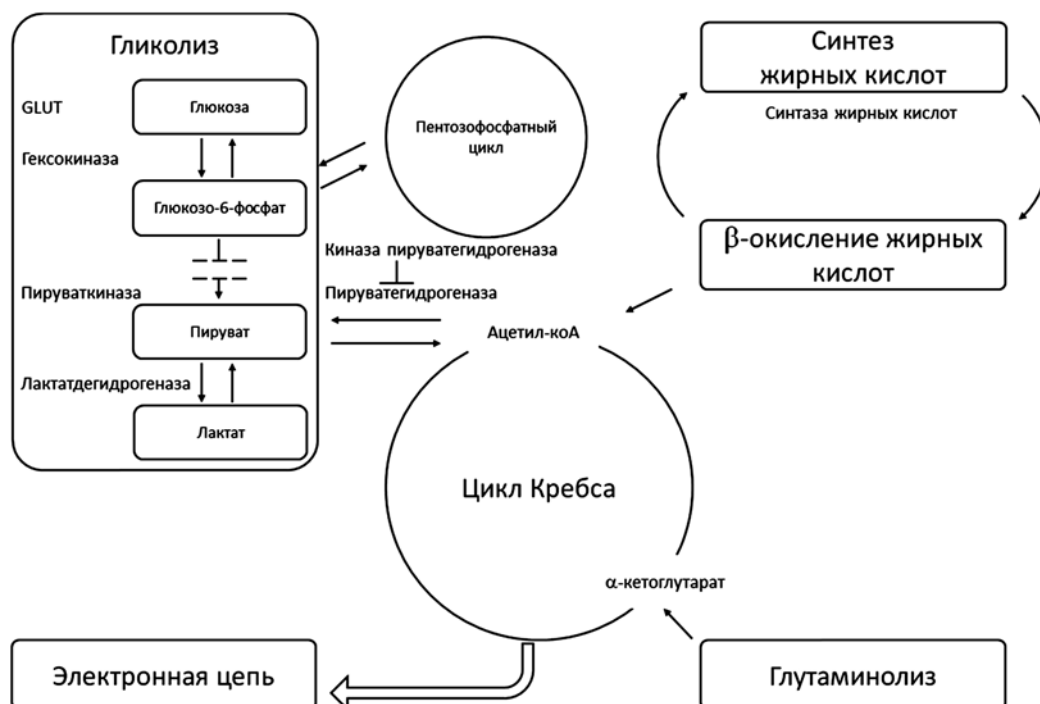
В последнее время всё больше внимания уделяется изменениям метаболизма, происходящим в клетке при опухолевой трансформации. После того, как Отто Варбург описал предпочтение раковыми клетками гликолиза окислительному фосфорилированию даже в присутствии кислорода, было установлено, что злокачественная трансформация сопровождается также усилением синтеза жирных кислот и глутаминолиза. Настоящий обзор освещает основные метаболические ферменты, играющие роль в опухолевой трансформации метаболизма и составляющие группу метаболических онкогенов, а также способы воздействия на данные ферменты. Сделан вывод о том, что трансформация метаболизма при опухолевом перерождении клеток открывает возможности для направленного воздействия на новообразования и предоставляет новое поле для разработки противоопухолевых лекарственных средств.

Ключевые слова: злокачественная трансформация метаболизма; метаболическая триада; гликолиз; синтаза жирных кислот; глутаминаза.

Клетки млекопитающих получают энергию несколькими взаимосвязанными способами: в большинстве тканей в присутствии кислорода предпочтительным путём является цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) с последующим переносом по электронной цепи митохондрий. В условиях гипоксии, а также в некоторых тканях, например, мышечной, предпочтение отдается гликолизу; в условиях дефицита углеводов цикл Кребса подпитывается за счёт бета-окисления жирных кислот; и, наконец, в условиях длительного дефицита питательных веществ клетка может получать энергию при распаде белков благодаря глутаминолизу (рисунок).

Однако при злокачественной трансформации клетки регуляция метаболических путей резко меняется. Первые сведения о перестройке метаболизма, протекающей в раковых клетках, известны давно. Ещё в 20-х гг. XX века немецкий биохимик Отто Варбург выдвинул свою гипотезу канцерогенеза, заключающуюся в предположении, что переход от кислородного дыхания для получения энергии к гликолизу является первопричиной раковой трансформации клеток [1]. Варбург заметил, что раковые клетки предпочитают гликолиз окислительному фосфорилированию даже в присутствии кислорода. Данное явление впоследствии получило название “эффект Варбурга”. В дальнейшем было установлено, что такое поведение раковых кле-

ток является следствием, а не причиной, и интерес к изучению метаболизма рака стал со временем пропадать. Но после определенного прорыва в изучении процессов онкогенеза интерес к изучению метаболизма опухолей снова вырос. На сегодняшний день известно, что характерными чертами для опухолевых клеток являются способность к быстрому росту и постоянной пролиферации, а также способность избегать апоптоза. Из-за высокой скорости пролиферации у раковых клеток повышена потребность в энергии. Однако из-за накопления мутаций и общей тенденции к сокращению длительности клеточного цикла и ликвидации “лишних” процессов в опухолях нормальные пути энергетического обмена оказываются невыгодными. К тому же известно, что микроокружение опухоли является дефицитным по содержанию нутриентов [2], так как образование новых сосудистых сетей не успевает за ростом клеточной массы опухоли, а развивающиеся сосуды являются дефектными. Поэтому раковые клетки нашли другой путь восполнения необходимых веществ и энергии, перестроив свой метаболизм. Описана так называемая “раковая метаболическая триада” — комплекс метаболических сдвигов, наиболее характерных для большинства опухолевых клеток. Данный комплекс включает усиление аэробного гликолиза, повышение уровня синтеза жирных кислот, а также повышение активности систем, отвечающих за



Основные пути получения энергии в клетке млекопитающего

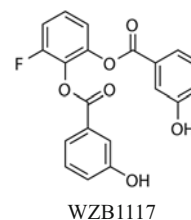
глутаминолиз [3]. Другие энергетические пути, такие как окислительное фосфорилирование, тоже могут быть активированы в некоторых злокачественных опухолях, а также, например, в доброкачественных опухолях нервной системы [3, 4]. Изучение метаболизма раковых клеток позволяет находить новые подходы к преодолению проблемы устойчивости некоторых типов рака к химиопрепаратам за счет воздействия на различные этапы метаболизма.

В данном обзоре освещаются ключевые метаболические ферменты, играющие роль в патогенезе опухолей, а также способы воздействия на эти ферменты.

Гликолиз

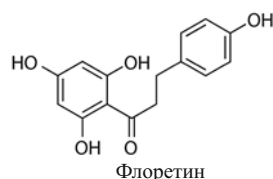
У большинства опухолевых клеток в результате постоянного пребывания в состоянии гипоксии приоритет отдаётся получению энергии с помощью аэробного гликолиза, а вклад окислительного фосфорилирования снижается [3]. Основными гликолитическими ферментами и регуляторами являются переносчики глюкозы, гексокиназа, пируваткиназа M2 и лактатдегидрогеназа. Переносчики глюкозы GLUT играют большую роль в активации гликолиза, и механизм их патологической регуляции довольно хорошо изучен. Одним из важных этапов является активация сигнального пути PI3K — mTOR, что, в свою очередь, приводит к активации гипоксия-индуцируемого фактора транскрипции HIF1. Это транскрипционный фактор также может быть активирован в условиях достаточного содержания кислорода в результате часто наблюдаемых в раковых клетках мутаций, вызывающих патологическую активацию PI3K [5]. Активированный HIF1 вызывает экспрессию белка GLUT1 и других переносчиков глюкозы. У раковых клеток постоянно активный HIF1 обуславливает повышение уровня экспрессии GLUT1 [2].

Состав семейства GLUT насчитывает 14 белков, обеспечивающих транспорт глюкозы через клеточную мембрану. Экспрессия различных транспортеров GLUT является тканеспецифичной. Так, например, для тканей нервной системы, являющейся самой потребляющей глюкозу системой, характерна экспрессия GLUT1 (глия) и GLUT3 (нейроны) [6]. Повышенная экспрессия белков GLUT наблюдается при развитии таких онкологических состояний, как рак прямой кишки, рак легкого, рак молочной железы, множественная миелома, рак шейки матки, лимфома центральной нервной системы [6]. Показано, что типы рака с повышенной экспрессией GLUT обладают резистентностью к химиотерапии и лучевой терапии [6]. Например, клетки глиобластомы человека, устойчивые к бевацизумабу, характеризовались большей экспрессией GLUT3, а соответственно и более высоким уровнем потребления глюкозы, чем бевацизумаб-чувствительные клетки [6]. Целесообразно было проверить возможность применения ингибиторов транспортеров глюкозы для преодоления резистентности опухоли к химиотерапии, так как они вызывают метаболический стресс в опухолевых клетках, лишая их глюкозы и тем самым уменьшают их жизнеспособность в дополнение к действию химиопрепарата.

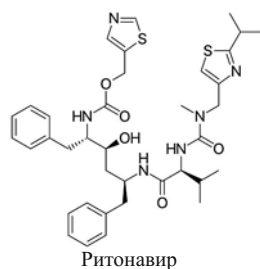


Действительно было установлено, что ингибитор транспортера глюкозы GLUT1 WZB1117 усиливает

противоопухолевый эффект цисплатина и паклитаксела в отношении рака легкого и рака молочной железы [3].



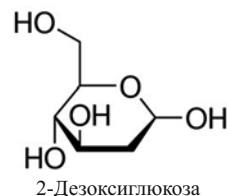
Другой ингибитор GLUT1 — флоретин — также способствовал преодолению гипоксия-опосредованной лекарственной устойчивости и увеличил противоопухолевое действие даунорубина в случае рака прямой кишки и лейкоза [3].



Блокатор GLUT4 ритонавир усиливал действие доксорубина на клетки миеломы [3].

Активность GLUT-1 можно уменьшить также опосредованно через фактор, ингибирующий HIF-1 (FHN-1), что было показано на клеточной линии глиобластомы человека U87. Было установлено, что ингибирование FHN-1 снижает экспрессию GLUT-1 в этих клетках, что может открыть новые подходы к терапии глиобластомы [7]. Ещё одним перспективным подходом к влиянию на метаболизм опухолей нервной системы является применение метформина, являющегося активатором АМФ-активируемой протеинкиназы (АМПК), в активном состоянии подавляющей mTORC1, благодаря чему блокируется дальнейшая передача сигнала и снижается экспрессия GLUT-1 [8].

К другим важным ферментам, участвующим в гликолизе, относится гексокиназа (ГК) — тканеспецифичный фермент, осуществляющий фосфорилирование глюкозы до глюкозо-6-фосфата. Эта реакция является первой стадией гликолиза и отправной точкой пентозофосфатного пути, в ходе которого, параллельно гликолизу, генерируется НАДФ-Н, пентозы и рибозо-5-фосфат — предшественник синтеза нуклеотидов. Таким образом, гексокиназа участвует в важнейших катаболическом и анаболическом процессах в клетке, играя одну из ключевых ролей в метаболизме глюкозы, поддерживая его на высоком уровне, достаточном для сохранения жизнеспособности опухолевых клеток [9, 10]. Важнейшей изоформой гексокиназы с клинической точки зрения является ГК II типа. Кроме того, существует ряд доказательств того, что гексокиназа может регулировать и процесс апоптоза [11].



Ее ингибиторы, такие как 2-дезоксиглюкоза (2-ДОГ), 3-бромпируват (3-БП), бенсеразид и лонидамин показали значительную эффективность в доклинических испытаниях. К примеру, для лечения ряда опухолей высокую эффективность демонстрируют глюкокортикоиды. Однако клеточная резистентность к глюкокортикоидам является распространенным явлением, что приводит к неэффективности такого лечения примерно в 20 % случаев. Было показано, что совместное введение глюкокортикоидов с 3-бромпируватом, 2-дезоксиглюкозой или лонидамином повышает чувствительность к глюкокортикоидам *in vitro* [12].

2-Дезоксиглюкоза — молекула глюкозы, у которой 2-гидроксильная группа заменена водородом, не может подвергаться дальнейшему гликолизу. В большинстве клеток ГК фосфорилирует 2-дезоксиглюкозу в 2-дезоксиглюкозо-6-фосфат, конкурентно ингибирующий синтез глюкозо-6-фосфата. Фосфорилированная 2-дезоксиглюкоза не может быть метаболизирована и ее накопление приводит к истощению АТФ и возможной гибели клеток [13]. Об использовании этого аналога глюкозы для лечения рака впервые сообщили в исследовании [14], перед облучением (5 Гр) вводили 2-дезоксиглюкозу, чтобы повысить эффективность облучения при раке мозга (глиома). Совместно с 2-дезоксиглюкозой вводили 2 противоопухолевых вещества, АВТ-263 (navitoclax) и АВТ-737, которые являются антагонистами семейства Bcl-2 и вызывают апоптоз в некоторых клетках [15]. Результаты показали, что такой подход очень эффективен в отношении опухолевого ксенотрансплантата клеток метастазирующего химиорезистентного рака предстательной железы человека. Также было показано, что 2-дезоксиглюкоза восстанавливает чувствительность клеток лимфомы к апоптозу, вызванному АВТ-737 [15]. Похожие результаты были получены для комбинации 2-ДОГ и трастузумаба в отношении трастузумаб-резистентных опухолей молочной железы как *in vitro*, так и *in vivo* [16].



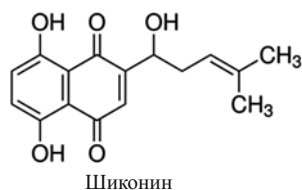
Ингибируя ГК II, 3-бромпируват активирует митохондриальный путь гибели клеток и снижает уровень АТФ [17, 18]. Несмотря на многообещающие результаты, было обнаружено, что 3-бромпируват вызывает аутофагию, которая повышает устойчивость клеток рака молочной железы к лечению самим 3-бромпируватом [19]. В отношении рака толстой кишки было показано, что 3-бромпируват вызывает гибель клеток химиорезистентных опухолей. Снижение уровня АТФ привело

к повышению восприимчивости опухолей к оксалиплатину и 5-фторурацилу — химиотерапевтическим средствам первой линии для лечения колоректального рака [20]. Также было обнаружено, что 3-бромпируват снижает уровни АТФ в злокачественных клеточных линиях множественной миеломы и в лейкозных клетках [21]. Наиболее вероятным механизмом его действия считается инактивация АТФ-зависимых АВС-транспортёров, сверхэкспрессированных в злокачественных клетках, что и приводит к восстановлению их восприимчивости к химиотерапевтическим средствам в случае резистентности. Тем не менее для объективной оценки терапевтического потенциала 3-бромпирувата пока недостаточно данных.

Пируваткиназа М2. Пируваткиназа (ПК) является ферментом, осуществляющим последнюю скорость-лимитирующую стадию гликолиза, и катализирует превращение фосфоенолпирувата и АДФ в пируват и АТФ. У млекопитающих существует 4 изоформы ПК (M1, M2, L и R), которые экспрессируются в различных типах клеток [22, 23]. ПКМ2 экспрессируется преимущественно в опухолевых клетках и играет важную роль в метаболизме и росте опухоли [24].

В нескольких исследованиях была выявлена отрицательная корреляция между экспрессией ПКМ2 и лекарственной устойчивостью. Было показано, что снижение уровня и активности изоформы ПКМ2 связано с устойчивостью к цисплатину клеток рака яичника [25]. В оксалиплатин-резистентных клетках колоректального рака также было показано снижение уровня мРНК ПКМ2 [26]. Низкий уровень мРНК ПКМ2 у пациентов ассоциирован с высоким уровнем белка p53 и является предиктивным признаком устойчивости к оксалиплатину [26]. Напротив, в клетках колоректального рака, устойчивого к 5-фторурацилу, уровень секретруемой ПКМ2 значительно повышен, как и уровень ПКМ2 в сыворотке крови пациентов с колоректальным раком, устойчивым к 5-фторурацилу, что свидетельствует о связи активации ПКМ2 с развитием устойчивости к 5-фторурацилу при раке толстой кишки [27].

Изменения в экспрессии ПКМ2 связаны с лекарственной устойчивостью в различных опухолях, что делает ПКМ2 привлекательной мишенью для адъювантной терапии рака, однако основным способом подавления активности ПКМ2 с этой целью пока остаётся инактивация её экспрессии с помощью шпилечных или малых интерферирующих РНК [28, 29]. Единственным низкомолекулярным ингибитором ПКМ2, который пытались применять для преодоления лекарственной устойчивости, пока остаётся шиконин.



Шиконин представляет собой природный нафтохинон, применяемый в традиционной китайской медицине в качестве противовоспалительного и антимикробного средства. В 2018 г. показали, что шиконин в

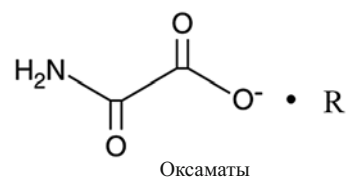
сочетании с цисплатином приводит к некроптозу в культуре цисплатин-резистентных клеток линии карциномы мочевого пузыря, а также вызывает гибель клеток, полученных из образцов цисплатин-резистентных опухолей мочевого пузыря [30].

Важнейшим ферментом, переключающим клетку с окислительного фосфорилирования на гликолиз, является лактатдегидрогеназа (ЛДГ) — фермент гликолитического пути, катализирующий стадию превращения пирувата в лактат с окислением кофермента НАДН до НАД+. Экспрессия ЛДГ значительно повышается в злокачественных новообразованиях, что позволяет активировать гликолиз и сопровождается закислением окружающих тканей и явлением лактоацидоза.

Показано, что данный фермент играет ключевую роль в прогрессировании и метастазировании опухолей [31, 32]. Аномальная регуляция ЛДГ является характеристикой опухолей, которая способствует метаболическому переключению на гликолиз, с образованием лактата в качестве побочного продукта. Повышенная концентрация лактата является предиктивным признаком злокачественности опухоли, рецидивирования, выживаемости и метастазирования у онкологических больных [31, 32]. Наиболее изученный механизм, с помощью которого ЛДГА модулирует миграцию и инвазию клеток, заключается в образовании лактата. Лактат вызывает подкисление микроокружения, что способствует инвазии опухолевых клеток за счет индукции апоптоза нормальных клеток и pH-зависимой активации металлопротеиназ (ММП) и катепсинов, которые деградируют внеклеточный матрикс и базальные мембраны [33].

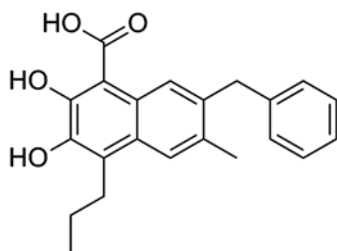
Чрезмерная экспрессия ЛДГ также коррелирует со многими другими неблагоприятными факторами, включая гипоксию [34], ангиогенез [35], пролиферацию и поглощение глюкозы [36], а также устойчивость к химиотерапии и лучевой терапии [37].

Химическое ингибирование ЛДГ или выключение гена, кодирующего этот фермент, в клетках опухоли приводит к повышению уровня окислительного фосфорилирования, усилению работы дыхательной цепи митохондрий, снижению пролиферативной активности клеток в условиях гипоксии, окислительному стрессу и подавлению онкопрогрессии [38, 39]. Выключение ЛДГ при действии фумаратгидратазы приводит к повышению уровня апоптоза при продукции активных форм кислорода (ROS) и, соответственно, замедлению прогрессии опухоли. Это делает ЛДГ привлекательной мишенью для таргетной терапии опухолей и преодоления резистентности к терапии [40]. Существует несколько ингибиторов ЛДГ, для которых показана эффективность в подавлении опухолевого роста.



Оксаматы — соли или эфиры моноамида щавелевой кислоты. Анион оксамата является структурным

аналогом аниона пирувата и ингибирует ЛДГ и процесс гликолиза [41]. Таким образом, оксамат предотвращает превращение пирувата в лактат и лактоацидоз, а следовательно, не способствует метастазированию и подавлению противоопухолевого иммунного ответа [32]. Одним из ограничивающих применение оксамата факторов является его ограниченная способность к проникновению в клетку, из-за чего для достижения значимого эффекта требуются высокие дозы [42].



FX11 (3-Дигидрокси-6-метил-7-(фенилметил)-4-пропилнафталин-1-карбоновая кислота)

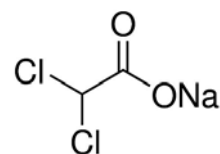
FX11 представляет собой перспективный новый специфический низкомолекулярный ингибитор ЛДГ на основе госсипола. Исследования на ксенотрансплантатах лимфомы человека и рака поджелудочной железы показали, что FX11 ингибирует прогрессирование опухоли и индуцирует значительный окислительный стресс и некроз [39]. Было показано, что, ингибируя ЛДГ и подавляя гликолиз, он замедляет рост клеток нейробластомы [43] и остеосаркомы [44], при этом отмечается повышение потребления кислорода, производство активных форм кислорода, снижение трансмембранного митохондриального потенциала и уровня АТФ [39].

Есть данные о повышении экспрессии и активности ЛДГ (изоформы А) в клетках рака молочной железы, устойчивых к паклитакселу (таксолу). Таксол-устойчивые клетки более чувствительны к ингибитору ЛДГ оксамату, что свидетельствует о важной роли ЛДГА и метаболизма лактата в механизме резистентности к паклитакселу. Оксамат потенцирует действие паклитакселя в отношении таксол-резистентных клеток и запускает в них апоптоз [45].

Ещё одним важным переключателем между гликолизом и окислительным фосфорилированием является киназа пируватдегидрогеназы (КПД). Пируватдегидрогеназа (ПДГ) отвечает за замедление процесса окисления пирувата в ацетил-КоА, с которого начинается цикл трикарбоновых кислот (ЦТК). КПД фосфорилирует ПДГ, тем самым ингибируя её ферментативную активность, в результате чего в раковых клетках возрастает уровень гликолиза. Следствием активности КПД является отключение дыхательной цепи митохондрий в результате образования из пирувата лактата вместо ацетил-КоА. КПД осуществляет фосфорилирование ПДГ по сериновым остаткам на 3 участках фермента, причем вклад фосфорилирования по первому участку в инактивацию ПДГ значительно превышает вклад остальных сайтов [46].

Всего идентифицированы 4 основные изоформы КПД. КПД1 является единственным ферментом, способным фосфорилировать ПДГ по серину третьего

сайта связывания [46]. Наиболее высокая активность наблюдается у изоформа КПД3, причём данная изоформа не ингибируется высокими концентрациями пирувата. Как и гексокиназа, и лактатдегидрогеназа, КПД 3 регулируется индуцируемым гипоксией белком 1-альфа (Hypoxia-inducible factor 1-alpha, HIF-1a). В условиях гипоксии происходит накопление HIF-1a, который при связывании с белком HIF-1β образует транскрипционный фактор, связывающийся с промотором КПД3, что приводит к переключению с митохондриального дыхания на гликолиз [47]. Вызываемая гипоксией индукция КПД3 или гиперэкспрессия КПД3 в значительной степени подавляет апоптоз клеток и повышает резистентность к цисплатину и паклитакселу. Напротив, инактивация гена КПД3 приводит к подавлению гликолиза, вызванного гипоксией, и к повышению чувствительности раковых клеток к цисплатину, паклитакселу и оксалиплатину. Более того, концентрация КПД3 возрастает и коррелирует с уровнем HIF 1a в культуре раковых клеток толстого кишечника и сильно сказывается на степени тяжести онкологии с дальнейшим неблагоприятным прогнозом выживаемости здоровых клеток [48]. Предположительно, КПД3 способствует развитию гипоксия-индуцированной лекарственной устойчивости и является потенциальной мишенью для преодоления устойчивости к химиотерапии. Учитывая большую роль КПД в опухолевом метаболизме и в поддержании выживаемости и развития опухолевых клеток, ингибиторы КПД могут быть предложены в качестве адъювантной противоопухолевой терапии. Наиболее известным ингибитором КПД является дихлорацетат натрия.



Дихлорацетат натрия

Дихлорацетат натрия ингибирует КПД, что приводит к реактивации ПДГ и переключению метаболизма с гликолиза на митохондриальное дыхание. Такое переключение не только обращает вспять эффект Варбурга, но также приводит к снижению мембранного потенциала митохондрий, а также активации митохондриальных калиевых каналов, что способствует индукции апоптоза за счет высвобождения проапоптотических молекул, включая молекулы цитохрома С и апоптоз-индуцирующего фактора (АИФ) [49]. Дихлорацетат натрия является перспективным противоопухолевым лекарственным препаратом, поскольку оказывает минимальное воздействие на здоровые клетки, он обладает низкой токсичностью при выраженном противоопухолевом эффекте. К его достоинствам можно также отнести низкую стоимость и возможность перорального применения [50]. В доклинических исследованиях было показано, что дихлорацетат запускает апоптоз опухолевых клеток, однако его эффективность как индивидуального лекарственного средства все еще изучается в текущих клинических исследованиях. В 2014 г. дихлорацетат успешно про-

шел 1 фазу клинических исследований при лечении пациентов с рецидивирующими злокачественными опухолями головного мозга, продемонстрировав в итоге безопасность, переносимость и пригодность препарата в качестве средства для лечения хронических злокачественных заболеваний [51]. Были также рассмотрены комбинации данного препарата с другими группами лекарственных средств, например комбинированная терапия дихлорацетата с омепразолом и тамоксифеном привела к полному подавлению клеточной пролиферации на примере линии фибросаркомы (*in vitro*), в то время как та же комбинация препаратов не проявила цитотоксической активности в отношении клеток здоровых фибробластов человека [52]. Более того, эти 3 лекарственных вещества были прописаны пациенту с холангиокарциномой и успешно приостановили прогрессирование опухоли на 3 мес [53]. Другие комбинации дихлорацетата также показали свою эффективность, например, комбинирование дихлорацетата с салиномицином в отношении клеточных линий колоректального рака HCT116 и DLD-1 [54], а комбинирование дихлорацетата и сулиндака — в отношении линий рака легкого и плоскоклеточной карциномы [55]. Дихлорацетат доказал свою эффективность и в качестве сенситизатора раковых клеток к радиотерапии за счёт связывания с антиапоптотическими белками семейства Bcl-2 и усиления апоптоза [56].

Синтез и бета-окисление жирных кислот

Биосинтез жирных кислот (ЖК) является одним из ключевых звеньев метаболизма клетки. В результате синтеза образуются субстраты для обновления существующих и образования новых мембран, а также субстраты для посттрансляционной модификации белков, необходимой для их нормального функционирования. Первичным субстратом для начала синтеза длинных цепей (ЖК) является малонил-коА, образующийся из ацетил-КоА, который, в свою очередь, получается из пирувата в результате реакции, осуществляющейся пируватдегидрогеназным комплексом [3].

Ключевым участником биосинтеза ЖК является синтаза жирных кислот (СЖК). Её роль заключается в наращивании углеводородной цепи ЖК от малоновой кислоты до пальмитиновой кислоты.

Экспрессия СЖК в нормальных тканях взрослого человека, как правило, очень низкая или вовсе не обнаруживается. При этом экспрессия СЖК значительно увеличивается в опухолевых клетках и коррелирует с неблагоприятным прогнозом для многих видов рака [3].

Первая связь экспрессии СЖК со злокачественными новообразованиями была выявлена в опухолях рака молочной железы в 1994 г. В дальнейшем избыточная экспрессия СЖК была описана для множества типов опухолей, включая такие заболевания, как рак поджелудочной железы, колоректальный рак, рак яичников, рак молочной железы и предстательной железы [57]. Предполагается, что ген СЖК (*FASN*) является метаболическим онкогеном. Продукты комплекса СЖК быстро потребляются активно делящимися опухолевыми клетками, которым необходим субстрат для

образования новых мембран, что так важно для роста и выживания опухоли [3].

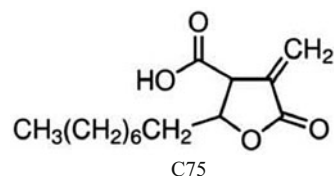
Являясь критической точкой для жизненного цикла опухолевых клеток, СЖК может быть использована как перспективная мишень для воздействия противоопухолевой терапии.

Несколько ингибиторов СЖК находятся в стадии доклинических испытаний. Многочисленные исследования подтверждают, что основным механизмом действия ингибиторов СЖК является нарушение синтеза мембран [57].

Ещё одним вариантом действия ингибиторов СЖК является накопление токсичных промежуточных продуктов синтеза ЖК. Так, при блокаде первой стадии синтеза — конденсации малоната — происходит накопление последнего и активация пальмитоилкарнитин-трансферазы 1 с последующим запуском церамидопосредованного апоптоза через гены *BNIP3*, *TRAIL* и *DAPK2* [58].

В дополнение к нарушению синтеза липидных мембран и накоплению токсичного малоната ингибирование СЖК также может влиять на посттрансляционную модификацию белков, нарушая пальмитоилирование. Наиболее хорошо описан данный эффект для внутриклеточного пути Wnt/ β -катенин. Нарушение пальмитоилирования Wnt приводит к нарушению его секреции из клетки, что препятствует его дальнейшему связыванию с мембранным рецептором и последующей передаче сигнала внутрь клетки, вызывающего активацию β -катенина, тем самым оказывая опосредованное, но более специфичное влияние на активацию β -катенина [57].

Другим возможным механизмом цитотоксического влияния ингибиторов СЖК на опухолевые клетки может быть её участие в сигнальных путях, связанных с протеинкиназой С (PKC) и путём PI3K/AKT/mTOR. В недавнем исследовании было показано, что ингибирование СЖК приводило к снижению уровня диацилглицеридов (ДАГ), которые, как известно, оказывают стимулирующее влияние на PKC. Со снижением уровня ДАГ снижается и активность PKC, что в итоге приводит к апоптозу клеток. Опухолевые клетки, в которых не наблюдалось снижения уровня ДАГ при ингибировании СЖК, апоптозу не подвергались [59].



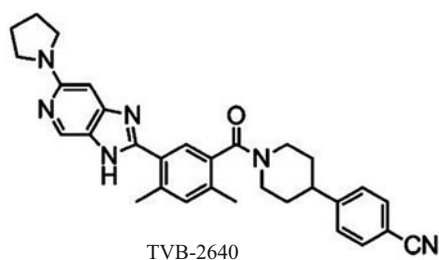
Ингибирование СЖК нарушает положительную обратную связь и снижает уровень экспрессии СЖК. Сама по себе СЖК увеличивает передачу сигналов через ось PI3K/AKT/mTOR, в результате чего повышает

ся активность mTOR, что приводит к увеличению активности транскрипционного фактора — белка, связывающего стероидный регуляторный элемент-1 (sterol regulatory element-binding protein 1, SREBP-1), ответственного за экспрессию СЖК [60].

Среди ингибиторов активности СЖК одним из первых следует церуленин — антибиотик, первоначально выделенный из *Cephalosporium caerulens*. Механизм действия церуленина заключается в том, что он формирует аддукт с остатком цистеина в активном центре в домене β -кетоацилсинтазы СЖК. Церуленин ингибирует пролиферацию и вызывает апоптоз в клетках рака молочной железы *in vitro* [61]. Также было показано, что в *Nf2*-отрицательных клетках при нейрофиброматозе 2 типа повышен уровень метаболизма жирных кислот, поэтому было предложено использование церуленина в качестве вещества, целенаправленно уничтожающего клетки НФ2-ассоциированных опухолей. В результате обработки церуленином *Nf2*-отрицательные клетки гибли из-за нарушения синтеза пальмитиновой кислоты и накопления токсичного малонил-КоА [4]. К сожалению, основным препятствием в использовании церуленина или производных С75, мишенью которых является СЖК, является их побочное действие, проявляющееся в снижении аппетита и потере массы тела [61].

К числу ингибиторов СЖК нового поколения относятся GSK2194069, JNJ-54302833, IPI-9119 и TVB-2640 [61].

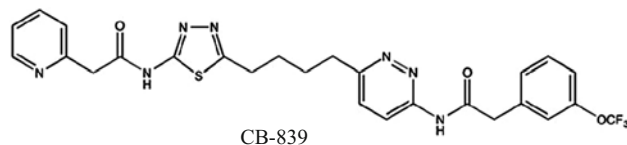
GSK2194069, JNJ-54302833 и TVB-2640 ингибируют β -кетоацил-редуктазную активность СЖК, связываясь с сайтом для субстрата [57]. IPI-9119 ингибирует тиюэстеразный домен СЖК за счет ацилирования остатка цистеина в активном сайте домена [62].



На данный момент единственный клинически доступный ингибитор СЖК, перешедший в фазу клинических исследований, — TVB-2640. TVB-2640 в настоящий момент находится во второй фазе клинических исследований. TVB-2640 не имеет значительных желудочно-кишечных, гематологических и других побочных действий. При сочетании TVB-2640 с паклитакселом в отношении перитонеальной серозной карциномы, а также немелкоклеточного рака легкого и рака молочной железы, наблюдался частичный ответ на терапию [57]. В рамках второй фазы клинических исследований исследуется совместное использование TVB-2640 и бевацизумаба для лечения низкодифференцированной астроцитомы. Сочетание TVB2640 с бевацизумабом хорошо переносится, а 6-месячное выживание без прогрессирования и общая выживаемость пациентов спустя 9 месяцев составляют 50 % [63].

Глутаминолиз

Ещё одним важным для опухолевых клеток способом получения энергии является глутаминолиз, который протекает в 2 стадии: сначала глутаминаза превращает глутамин в глутамат, затем из глутамата с помощью глутаматдегидрогеназы образуется альфа-кетоглутарат, участвующий в цикле трикарбоновых кислот [64]. Как и *FASN*, ген глутаминазы (*GLS*) рассматривают как метаболический онкоген, а сам фермент — как перспективную мишень для разработки противоопухолевых лекарственных средств [65]. В настоящее время наиболее перспективным является соединение СВ-839.



CB-839 — единственный на настоящий момент ингибитор глутаминазы, участвующий в клинических исследованиях [66]. Было показано, что СВ-839 повышает чувствительность к облучению ксенотрансплантатов рака лёгкого [67]. Кроме того, в сочетании с ингибиторами карнитинпальмитоилтрансферазы СВ-839 замедлял пролиферацию клеток тройного негативного рака молочной железы [68]. В настоящее время СВ-839 в сочетании с палбоциклибом, талазопарибом или пембролизумабом находится в клинических исследованиях I и II фазы для лечения солидных опухолей.

Подытоживая всё сказанное, можно заключить, что трансформация метаболизма при опухолевом перерождении клеток открывает возможности для направленного воздействия на новообразования и предоставляет новое поле для разработки противоопухолевых лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. W. H. Koppenol, P. L. Bounds, and C. V. Dang, *Nature Reviews Cancer*, **11**(5), 325 – 337 (2011).
2. B. N. Biswal, S. N. Das, B. K. Das, et al., *J. Oral Maxillofacial Pathol.*, **21**(2), 244 – 251 (2017).
3. Y. Zhao, E. B. Butler, and M. Tan, *Cell Death Disease*, **4**, e532 (2013).
4. D. S. Stepanova, G. Semenova, Y. M. Kuo, et al., *Cancer Res.*, **77**(18), 5026 – 5038 (2017).
5. K. Inoki, M. N. Corradetti, and K. L. Guan, *Nature Genet.*, **37**(1), 19 – 24 (2005).
6. P. B. Ancy, C. Contat, and E. Meylan, *FEBS J.*, **285**(16), 2926 – 2943 (2018).
7. E. Wang, C. Zhang, N. Polavaram, et al., *PloS One*, **9**(1), e86102 (2014).
8. I. Elmaci and M. A. Altinoz, *Biochem. Genet.*, **54**(5), 573 – 618 (2016).
9. E. Bustamante and P. L. Pedersen, *Proceedings Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **74**(9), 3735 – 3739 (1977).
10. A. Rempel, S. P. Mathupala, and P. L. Pedersen, *FEBS Lett.*, **385**(3), 233 – 237 (1996).
11. H. Pelicano, R. H. Xu, M. Du, et al., *J. Cell Biol.*, **175**(6), 913 – 923 (2006).
12. E. Hulleman, K. M. Kazemier, A. Holleman, et al., *Blood*, **113**(9), 2014 – 2021 (2009).
13. J. C. Maher, A. Krishan, and T. J. Lampidis, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **53**(2), 116 – 122 (2004).

14. B. K. Mohanti, G. K. Rath, N. Anantha, et al., *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.*, **35**(1), 103 – 111 (1996).
15. R. Yamaguchi, E. Janssen, G. Perkins, et al., *PloS One*, **6**(9), e24102 (2011).
16. Y. Zhao, H. Liu, Z. Liu, et al., *Cancer Res.*, **71**(13), 4585 – 4597 (2011).
17. R. H. Xu, H. Pelicano, Y. Zhou, et al., *Cancer Res.*, **65**(2), 613 – 621 (2005).
18. W. Kim, J. H. Yoon, J. M. Jeong, et al., *Molecular Cancer Therap.*, **6**(9), 2554 – 2562 (2007).
19. Q. Zhang, Y. Zhang, P. Zhang, et al., *Genes Cancer*, **5**(3 – 4), 100 – 112 (2014).
20. L. S. Ihlund, E. Hernelund, O. Khan, et al., *Molec. Oncol.*, **2**(1), 94 – 101 (2008).
21. A. Nakano, D. Tsuji, H. Miki, et al., *PloS One*, **6**(11), e27222 (2011).
22. Y. Zhao, H. Liu, A. I. Riker, et al., *Front. Biosci. (Landmark ed.)*, **16**, 1844 – 1860 (2011).
23. C. Munoz-Pinedo, N. El Mjiyad, and J. E. Ricci, *Cell Death Disease*, **3**, e248 (2012).
24. H. R. Christofk, M. G. Vander Heiden, M. H. Harris, et al., *Nature*, **452**(7184), 230 – 233 (2008).
25. S. L. Li, F. Ye, W. J. Cai, et al., *J. Cel. Biochem.*, **109**(4), 625 – 633 (2010).
26. E. Martinez-Balibrea, C. Plasencia, A. Gines, et al., *Molec. Cancer Therap.*, **8**(4), 771 – 778 (2009).
27. Y. K. Shin, B. C. Yoo, Y. S. Hong, et al., *Electrophoresis*, **30**(12), 2182 – 2192 (2009).
28. W. Guo, Y. Zhang, T. Chen, et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **137**(1), 65 – 72 (2011).
29. H. S. Shi, D. Li, J. Zhang, et al., *Cancer Sci.*, **101**(6), 1447 – 1453 (2010).
30. Y. Wang, F. Hao, Y. Nan, et al., *Int. J. Biol. Sci.*, **14**(13), 1883 – 1891 (2018).
31. D. M. Brizel, T. Schroeder, R. L. Scher, et al., *Int. J. Radiat. Oncol., Biol., Phys.*, **51**(2), 349 – 353 (2001).
32. S. Walenta, M. Wetterling, M. Lehrke, et al., *Cancer Res.*, **60**(4), 916 – 921 (2000).
33. C. Capparelli, C. Guido, D. Whitaker-Menezes, et al., *Cell Cycle (Georgetown, Tex)*, **11**(12), 2285 – 2302 (2012).
34. G. L. Semenza, B. H. Jiang, S. W. Leung, et al., *J. Biol. Chem.*, **271**(51), 32529 – 32537 (1996).
35. Y. Kolev, H. Uetake, Y. Takagi, et al., *Annals Surg. Oncol.*, **15**(8), 2336 – 2344 (2008).
36. M. Grimm, D. Alexander, A. Munz, et al., *Clin. Experim. Metastasis*, **30**(4), 529 – 540 (2013).
37. M. I. Koukourakis, A. Giatromanolaki, M. Panteliadou, et al., *Br. J. Cancer*, **110**(9), 2217 – 2223 (2014).
38. V. R. Fantin, J. St-Pierre, and P. Leder, *Cancer Cell*, **9**(6), 425 – 434 (2006).
39. A. Le, C. R. Cooper, A. M. Gouw, et al., *Proceed. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**(5), 2037 – 2042 (2010).
40. H. Xie, V. A. Valera, M. J. Merino, et al., *Molec. Cancer Therap.*, **8**(3), 626 – 635 (2009).
41. A. Martin-Requero, M. S. Ayuso, and R. Parrilla, *Arch. Biochem. Biophys.*, **246**(1), 114 – 127 (1986).
42. K. Goetze, C. G. Fabian, A. Siebers, et al., *Cel. Oncol. (Dordrecht)*, **38**(5), 377 – 385 (2015).
43. E. J. Rellinger, B. T. Craig, A. L. Alvarez, et al., *Surgery*, **161**(3), 747 – 752 (2017).
44. S. Gao, D. N. Tu, H. Li, et al., *Biomed. Pharmacother.*, **81**, 388 – 393 (2016).
45. M. Zhou, Y. Zhao, Y. Ding, et al., *Molec. Cancer.*, **9**, 33 (2010).
46. E. Kolobova, A. Tuganova, I. Boulatnikov, et al., *Biochem. J.*, **358**(Pt. 1), 69 – 77 (2001).
47. C. W. Lu, S. C. Lin, K. F. Chen, et al., *J. Biol. Chem.*, **283**(42), 28106 – 28114 (2008).
48. C. W. Lu, S. C. Lin, C. W. Chien, et al., *Am. J. Pathol.*, **179**(3), 1405 – 1414 (2011).
49. R. C. Sun, P. G. Board, and A. C. Blackburn, *Molec. Cancer*, **10**, 142 (2011).
50. E. D. Michelakis, L. Webster, and J. R. Mackey, *Br. J. Cancer*, **99**(7), 989 – 994 (2008).
51. E. M. Dunbar, B. S. Coats, A. L. Shroads, et al., *Investig. New Drugs*, **32**(3), 452 – 464 (2014).
52. T. Ishiguro, M. Ishiguro, R. Ishiguro, et al., *Oncol. Let.*, **3**(3), 726 – 728 (2012).
53. T. Ishiguro, R. Ishiguro, M. Ishiguro, et al., *Hepato-gastroenterology*, **59**(116), 994 – 996 (2012).
54. A. Skeberdyte, I. Sarapiniene, J. Aleksander-Krasko, et al., *Sci. Rep.*, **8**(1), 17744 (2018).
55. K. Ayyanathan, S. Kesaraju, K. Dawson-Scully, et al., *PloS One*, **7**(7), e39949 (2012).
56. S. Woo, C. H. Suh, S. Y. Kim, et al., *Eur. Urology.*, **72**(2), 177 – 188 (2017).
57. S. F. Jones and J. R. Infante, *Clin. Cancer Res.*, **21**(24), 5434 – 5438 (2015).
58. J. A. Menendez and R. Lupu, *Nature Rev. Cancer*, **7**(10), 763 – 777 (2007).
59. R. Wagner, G. Stubiger, D. Veigel, et al., *Oncotarget*, **8**(7), 11600 – 11613 (2017).
60. J. A. Menendez, *Biochim. Biophys. Acta*, **1801**(3), 381 – 391 (2010).
61. J. A. Menendez and R. Lupu, *Expert Opinion Therap. Targets*, **21**(11), 1001 – 1016 (2017).
62. G. Zadra, C. F. Ribeiro, P. Chetta, et al., *Proceedings Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **116**(2), 631 – 640 (2019).
63. B. Konkel, L. D. Caflisch, A. E. D. Duque, et al., *J. Clin. Oncol.*, **37**(15 suppl), 2064 – 2064 (2019).
64. R. V. Duran, W. Oppliger, A. M. Robitaille, et al., *Molecular Cell*, **47**(3), 349 – 358 (2012).
65. X. Xu, Y. Meng, L. Li, et al., *J. Med. Chem.*, **62**(3), 1096 – 1115 (2019).
66. M. Song, S. H. Kim, C. Y. Im, et al., *Cur. Topics Med. Chem.*, **18**(6), 432 – 443 (2018).
67. G. Boysen, A. Jamshidi-Parsian, M. A. Davis, et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, **95**(4), 436 – 442 (2019).
68. L. M. D. Reis, D. Adamoski, R. Ornit Oliveira Souza, et al., *J. Biol. Chem.*, **294**(24), 9342 – 9357 (2019).

Поступила 30.04.20

METABOLIC ENZYMES: NEW TARGETS FOR THE DEVELOPMENT OF ANTITUMOR DRUGS

L. A. Braun¹, E. E. Varpetyan¹, G. A. Zav'yalov¹, F. V. Kulikov¹, V. E. Marievskii¹, D. A. Tyul'ganova¹, A. O. Shishnenko¹, D. S. Stepanova^{1,*}, and N. L. Shimanovsky¹

¹ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), Moscow, 117997 Russia

* e-mail: Dina.Stepanova@gmail.com

In recent years awareness of malignant metabolism transformation has emerged. Since Otto Warburg found that tumor cells prefer glycolysis to oxidative phosphorylation despite oxygen levels, studies have been performed showing that cancer cells also depend on upregulated fatty acid synthesis and glutaminolysis. This paper reviews the key metabolic enzymes known as metabolic oncogenes and suggests the ways of modulating these enzymes' activity. It is concluded that the transformation of metabolism during cancerogenesis opens up opportunities for targeted action on neoplasms and provides a new field for the development of antitumor drugs.

Keywords: malignant metabolism transformation; metabolic triad; glycolysis; fatty acid synthase; glutaminase.