

А.А. Ковалев, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой онкологии Запорожской медицинской академии последипломного образования

Метаболическое перепрограммирование рака

Через 80 лет после того, как Отто Варбург получил Нобелевскую премию за изучение механизмов аэробного гликолиза, мировая научная общественность официально признала тот факт, что биохимия клеток опухоли существенно отличается от биохимии нормальных клеток здоровых тканей. «Метаболическое перепрограммирование энергетического обмена» стало одной из визитных карточек рака, описанных Робертом Вайнбергом и Дугласом Хананом в 2011 году в хрестоматийной статье «Hallmarks of Cancer: The Next Generation».

Однако в основе метаболизма раковых клеток лежит не только изменение энергетического обмена с быстрым производством АТФ, что необходимо для поддержания высокой пролиферативной активности, выживания в условиях неблагоприятного микроокружения и метастазирования. Метаболическими характеристиками рака являются также увеличение биосинтеза всех четырех классов макромолекул (углеводов, белков, липидов и нуклеиновых кислот), поддержание адекватного редокс-потенциала и накопление большого количества внутри- и внеклеточных метаболитов. Известно также, что раковая клетка не только перепрограммирует свой метаболизм, но и изменяет в свою пользу метаболизм здоровых клеток микроокружения.

Достижения функциональной генетики, интерес к открытию протоонкогенов и генов-супрессоров на несколько десятилетий затормозили научные исследования опухолевого метаболизма. Сегодня, когда стало ясно, что многие сигнальные пути управляют внутриклеточным обменом веществ, а генетические мутации в этих путях оказывают глубокое влияние на метаболизм макромолекул, изменяя его, изучение биохимических механизмов функционирования опухоли снова является одной из наиболее актуальных тем современной онкологии.

Основателем новой науки — метаболомики — считают Steve Oliver из Manchester University. Эта сравнительно молодая наука, занимающаяся изучением и систематизацией продуктов жизнедеятельности раковой клетки (ее метаболома), обещает резко изменить современные подходы к диагностике и терапии злокачественных опухолей.

Отто Варбург — «отец биохимии рака»

Конец XIX — начало XX века по праву можно считать «золотым веком биохимии»: Луи Пастер открыл процесс ферментации (1860), Клод Бернард описал конверсию глюкозы в молочную кислоту (1877), Карл Ломан совместно с Мейрхофом открыли АТФ (1929), Фритц Липман доказал, что АТФ переносит в клетке энергию, Ганс Кребс открыл и изучил процесс гликогенолиза (цикл Кребса), а супруги Герта и Карл Кори описали процесс неогликогенеза (цикл Кори). Большинство из перечисленных ученых стали лауреатами Нобелевской премии.

В начале XX века считали, что энергия, необходимая для роста раковых клеток, синтезируется в результате липолиза и протеолиза. Поэтому очень важным для научного прогресса стало открытие и изучение механизмов гликолиза — внутриклеточного ферментативного процесса последовательного расщепления глюкозы, сопровождающегося синтезом АТФ (шунт Эмбдена — Мейерхофа — Парнаса).

Неожиданным и сенсационным стало открытие Отто Варбургом феномена аэробного гликолиза, происходящего в опухолевых клетках. Варбург доказал, что во время активной пролиферации раковые клетки потребляют в 10 раз больше глюкозы, чем нормальные клетки, и при этом даже в присутствии кислорода производят молочную кислоту. Эта уникальная и необъяснимая способность опухоли поддерживать феномен аэробного гликолиза была названа «эффектом Варбурга». Открытие послужило основанием для присуждения автору Нобелевской премии в 1931 г.

Варбург до конца своей жизни (ученый умер в возрасте 85 лет) объяснял эти особенности раковых клеток не нарушением обмена метаболизма глюкозы, а нарушением клеточного, митохондриального дыхания, настаивая на своих выводах вплоть до 1956 года и, по мнению современников, «вызывая бесплодные споры в научном мире».

Большинство работ Отто Варбурга были опубликованы на немецком языке, в эпоху первенства английского языка и бурного развития молекулярной биологии и генетики. Это отчасти объясняет тот факт, что изучение метаболизма глюкозы в раковой клетке долгое время не входило в перечень приоритетных научных онкологических исследований. К тому же полученных в то время данных оказалось недостаточно, чтобы описать канцерогенез лишь с позиции нарушенного митохондриального клеточного дыхания.

Тем не менее вклад Отто Варбурга в развитие новой науки был настолько велик, что до сих пор его называют

«отцом биохимии рака». В 1970 г. Adolf F.J. Butenandt отметил, что всю историю биохимии рака можно описать работами Отто Варбурга.

Аэробный гликолиз и окислительное фосфорилирование в раковой клетке

Для обеспечения энергией многочисленных биохимических реакций и физиологических процессов клетке нужна АТФ. Поскольку запас энергии в организме практически не создается, для нормальной жизнедеятельности клетке необходимо постоянно синтезировать новые молекулы АТФ.

Основным путем синтеза АТФ является окислительное фосфорилирование (компонент клеточного дыхания), которое осуществляется в митохондриях при расщеплении органических соединений — белков, жиров и углеводов. Сложные углеводы, являющиеся основным субстратом для синтеза АТФ, расщепляются до простых, вплоть до образования глюкозы. Окисление глюкозы происходит в три этапа: гликолиз, окислительное декарбоксилирование и окислительное фосфорилирование. Гликолиз сопровождается синтезом двух молей АТФ, двух молей НАДФ и двух молей пирувата на один моль глюкозы. Физиологическая роль гликолиза может изменяться в зависимости от различных типов клеток, интенсивности и условий их метаболизма (аэробное или анаэробное состояние).

В нормальных клетках в присутствии кислорода процесс расщепления глюкозы происходит в митохондриях по механизму окислительного фосфорилирования. В опухолевых клетках этот механизм отходит на второй план, уступая место механизму аэробного гликолиза.

Существование метаболического переключателя в раковых клетках долгое время не имело логического объяснения. На первый взгляд, перепрограммирование энергетического обмена противоречит здравому смыслу, поскольку эффективность производства АТФ посредством гликолиза примерно в 18 раз ниже по сравнению с окислительным фосфорилированием в крипах митохондрий. Действительно, аэробный гликолиз с повышенным накоплением недоокисленного лактата — это быстрый, но неэффективный и затратный путь производства энергии, требующий повышенного потребления глюкозы.

Отто Варбург считал, что гликолиз компенсирует недостаток синтеза АТФ в митохондриях из-за их повреждения (нарушение клеточного дыхания). Однако позже было доказано, что митохондриальные дефекты в раковой клетке хоть и встречаются, но достаточно редко.

Аэробный гликолиз наблюдается и в быстро делящейся эмбриональной ткани, и в опухолевых клетках, поскольку для непрерывно пролиферирующей ткани требуется повышенное количество доступной энергии. Однако известно, что раковая клетка продолжает пролиферировать даже при отсутствии АТФ. Кроме того, для формирования клетки необходима не только энергия, но и различные строительные материалы — макромолекулы (углеводы, белки, липиды и нуклеиновые кислоты).

Для репликации недостаточно лишь увеличения внутриклеточного потока глюкозы и повышенной продукции лактата. Клетки в основном состоят из белков и слишком сложны, чтобы их строительство было обеспечено простым углеродным скелетом глюкозы. Патофизиологический смысл аэробного гликолиза в том и заключается, что в результате этого процесса в клетках накапливается большое количество промежуточных субстратов цикла трикарбоновых кислот, необходимых для продукции нуклеотидов и аминокислот.

Кроме аэробного гликолиза, для биосинтеза макромолекул и органелл раковые клетки активируют и другие метаболические пути, в том числе «классический» путь митохондриального дыхания. К сожалению, наши знания о роли митохондрий в биоэнергетической регуляции обмена веществ раковой клетки, их биологии и генетике очень ограничены.

Метаболическая гетерогенность опухоли

Пролиферация раковых клеток происходит в условиях сложного и динамично меняющегося опухолевого микроокружения, участки которого имеют различную

концентрацию глюкозы и кислорода. Это обстоятельство объясняет факт наличия метаболической гетерогенности опухолевых клеток и создает условия для развития их «метаболической гибкости».

Взаимоотношения раковых клеток в солидных опухолях могут изменяться от конкурентных до синергичных и мутуалистических. Мутуалистические взаимоотношения на метаболическом уровне предполагают такой тип обмена веществ, когда одна субпопуляция раковых клеток, расположенных в зоне с повышенным или нормальным содержанием кислорода, производит АТФ и недоокисленный лактат посредством аэробного гликолиза (эффект Варбурга), а другая субпопуляция клеток этой же опухоли потребляет этот лактат для производства собственной АТФ, используя часть цикла лимонной кислоты.

Опухолевые клетки способны изменять метаболический фенотип и адаптироваться к стрессовым условиям своего существования. Известно, что различные типы раковых клеток могут функционировать, подвергаясь не одному, а различным биоэнергетическим механизмам (гликолиз или фосфорилирование). Помимо глюкозы, опухолевые клетки способны использовать альтернативные источники топлива — аминокислоты и жирные кислоты. Механизмы регуляции этого процесса еще недостаточно изучены.

Метаболическое перепрограммирование микроокружения

Существует еще один «оригинальный» способ получения энергии для безудержной пролиферации. Кроме метаболической гибкости и метаболической адаптации к своему микроокружению, раковая клетка осуществляет метаболическое перепрограммирование клеток самого опухолевого микроокружения. Этот феномен назван «обратным эффектом Варбурга».

Оказывается, что между раковыми и окружающими их нормальными клетками существует стромально-эпителиальная метаболическая связь.

Метаболизм раковых клеток подразумевает не только потребление глюкозы и синтез АТФ, но и образование большого количества токсичных побочных продуктов обмена веществ. К этим отходам относятся в первую очередь супероксид и перекись водорода. Своевременное удаление этих отходов необходимо для поддержания окислительно-восстановительного гомеостаза (редокс-потенциала).

Однако выделение в интерстиций перекиси водорода (H₂O₂) приводит к потере окружающими фибробластами кавеолина, что в свою очередь вызывает усиленную аутомиитофагию, уменьшение количества митохондрий в клетке и переключение фибробластов на метаболический путь аэробного гликолиза. В результате гликолитического пути синтеза АТФ фибробластами в окружающей среде накапливаются недоокисленные лактат и кетоны, которыми и «питаются» опухолевые клетки.

Метаболическое перепрограммирование неэнергетического обмена

Метаболическая адаптация опухоли распространяется далеко за пределы энергетического перепрограммирования. Известно, что раковая клетка не останавливает процесс пролиферации, даже несмотря на дефицит АТФ, и в ней существуют ферменты, которые способны блокировать эффект Варбурга.

Совершенно очевидно, что помимо необходимого количества энергии для непрерывной пролиферации не менее важной является доступность высокомолекулярных строительных блоков. Поэтому раковые клетки критически зависят от глутаминовой кислоты, пируваткиназы, некоторых жирных кислот и других макромолекул.

Поддержание особого внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала тоже является частью опухолевого метаболизма. При этом очень важна роль активных форм кислорода в жизнедеятельности и



А.А. Ковалев

пролиферации раковых клеток. Активные формы кислорода — это разнородный класс свободных радикалов, которые являются побочным продуктом метаболических процессов. Их биологические свойства зависят от концентрации и регулируются антиоксидантной системой.

Парадокс заключается в том, что в раковых клетках из-за интенсивного метаболизма накапливается большое количество активных форм кислорода при высоком уровне антиоксидантной системы. В процессе онкогенеза опухоль теряет «метаболический ограничитель», становится перегруженной продуктами аномального метаболизма и теряет контроль над своим редокс-потенциалом.

Однако эта несколько запутанная картина имеет свой биологический смысл. Низкое содержание оксидантов благоприятно действует на клетку, способствует ее выживанию и пролиферации. При высоком содержании активных форм кислорода нормальная клетка погибает. В процессе канцерогенеза онкогенные мутации обеспечивают адаптацию и выживание раковой клетки в условиях аномально высокого содержания оксидантов. Более того, при большой концентрации активных форм кислорода в раковой клетке продолжают накапливаться дополнительные мутации, способствующие ее выживанию и пролиферации в условиях метаболического стресса.

Изменение метаболического фенотипа раковой клетки

На протяжении нескольких десятилетий приоритетом научных исследований в онкологии было изучение генома. Другие исследования, в том числе изучение биохимии опухолевых клеток, отходили на второй план, поскольку считались эпифеноменами.

Одним из наиболее важных событий, повлиявших на дальнейшее развитие онкологии, стало открытие Робертом Вайнбергом первого человеческого онкогена Ras и первого антионкогена (гена-супрессора) Rb. По мере накопления данных о функциональной геномике были получены свидетельства того, что протоонкогены не только регулируют пролиферацию, но и ответственные за перепрограммирование многочисленных метаболических путей раковых клеток. Это открытие создало предпосылки для развития новой синтетической, «постгеномной» науки, объединившей в себе инструменты молекулярной биологии, функциональной геномики и биохимии клетки.

Сегодня не вызывает сомнений существование связи между онкогенами и внутриклеточными метаболическими ферментами. Метаболический фенотип опухолевых клеток контролируется многочисленными сигнальными путями, в которых в процессе канцерогенеза возникают тысячи точечных мутаций, транслокаций, делеций и амплификаций. Онкопротеины и опухолевые супрессоры тесно связаны с метаболическими путями посредством транскрипций или пост-транскрипционной регуляции, что приводит к мутационному окислительному повреждению ДНК раковой клетки и ее метаболическому перепрограммированию.

Все основные онкогены и гены-супрессоры имеют интимные связи с метаболическими путями. Метаболическое перепрограммирование обеспечивается активацией онкогенов RAS, MYC, фактором, индуцируемым гипоксией (HIF), мутацией опухолевых супрессоров (например, TP53), активацией путей PI3K, AKT, AMPK и mTOR.

Особое значение в физиологии клетки имеет протеинкиназа серин-треониназная специфичности mTOR, которая является главным регулятором нескольких механизмов, способствующих изменению метаболического фенотипа. mTOR-регуляция метаболизма клетки реализуется за счет связи с транскрипционным фактором индукции гипоксии (HIF) и проявляется уменьшением митохондриального дыхания и увеличением гликолиза.

В целом большинство активированных во время опухолевой трансформации сигнальных путей не только несут в себе пролиферативный потенциал, но и регулируют метаболическую адаптацию раковой клетки, необходимую в стрессовых условиях опухолевой прогрессии (например, из-за низкого внутри- и внеклеточного pH, гипоксии, низкого содержания глюкозы в микроокружении, аутофагии).

Роль метаболомики в клинической онкологии

Достижения современной метаболомики существенно расширяют границы клинической онкологии. В первую очередь это касается использования метаболических опухолевых маркеров для ранней (даже сверхранней) диагностики рака, включая проведение скрининга. Вторым практическим направлением этой науки является метаболическая визуализация опухоли для быстрого и адекватного контроля за проведением противоопухолевой терапии. Наконец, метаболические пути рака могут оказывать новыми мишенями будущей таргетной терапии.

Метаболический профиль раковых клеток

Современные технологии позволяют исследовать так называемый секретом опухоли — проводить ее «метаболическую дактилоскопию». Молекулярные метаболиты раковых клеток представлены широким спектром химических веществ с низкой молекулярной массой. По сути дела, это не что иное, как обогащенный биомаркерами внеклеточный протеом. Исследование функциональных метаболитов является более перспективным методом характеристики опухолевых клеток, чем изучение ее генома и транскриптома. Метаболомика предлагает использовать наиболее чувствительные методы мониторинга изменений в такой сложной биологической системе, как опухоль, посредством динамического наблюдения за изменениями в ее метаболической сети.

Сегодня для выявления «фоновых рисунков» внеклеточного протеома используют полностью автоматизированные системы, в основу работы которых положен принцип ядерно-магнитного резонанса или газожидкостной хроматографической масс-спектрометрии.

Современные масс-спектрометры обладают высокой пропускной способностью и позволяют измерять массу очень небольшого количества метаболитов с точностью до размеров одного атома водорода. В биологических жидкостях или тканях человека с помощью этой методики можно обнаруживать до 1 тыс. метаболитов со скоростью исследования от 10 до 30 мин. Особенно важным является тот факт, что себестоимость одного исследования эквивалентна 1 доллару.

Выявление метаболомных маркеров (как универсальных, так и характерных для отдельной локализации опухоли) — предмет интенсивного изучения во многих научно-исследовательских онкологических центрах мира.

Недавно было доказано, что биохимический маркер саркозин (N-метилглицин), определяемый не в крови, а в моче больного, очень точно коррелирует с клиническим течением рака предстательной железы. Тест является более чувствительным, чем используемое в настоящее время определение простатического специфического антигена (ПСА).

Характерными метаболитами рака легкого являются лактат, аланин, сукцинат, глутамат, цитрат и аспартат. Для других локализаций более характерно обнаружение 2-гидроксипропаноата, цистамины и кинуридина.

Можно предположить, что метаболомные технологии в ближайшем будущем будут применяться в онкологии как минимально инвазивные и экономные инструменты популяционного скрининга.

Метаболизм рака и мониторинг опухолевой прогрессии

Радиологические критерии RECIST, хотя и признаются сегодня эквивалентом опухолевой прогрессии, не удовлетворяют клиницистов, поскольку не коррелируют с долгосрочной выживаемостью больных. Эти критерии могут запаздывать в оценке на 6-8 недель и только формально влияют на тактику лечения пациента, нередко приводя к ложноположительным или ложноотрицательным результатам. Наши знания о биологии опухолевого роста и опухолевой прогрессии позволяют сделать вывод, что «не размер имеет значение».

Наиболее раннюю и в то же время полную картину развития опухоли на фоне терапии и при прогрессии может предоставить ее метаболическая визуализация.

Зависимость раковых клеток от аэробного гликолиза и скорости поглощения глюкозы легла в основу метода их обнаружения — позитронно-эмиссионной томографии с радиоактивным аналогом глюкозы — фтордезоксиглюкозой (18F). ФДГ-ПЭТ позволяет определить процент погибшей опухолевой ткани после каждого цикла химиотерапии, или наоборот, своевременно выявить неэффективность последней без оценки размеров опухоли.

Ингибирование метаболизма как одна из стратегий противоопухолевой терапии

Сегодня не вызывает сомнений, что раковые клетки для своего роста используют не один, а множество способов, активируя различные сигнальные пути. Поэтому терапевтического выключения одной мишени нередко бывает недостаточно для ингибирования пролиферативного потенциала клетки. В последнее время активно обсуждается парадигма блокады метаболических путей, что может лишить клетку энергии и необходимых строительных материалов.

Следует отметить, что антиметаболиты как препараты противоопухолевой терапии были впервые успешно использованы S. Farber еще в 1954 году для лечения острых лейкозов у детей. В последующие годы была доказана эффективность и других антиметаболитов, блокирующих биосинтез нуклеотидов в раковой клетке и тем самым ингибирующих в ней синтез ДНК. К таким препаратам, традиционно применяемым в клинической онкологии, относятся 5-фторурацил, цитарабин и метотрексат.

Сегодня обсуждают две стратегии воздействия на метаболизм опухоли — его косвенное и прямое ингибирование.

В качестве мишеней косвенного ингибирования метаболической сети выступают белки HIF, PI3K, AKT, AMP и mTOR. Блокада этих путей снижает метаболическую адаптацию клетки к гипоксии, предотвращает метаболический сдвиг в сторону гликолиза, уменьшает трансмембранный поток глюкозы.

Вторая стратегия непосредственно направлена на конкретные биохимические реакции опухолевого метаболизма. Примерами этого подхода являются ингибирование гликолиза (2-дезоксиглюкоза), блокада трансмембранных транспортеров глюкозы (GLUT1), блокада синтеза незаменимых и заменимых аминокислот, а также снижение их биологической доступности (фенилацетат снижает уровень глутамата в крови, аспарагиназа снижает уровень плазменного аспарагина).

Клинический и экспериментальный опыт свидетельствует о том, что антиметаболитная терапия, снижающая уровень АТФ в опухоли, повышает чувствительность клеток к цитостатикам и лучевой терапии. К тому же эта терапия практически не токсична и хорошо переносится нормальными клетками.

К сожалению, несмотря на попытки блокирования аэробного гликолиза, эффективные стратегии антиметаболитной терапии пока что не разработаны. В настоящее время в клиническую практику внедряются новые терапевтические подходы — ингибирование лактатдегидрогеназы, инактивация монокарбоксилата, блокада транспорта лактата через плазматическую мембрану.

Несколько слов следует сказать об использовании кетоновой диеты как одного из компонентов противоопухолевой терапии. Безусловно, пища, повышающая уровень глюкозы в плазме, может только способствовать опухолевой прогрессии. В нескольких исследованиях, в том числе с участием больных на стадии раковой кахексии, было показано, что кетогенная диета с низким содержанием углеводов и высоким содержанием жиров (в частности, триглицеридов со средней длиной цепи) обеспечивала положительные результаты.

Кетонные тела, действительно, могут быть использованы клеткой для производства энергии и в качестве источника углерода. При этом в присутствии кислорода задействован механизм митохондриального дыхания. В отличие от нормальных клеток, которые могут легко адаптироваться к использованию кетонных тел для производства АТФ, раковые клетки не способны выживать в подобных условиях альтернативного пути производства энергии. Несомненно, кетонную диету следует рассматривать как полезное дополнение к стандартным методам противоопухолевой терапии.

Механизмы жизнедеятельности раковой клетки невозможно понять без изучения ее метаболизма. В последние годы наши знания в этой области существенно расширились и продолжают ежегодно пополняться. Перепрограммирование энергетического обмена опухоли с окислительного фосфорилирования на аэробный гликолиз осуществляется в рамках реализации ее эволюционной программы («часть быстрой стратегии канцерогенеза») и обеспечивает непрерывную пролиферацию раковых клеток в стрессовых условиях, которые для них создают клетки микроокружения.

Опухолевые клетки перепрограммируют не только свой энергетический обмен, но и энергетический обмен клеток своего патологического метаболизма. Метаболические нарушения касаются также синтеза основных макромолекул (углеводов, белков, липидов и нуклеиновых кислот), а также поддержания адекватного окислительно-восстановительного потенциала клетки. Адаптационные механизмы позволяют раковым клеткам выживать в условиях высокого содержания активных форм кислорода. Более того, свободные радикалы способствуют накоплению онкогенных мутаций и дальнейшей опухолевой прогрессии. В процессе такого интенсивного обмена веществ в клетках накапливается большое количество метаболитов — химических веществ с низкой молекулярной массой.

Изучение метаболизма рака не является прерогативой фундаментальной онкологии. Сравнительно новая, но очень быстро развивающаяся дисциплина — метаболомика — уже сегодня влияет на принятие клинических решений. В ближайшее время исследование опухолевого секретомата для ранней диагностики, скрининга и мониторинга прогрессии будет использоваться в ежедневной практике клинического онколога. Перспективным является создание таргетных препаратов, блокирующих опухолевый метаболизм.