

**ГБУЗ «Санкт-Петербургский
клинический научно-
практический центр
специализированных видов
медицинской помощи
(онкологический)»
(Санкт-Петербург, Россия)**

ПРЕДКЛИНИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ПЕРСПЕКТИВНОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА

В.А. Чубенко, В.М. Моисеенко

METABOLIC CANCER THERAPY: PROOF OF CONCEPT

В.А. Чубенко

*Кандидат медицинских наук, заведующий отделением химиотерапии
солидных опухолей ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический
научно-практический центр специализированных видов медицинской
помощи (онкологический)».
197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А.*

В.М. Моисеенко

*Доктор медицинских наук, профессор,
директор ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический
научно-практический центр специализированных видов
медицинской помощи (онкологический)».*

V.A. Chubenko

*Candidate of Medicine, head of chemotherapy department Saint-Petersburg
Research and Clinical Center of specialized types of medical care (oncological).
197758, Saint-Petersburg, Pesochny-2, Leningradskaya str. 68a Lit A.*

V.M. Moiseyenko

*Doctor of Medicine, Professor, Director Budgetary Health Institution
«Saint-Petersburg clinical and practical center of specialized types
of medical care (oncological)».*

На сегодняшний день опухолевый процесс рассматривается как генетическое заболевание без учета метаболических особенностей клеток вследствие этих молекулярных нарушений. При этом накопленные научные данные указывают, что энергетический гомеостаз как злокачественных клеток, так и их микроокружения, играет одну из ведущих ролей в патогенезе новообразований и потенциальной чувствительности к проводимой терапии. Многоуровневая гетерогенность и пластичность метаболических процессов, а также их схожесть с энергетическими путями в нормальных клетках диктует необходимость поиска оптимальной модели для их дальнейшего изучения и внедрения метаболической терапии в клиническую практику.

Ключевые слова: метаболизм, гетерогенность, метаболическая терапия.

Today cancer is considered as a genetic disease without taking into account some metabolic features of the cells due to these molecular abnormalities. At the same time, accumulated scientific data indicate that energy homeostasis of the malignant cells and their microenvironment plays one of the leading roles in the pathogenesis of the neoplasms and the potential treatment sensitivity. Multiple heterogeneity and plasticity of the metabolic signals, as well as their similarity to the energy pathways in normal cells notes the need to find an optimal model for their further research and implementation of the metabolic therapy into clinical practice.

Key words: Metabolism, heterogeneity, metabolic therapy.

Одним из признаков злокачественной опухоли является изменение метаболических свойств клеток [1]. К ним относятся:

- 1) нарушение регуляции утилизации глюкозы и аминокислот;
- 2) активация «новых» способов получения питательных веществ;
- 3) использование промежуточных продуктов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот для биосинтеза никотинамидадениндинуклеотида фосфата (НАДФ);
- 4) повышенная потребность в азоте;
- 5) изменения в регуляции генов метаболизма;
- 6) метаболические взаимодействия с микроокружением [2].

Особенностью является выраженная гетерогенность энергетического гомеостаза опухолевых клеток вследствие огромного числа причин, в том числе:

- 1) молекулярного фенотипа (KRAS-мутация; Her2/neu гиперэкспрессия; EGFR-мутация; BRCA-мутация и др.);
- 2) стадии опухолевого процесса;
- 3) локализации первичной опухоли или метастаза;
- 4) размера опухоли;
- 5) этапа клеточного цикла (S-фаза, M-фаза, G₀, 1, 2 – фазы);
- 6) условий микроокружения [3].

Более 100 лет прошло с тех пор, как Отто Варбург провел первые экспериментальные исследования метаболизма в опухолевых клетках, 74 года с момента внедрения Сидни Фарбер антифолатов в лечение лейкоза и 20 лет изучения взаимосвязи онкогенов и способов потребления энергии [4]. Однако, к сожалению, на сегодняшний день, подобные аспекты не учитываются при планировании лекарственной терапии. Кроме того, без внимания остаются метаболические особенности клеток микроокружения (например, фибробластов) и иммунной системы, которые играют ключевую роль в инициации опухоли и ее прогрессии. Безусловно, терапевтические воздействия на ключевые метаболические мишени как в опухолевых клетках, так и в ее микроокружении, могут быть перспективной стратегией с точки зрения влияния на контроль злокачественного роста и продолжительность жизни больных. В данной работе мы рассмотрим потенциальные предклинические и клинические пути решения данного подхода.

Исключение важнейших метаболитов

Одним из отличий злокачественных клеток от нормальных является их чувствительность к дефициту основных нутриентов в связи с исходно измененным метаболизмом из-за нарушения регуляции онкогенов. Нормальная клетка в условиях отсутствия энергетического субстрата прекращает свою пролиферацию и переходит в G₀/G₁ фазу клеточного цикла. В подобных условиях опухолевая клетка активирует механизмы клеточной гибели [4]. В этой связи исключение важнейших метаболитов может

иметь эффективное терапевтическое воздействие. Доказательством являются экспериментальные работы, в которых депривация глюкозы или введение его антиметаболита 2-деоксиглюкозы приводили к торможению пролиферации нетрансформированных клеток в G₀/G₁ фазах. Тогда как в измененных с-Мус фибробластах, лимфоидных клетках или клетках карциномы легкого в этих условиях наблюдался апоптоз. При этом экспрессия гена лактатдегидрогеназы А (ЛДГ-А), который является основным участником анаэробного гликолиза, в линии Rat1 фибробластов в случае исключения глюкозы значительно усиливала клеточную гибель [5]. Подобные наблюдения были сделаны и при депривации глутамин [6]. С этой точки зрения, в клинической практике интерес представляет добавление аспарагиназы как элемента противоопухолевого лечения. Впервые, в 1988 году Prager M. и Baechtel F. продемонстрировали зависимость роста клеток рака почки от наличия в среде аспарагиназы [7]. Данный фермент гидролизует основные энергетические субстраты светлоклеточного рака, такие как аспарагин и глутамин (около 2–3%). К 6 дню эксперимента лишь 6% злокачественных клеток оставались жизнеспособными по сравнению с 66% в обычных условиях. На сегодняшний день аспарагиназа входит в стандарты лечения острого лимфобластного лейкоза у детей [8]. Интересно отметить, что эффективность подобного лечения коррелирует с экспрессией аспарагин синтетазы в злокачественных клетках. Li H. с соавторами протестировали 225 метаболитов в 928 клеточных линиях 20 типов опухолей [9]. Оказалось, что в случае снижения функции данного фермента в различных видах опухолей (чаще при раке желудка и печени) отмечалось значительное подавление опухолевого роста. Эти результаты позволяют предположить, что лечение аспарагиназой в случае наличия предиктивного маркера (отсутствие фермента или его гиперметилирование) может рассматриваться как перспективный метод метаболической терапии различных солидных опухолей [9].

Голодание и ограничение калорий, кетодиета

Ограничение калорий, изменение характера питания и различные диетические подходы зарекомендовали себя в лечении различных заболеваний, в т.ч. трудноизлечимой эпилепсии у детей, сахарного диабета 2 типа, ожирения, дисбактериоза. В исследовании II фазы (DIRECT) продемонстрирована эффективность голод-имитирующей диеты у больных ранним раком молочной железы на фоне неoadьювантной химиотерапии по сравнению с обычным режимом питания [10]. При этом оценивался как клинический ответ, так и влияние на качество жизни (восприятие болезни, переносимость химиотерапии). Голод-имитирующая диета включала в себя растительную пищу с низким содержанием аминокислот.

Она представляла собой суп, бульон, витамины и чай в течение 3-х дней до цикла химиотерапии и в день цитостатического лечения. При этом калорийность рациона снижалась с первого (~1200 ккал) до 2–4 дня (~200 ккал). В итоге, у больных на фоне депривации основных энергетических субстратов была более выражена стрессоустойчивость и лучшая переносимость проводимой химиотерапии. Кроме того, согласно опросникам по качеству жизни, у них нарастали показатели эмоционального, физического, ролевого, когнитивного и социального функционирования. При этом снижались параметры усталости, тошноты и бессонницы [10]. Таким образом, подобный подход может быть рассмотрен как дополнительная опция к проводимой стандартной терапии.

Кетогенная диета (КД) – это режим питания с высоким содержанием жиров, несколько ограниченным потреблением белков и очень низким содержанием углеводов, который имитирует метаболизм в состоянии голодания, вызывая выработку кетоновых тел [11]. Соотношение основных нутриентов представлено в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика кетогенной диеты

Нутриент	Стандартная диета (%)	Кетогенная диета (%)
Углеводы	62	3
Жиры	6	72
Белки	27	15
Энергетический состав (ккал/гр)	4,4	7,2
Жиры/ углеводы+белки	0,07	4

Особенностью КД, в отличие от голодания, является сохранение калорий, необходимых для энергетического метаболизма клеток. В норме образование кетоновых тел происходит в печени за счет продукции ацетил кофермента А (ацетил-коА) и окисления жирных кислот. Кетогенез контролируется инсулином и глюкагоном. Молекула ацетил-коА может быть утилизирована в цикле трикарбоновых кислот или использоваться для образования ацетоацетата, который превращается в ацетон или 3-β-гидроксибутират за счет фермента 3-β-гидроксибутират дегидрогеназы. Зачем нужны кетоновые тела? Они являются альтернативным источником энергии для клеток головного мозга, поперечнополосатой и сердечной мускулатуры, однако не могут использоваться раковыми клетками. Повышенное содержание кетоновых тел ведет к кетонемии и кетонурии. В среднем концентрация кетоновых тел при голодании составляет 5–7 ммоль, тогда как концентрация глюкозы значительно ниже (до 1 ммоль) без значимых клинических проявлений (например, без когнитивных расстройств или судорожного синдрома).

При диабетическом кетоацидозе, что является жизнеугрожающим состоянием, в связи с инсулинорезистентностью содержание кетоновых тел в плазме достигает 25 ммоль с повышением уровня глюкозы и снижением уровня pH крови. Необходимо отметить, что в качестве источника энергии кетоновые тела более эффективны по сравнению с глюкозой – их метаболизм в цикле Кребса происходит быстрее. Кроме того, они активируют рецептор пероксисом α, который подавляет гликолиз [11].

Как известно, основным источником энергии для опухоли является глюкоза. Для того, чтобы поддерживать высокий пролиферативный потенциал в злокачественных клетках активирован гликолиз даже в присутствии кислорода (эффект Варбурга) [12]. Таким образом, терапевтический подход в депривации основного нутриента может быть эффективным с точки зрения торможения их роста. В случае КД опухолевые клетки имеют ограниченный доступ к глюкозе и не могут использовать кетоновые тела для производства энергии в связи с измененной функцией митохондрий, а также снижением ферментативной активности потребления кетонов [11]. К основным противоопухолевым механизмам КД относятся: 1) «глюкозное» голодание; 2) снижение активности цикла лактат/пируват; 3) снижение активности сосудистого фактора роста (VEGF); 4) подавление синтеза промежуточных продуктов гликолиза, необходимых для производства нуклеиновых кислот и белков; 5) снижение признаков воспаления в микроокружении (за счет подавления NLRP3 «инфламмасом», например, в глиобластомах); 6) активация рецептора β-гидроксибутирата GPR109A, который является супрессором опухолевого роста в клетках рака толстой кишки или молочной железы; 7) изменение активности синтеза инсулина и функции аденозин монофосфат киназы (AMPK), тем самым потенцируя эффект PIK3CA и mTOR1 ингибиторов; 8) повышение свободных радикалов за счет перекисного окисления липидов [11,13].

Положительным аспектом КД является возможность потенцировать эффект химиотерапии или лучевой терапии, например, при раке легкого или нейробластоме [11]. Кроме того, наблюдается синергизм при применении ингибиторов контрольных точек [11,14]. В экспериментальных работах было показано, что 3-β-гидроксибутират подавляет экспрессию PD-L1 в миелидных клетках, увеличивая число CXCR3+ Т-клеток и экспрессию интерферона 1. Ключевым механизмом является активация AMPK, которая фосфорилирует PD-L1, что приводит к его последующей деградации [14].

Необходимо отметить, что КД может стимулировать рост BRAF V600E позитивных клеток меланомы за счет активации MEK1 ацетоацетатом. При этом в случае наличия мутации в гене NRAS Q61K- или Q61R BRAF-негативной меланомы подобного эффекта не наблюдается [15].

Что касается клинических результатов, то в рандомизированном исследовании применения КД у больных раком молочной железы было отмечено значительное снижение фактора некроза опухоли α (ФНО- α) после 12 недель терапии ($p < 0,001$), повышение интерлейкина-10 (ИЛ-10) ($p < 0,001$), снижение уровня инсулина ($p < 0,002$), уменьшение размеров опухоли и снижение стадии процесса при местнораспространенном новообразовании по сравнению с контрольной группой (27 и 6 мм, $p = 0,01$) [16-19].

Таким образом, КД имеет преимущество в подавлении роста различных злокачественных опухолей, что демонстрируется в предклинических и клинических исследованиях. Однако, учитывая метаболическую гетерогенность клеток, требуется проведение дополнительных исследований для понимания молекулярных механизмов подобного подхода и выделения групп больных с наибольшей клинической эффективностью.

Физические нагрузки

На сегодняшний день нарастает доказательная база влияния физической нагрузки на течение опухолевого процесса, а также эффективность и переносимость стандартной противоопухолевой терапии. Кроме того, эпидемиологические исследования демонстрируют снижение риска развития около 13 видов злокачественных опухолей на фоне физической активности [20,21]. Очевидно, что в основе этого эффекта лежит перепрограммирование метаболических процессов в организме в целом. При этом предклинические исследования на грызунах показывают, что бег на колесе, на беговой дорожке или плавание снижают частоту возникновения опухолей, их рост и метастазирование независимо от выбранной модели (перививаемые или индуцированные) (табл. 2) [21].

С чем это может быть связано? Физические упражнения изменяют возможные регуляторные механизмы роста злокачественных опухолей, что неизбежно сопровождается выраженными метаболическими изменениями. К ним относятся: изменение кровотока, регуляция pH, активация симпатической нервной системы, гипертермия, изменение концентрации половых гормонов и гормонов «стресса» (инсулин, лептин, глюкокортикоиды, катехоламины), изменение уровня циркулирующих экзосом, цитокинов и миокинов, а также факторов роста, деактивация сигнальных путей (HIPPO/YAP или Akt/mTOR), повышение активности иммунной системы за счет эпинефрин-зависимой стимуляции (ИФН1, НК-клетки), снижение функции опухолевой лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и, тем самым, подавление секреции лактата в микроокружение [21].

В экспериментальных исследованиях обнаружено, что опухоли с высоким метаболизмом более восприимчивы к энергетическому стрессу, вызванному физической нагрузкой, что соответствует их повышенной восприимчивости к другим стрессовым факторам,

Таблица 2.

Влияние физической нагрузки на рост экспериментальных опухолей

Тип опухоли	Торможение роста (%)
Мышечные опухоли	
B16 меланома	-67%
Карцинома легкого (Льюис)	-58%
C26 рак толстой кишки	-33%
E0771 рак молочной железы	-43%
Трансгенная меланома (Grm-)	-31%
DEN-индуцированная карцинома печени	-59%
Гуманизированные опухоли	
MCF7 рак молочной железы	-36%
MDA-MB-231 тройной негативный рак молочной железы	-66%
UTSCC45 рак головы и шеи	-54%

таким как голодание и ограничение калорийности [21]. Теоретически это можно интерпретировать как перенаправление энергетических субстратов из энергоемких опухолей в конкурирующие метаболически активные ткани, в результате чего опухоли становятся уязвимыми из-за отсутствия доставки энергии.

В недавно опубликованном клиническом исследовании влияния физической нагрузки на эффективность неoadъювантной терапии у больных раком пищевода было установлено значительное уменьшение объема опухоли по сравнению с контрольной группой: TRG 1-3 $n = 15/20$ (75%) и $n = 7/19$ (36,8%), $p = 0,025$, соответственно. При этом было отмечено сокращение размеров региональных лимфатических узлов (42,9% и 15,8%, $p = 0,089$, соответственно) и изменение иммунологических показателей (CD3, CD8, ИЛ-6, VEGF, ИФН1, ФНО- α) [22].

Таким образом, накопленные данные указывают, что физические нагрузки могут контролировать прогрессирование опухоли за счет прямого воздействия на внутренние факторы (скорость роста, метастазирование, метаболизм и иммуногенность), регулируют рост путем взаимодействия с системными факторами, снижают риск возникновения и степень проявления нежелательных явлений, связанных как с самим злокачественным новообразованием, так и с его лечением, и повышают эффективность стандартной терапии.

Ингибирование отдельных этапов метаболизма

Для поддержания энергетического гомеостаза любой клетки необходима глюкоза. В этой связи происходит ее утилизация до пирувата за счет гликолиза, который через специальные переносчики попадает в

митохондрию. Далее с помощью митохондриального фермента, пируватдегидрогеназы, он превращается в ацетил-коА с последующей утилизацией в цикле трикарбоновых кислот. В итоге образуется оксалоацетат, который взаимодействует с вновь образованным ацетил-коА, и цикл замыкается. Одной из функций цикла Кребса является активация процесса окислительного фосфорилирования для производства энергии в виде аденозин-3-фосфата (АТФ). Аналогичным образом аминокислоты и жирные кислоты поглощаются клетками и утилизируются для поддержания своей структуры и функции. Необходимо отметить, что наиболее ценным энергетическим субстратом являются жирные кислоты, из молекулы которых образуется 129 АТФ по сравнению с 38, синтезированными из одной молекулы глюкозы [4]. Регуляция метаболизма осуществляется факторами роста, активирующими, в основном, RAS-RAF-МЕК-ERK и PI3K-AKT-mTOR сигнальные пути, которые приводят к стимуляции гена MYC и различных транскрипционных факторов [23, 24]. С этой точки зрения, опухолевые клетки имеют свои метаболические особенности: аэробный гликолиз; повышенная активность лактатдегидрогеназы и транспорт лактата в микроокружение; использование альтернативных источников энергии – глутамин, триптофан, аспарагин, лактат, цитрат, ацетил-кофермент А, кетоновые тела; повышенный синтез липидов; изменение функции митохондрий; аутофагия. Подобные индивидуальные энергетические характеристики злокачественных новообразований являются привлекательными мишенями для лекарственного воздействия.

Важным аспектом, с учетом гетерогенности опухолевого метаболизма, является поиск предиктивных маркеров перед назначением препаратов, влияющих на отдельные этапы энергетического гомеостаза. Например, к ним относятся:

1) низкий уровень экспрессии аспарагин синтетазы в клетках солидных опухолей (рак желудка или рак печени), что может коррелировать с эффективностью L-аспарагиназы [25];

2) мутация в гене KEAP1 в клетках аденокарциномы легкого, активирующая экспрессию цистеин/глутамат переносчика хСТ (SLC7A11), который выделяет из клетки глутамат в обмен на цистеин, необходимый для образования глутатиона. В этой связи блокада хСТ сульфасалазином может быть эффективной с точки зрения подавления антиоксидантной защиты в злокачественных клетках. Кроме того, данный генетический дефект определяет глутамин в качестве основного источника энергии в опухоли. Эти данные теоретически дают перспективу применения ингибиторов глутаминазы [26];

3) нарушение функции гена фон-Хиппель Линдау (pVHL) при светлоклеточном раке почки приводит к активации фактора 1, индуцированного гипоксией (HIF-1 α). Данный факт является предиктором возможного эффективного подавления гликолиза [26];

4) мутация в гене KRAS в клетках рака поджелудочной железы может быть предиктором эффективного влияния на метаболизм незаменимых аминокислот [27]. Кроме того, клинический интерес представляет активация аутофагии в опухолевых клетках на фоне подавления функции KRAS-МЕК-ERK сигнального пути, например, таргетными препаратами (траметиниб)[28]. Это связано с активацией сигнального каскада LKB1-AMPK-ULK, который регулирует данный процесс [29]. На моделях клеточных линий было показано, что одним из ингибиторов аутофагии является гидроксихлорохин (антималярийный препарат) [30]. В итоге на фоне его применения в дозе 1200 мг/сутки с траметинибом 2 мг/сутки был зарегистрирован частичный регресс опухоли поджелудочной железы с нормализацией биомаркера CA19-9 у больного, резистентного к стандартной терапии[28].

5) экспрессия MYC прогнозирует возможность влияния на метаболизм глутамин в различных опухолях [31];

6) мутация в генах IDH1 и 2, которая приводит к торможению образования 2-гидроксиглутарата и способствует росту клеток острого миелолейкоза. На сегодняшний день одобрены 2 ингибитора данных мишеней в клинической практике (энасидениб и ивосидениб) [32].

Таким образом, на сегодняшний день активно изучаются терапевтические возможности, направленные на каждый этап метаболизма в опухолевой клетке. Безусловно, энергетическая пластичность новообразований является основной проблемой и требует поиска оптимальных предиктивных маркеров для стратификации лекарственных подходов [9].

Использование метаболических особенностей опухолей как «ахиллесову пяту» (витамин С и ферроптоз)

Ферроптоз – это один из сравнительно недавно открытых (в 2012 г.) механизмов клеточной гибели. В отличие от некроза, апоптоза, пироптоза или аутофагии он обусловлен накоплением в клетке свободных радикалов (активных форм кислорода) из-за железо опосредованного перекисного окисления липидов [33]. Считается, что опухолевые клетки в большей степени подвержены ферроптозу в связи с их выраженной пролиферативной и метаболической активностью. Данное обстоятельство делает подобный механизм клеточной гибели перспективной терапевтической мишенью. Триггером ферроптоза является реакция Фентона, которая заключается во взаимодействии двухвалентного железа и перекиси водорода. В результате образуются гидроксильные радикалы. Они взаимодействуют с полиненасыщенными жирными кислотами мембраны клетки. В итоге происходит их окисление и образование перекиси водорода. Таким образом, цикл замыкается, и реакция повторяется вновь. Вследствие перекисного окисле-

ния липидов образуется огромное число свободных радикалов, контроль за которыми осуществляется антиоксидантной защитой (в основном, системой глутатиона). Таким образом, изменение активности антиоксидантных белков, например GPX4, или подавление транспорта цистеина в клетку, как основного компонента синтеза глутатиона, может приводить к стимуляции ферроптоза и последующей гибели клетки [34]. Основные терапевтические мишени регуляции данного механизма клеточной гибели представлены в таблице 3.

Таким образом, ферроптоз как один из механизмов клеточной гибели связан с различными патофизиологическими процессами. Многочисленные исследования подтвердили, что данный механизм играет решающую роль в эрадикации опухолевых клеток и подавлении злокачественного роста [33].

Витамин С является незаменимым микроэлементом благодаря множеству функций, которые он выполняет в организме. Его «незаменимость» у человека определяется отсутствием фермента гулонолактон оксидазы, необходимого для синтеза витамина С в связи с окислением глюкозы [39, 40]. Витамин С в организме является кофактором гидроксилирования пролина и лизина, необходимых для синтеза коллагена типа 1 [41]. Кроме того, его стандартные дозы являются компонентом антиоксидантной защиты [42].

Одно из первых рандомизированных исследований, в котором оценивалась эффективность ви-

тамина С у больных злокачественными опухолями, было проведено Creagan E. с соавторами в 1979 г. [43]. Значимых различий, с точки зрения, общей выживаемости достигнуто не было. При этом субъективно у больных на фоне терапии витамином С наблюдалось улучшение аппетита, снижение слабости и болевого синдрома. Похожие данные были получены Moertel с соавторами у больных метастатическим колоректальным раком [44].

В последующих экспериментальных работах была предпринята попытка объяснить полученные негативные результаты [45]. Оказалось, что основное терапевтическое значение имеет доза препарата и способ его введения. Предклинические и клинические исследования показали, что при внутривенном введении в высоких дозах витамин С оказывает противоопухолевое действие [42]. Благодаря сложной фармакокинетики подобный эффект наблюдается при достижении его концентрации в плазме не менее 0,25 ммоль. Регуляция транспорта витамина С в опухолевую ткань осуществляется транспортерами (SVCT и GLUT), экспрессия которых зависит от типа клеток [46]. Основным противоопухолевым механизмом действия витамина С является индукция образования свободных радикалов вследствие реакции Фентона [47]. Важно отметить, что помимо общепризнанных прооксидантных эффектов, витамин С модулирует ферменты ТЕТ, способствующие деметилированию ДНК, и действует как кофактор гидроксилаз НIF,

Таблица 3.

Потенциальные терапевтические мишени ферроптоза

Мишень	Механизм	Препарат	Автор
Подавление образования глутатиона (GSH)	Глутатион – основной антиоксидант в опухолевой клетке в комбинации с дополнительными кофакторами, например, глутатион пероксидаза 4 (GPX4). Его синтез осуществляется за счет системы хс-опосредованного поглощения цистеина. Подавление данной мишени индуцирует ферроптоз	Эрастин Сорафениб Сульфасалазин Ацетаминофен	[35]
Подавление GPX4	Приводит к усилению перекисного окисления липидов	RSL3 ML210	[36]
Органические пероксиды	Это соединения с одной или несколькими кислородными связями. Доноры свободных радикалов	Артемизинин	[37]
Нагрузка железом	Внутриклеточный избыток свободного железа напрямую приводит к перекисному окислению липидов и ферроптозу. Распад и деградация ферритина увеличивает содержание внутриклеточного железа и повышает чувствительность клеток к ферроптозу.	Цитрат железа Доксорубицин	[38]
Изменение функции митохондрий	Триггер ферроптоз-индуцированной аутофагии	Залцитабин	[39]

активность которых необходима для протеасомной деградации HIF-1 α [48]. Указанные особенности открывают новые возможности лечения опухолей со специфическими молекулярными дефектами (например, наличие KRAS-мутации, гиперэкспрессия HIF-1 α или изменения TET2, IDH1/2 и WT1). Более того, действие витамина С на уровне ДНК может стать рациональной основой для комбинированной терапии с ингибиторами PARP и гипометилирующими агентами [49]. На сегодняшний день растет число публикаций о клинической эффективности высоких доз витамина С [45]. В нашей клинической практике у пожилого больного диссеминированным колоректальным раком (KRAS-мутация) при прогрессировании после 3-х линий лекарственной терапии было отмечено снижение биомаркера РЭА с 1661 до 188 нг/мл и торможение роста метастатических очагов на фоне внутривенной инфузии высоких доз витамина С при отсутствии клинически значимых побочных эффектов и субъективном улучшении общего состояния.

Перегрузка клетки глюкозой (гипертермия с перекислением)

В конце прошлого столетия достаточно активно проводили экспериментальные работы для изучения влияния гипертермии на pH опухолевого микроокружения, а также на метаболизм злокачественных клеток [50]. На примере саркомы Юшида при помощи капиллярного электрода изучали внеклеточный и внутриклеточный pH *in vivo* как в опухолевых, так и в нормальных клетках у крыс линии Вистар. Оказалось, что в обычных условиях опухоль, печень и желудочно-кишечный тракт имели сходный pH в микроокружении (7,05–7,3). При этом внутриклеточный pH в опухоли был всегда выше (7,2), чем в нормальных клетках (6,8–7,1). В случае лечебной гипертермии крысы (42°C в течение 1 часа) изменений внутри- и внеклеточной pH не наблюдалось. Если же в этих условиях вводили глюкозу (6 гр/кг, уровень глюкозы в плазме 22 ммоль/л, в течение 6 часов), то кислотность опухолевого микроокружения заметно снижалась (до 6,6) и сохранялась в течение 12–14 часов на достигнутом уровне. При этом изменений pH внутри злокачественной клетки не наблюдалось. Однако в гистологических срезах было отмечено снижение эффективности гликолиза и окислительного фосфорилирования. Важно отметить, что в подобных экспериментальных условиях pH в нормальных клетках и их микроокружении не изменялась. Таким образом, был отмечен синергетический эффект гипертермии и гипергликемии с точки зрения торможения метаболизма опухолевой клетки [50].

Борьба с закислением микроокружения

Кислотность (pH) – является одной из важнейших особенностей метаболизма опухолевой клетки. Обычно наблюдается внеклеточный ацидоз и вну-

триклеточный алкалоз или ощелачивание. Подобный градиент обеспечивает возможность пролиферации клеток, защиту от апоптоза, метаболическую адаптацию, миграцию и инвазивную способность клеток, активность микроокружения (иммунной системы и фибробластов). Безусловно, понимание механизмов pH-зависимого поведения клеток обеспечит развитие новой терапевтической стратегии опухолей [51].

В предклинических работах было показано, что у мышей на фоне приема бикарбоната натрия наблюдается меньшее число метастазов и увеличивается продолжительность жизни [52,53]. Кроме того, алкализация микроокружения потенцирует эффект ингибиторов контрольных точек [54]. Клинические исследования также подтверждают подобную гипотезу. У больных диссеминированным раком поджелудочной железы наблюдалось значительное увеличение продолжительности жизни на фоне приема бикарбоната по сравнению с контрольной группой (15,4 и 10,8 мес, соответственно; $p < 0,005$) [55].

Таким образом, влияние на кислотность опухолевого микроокружения является перспективным лекарственным направлением с целью повышения результатов лечения больных.

Потенцирование эффективности стандартной терапии

Оксид азота (NO) является стабильным свободным радикалом, который участвует во многих физиологических и патологических процессах в организме. В предклинических работах было показано, что NO повышает эффективность хими- и лучевой терапии, особенно в случае выраженной гипоксии в опухоли, за счет усиления кровотока и снижения потребления кислорода [56]. В качестве терапевтической стратегии было предложено введение доноров NO. Однако данный подход оказался весьма токсичным в связи с системной вазодилатацией и гипотензией, а также малоэффективным из-за замедления кровотока в опухоли, усугубления гипоксии и снижения pH [57]. Альтернативой является стимуляция продукции NO за счет назначения L-аргинина, как эндогенного субстрата фермента синтазы оксида азота (NOS) [56]. Существует 3 изоформы данного белка. При этом в опухолевой ткани, как и при воспалении, и гипоксии, значение приобретает NOS2. Наибольшая экспрессия фермента наблюдается в клетках рака молочной железы, рака легкого, а также в церебральных метастазах [58]. Назначение L-аргинина активно используется для лечения больных с эндотелиальной дисфункцией и генетической патологией митохондрий для улучшения микроциркуляции. При этом подобный подход нивелирует гемодинамические нарушения, которые обусловлены гиперпродукцией NO. В этой связи достаточно перспективным является применение L-аргинина в NOS-экспрессирующих опухолях в качестве сенсibilизатора к поврежде-

нию ДНК на фоне стандартной терапии в результате NO-индуцированного подавления метаболизма [56]. В качестве доказательства подобной концепции было проведено исследование у 63 больных с метастатическим поражением головного мозга. Одна группа больных (n=31) получала 10 гр L-аргинина внутрь за 1 час перед каждой фракцией облучения (1,6 Гр, 20 фракций, СОД 32 Гр). Другой группе (n=32) проводилось только облучение головного мозга. Объективный ответ составил 22% в группе контроля и 77,4% в группе L-аргинина, $p < 0,001$ соответственно. При этом клинический эффект наблюдался у 93,5% больных по сравнению с контрольной группой (50%) [56].

Таким образом, метаболизм опухолевой клетки является сложным и пластичным процессом с выраженной гетерогенностью в зависимости от различных факторов. Безусловно, на сегодняшний день, предпринимаются попытки поиска ключевых мишеней энергетического гомеостаза опухолевой клетки с целью терапевтического воздействия для увеличения

продолжительности жизни больных. Без сомнения, подобное направление является перспективной стратегией лекарственной терапии злокачественных опухолей. Основными проблемами, которые требуют решения, являются:

- общее отношение к раку как генетическому заболеванию без учета метаболических последствий этих молекулярно-генетических нарушений;
- отсутствие эффективной модели для изучения метаболической терапии;
- наличие параллельных путей и пластичность опухолевых процессов;
- интер- и интратуморальная гетерогенность метаболизма;
- возможность переключения метаболизма при отсутствии необходимых источников энергии и биоматериала;
- схожесть метаболических процессов в опухолевой и здоровой ткани;
- отсутствие интереса «большой» фармы.

Список литературы

1. Hanabhan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions // *Cancer Discov.* – 2022. – V. 12. – P. 31–46.
2. Pavlova N., Thompson C. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism // *Cell Metab.* – 2016. – V. 23. – P. 27–47.
3. Kerk S., Papagiannakopoulos T., Shih Y., Lyssiotis C. Metabolic networks in mutant KRAS-driven tumours: tissue specificities and the microenvironment // *Nat Rev Cancer.* – 2021.
4. Stine Z., Schug Z., Salvino J., Dang C. Targeting cancer metabolism in the era of precision oncology // *Nat Rev Drug Discov.* – 2021.
5. Shim H., Chun Y.S., Lewis B.C., Dang C.V. A unique glucose-dependent apoptotic pathway induced by c-Myc // *Proc Natl Acad Sci U S A* 95. – 1998. – P. 1511–1516.
6. Yuneva M., Zamboni N., Oefner P., Sachidanandam R., Lazebnik Y. Deficiency in glutamine but not glucose induces MYC-dependent apoptosis in human cells // *The Journal of Cell Biology.* – 2007. – V. 178. – P. 93–105.
7. Prager M., Baechtel F. Human renal carcinoma: asparagine independence with asparaginase susceptibility in culture // *Cancer Lett.* – 1988. – V. 43. – P. 191–195.
8. Douer D., Gökbüget N., Stock W., Boissel N. Optimizing use of L-asparaginase-based treatment of adults with acute lymphoblastic leukemia // *Blood Rev.* – 2021. – V. 100908.
9. Li H. The landscape of cancer cell line metabolism // *Nat Med.* – 2019. – V. 25. – P. 850–860.
10. Lugtenberg R. Quality of life and illness perceptions in patients with breast cancer using a fasting mimicking diet as an adjunct to neoadjuvant chemotherapy in the phase 2 DIRECT (BOOG 2013-14) trial // *Breast Cancer Res Treat.* – 2021. – V. 185. – P. 741–758.
11. Zhu H. Ketogenic diet for human diseases: the underlying mechanisms and potential for clinical implementations // *Signal Transduct Target Ther.* – 2022. – V. 7. – P. 11.
12. Coleman P., Parlo R. Warburg's Ghost-Cancer's Self-Sustaining Phenotype: The Aberrant Carbon Flux in Cholesterol-Enriched Tumor Mitochondria via Deregulated Cholesterologenesis // *Front Cell Dev Biol.* – 2021. – V. 9, № 626316.
13. Ascierto P. Adjuvant nivolumab versus ipilimumab in resected stage IIIB-C and stage IV melanoma (CheckMate 238): 4-year results from a multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase 3 trial // *Lancet Oncol.* – 2020. – V. 21. – P. 1465–1477.
14. Dai X. Energy status dictates PD-L1 protein abundance and anti-tumor immunity to enable checkpoint blockade // *Mol Cell.* – 2021. – V. 81. – P. 2317–2331.e6.
15. Xia S. Prevention of Dietary-Fat-Fueled Ketogenesis Attenuates BRAF V600E Tumor Growth // *Cell Metab.* – 2017. – V. 25. – P. 358–373.
16. Khodabakhshi A. Effects of Ketogenic metabolic therapy on patients with breast cancer: A randomized controlled clinical trial // *Clin Nutr.* – 2021. – V. 40. – P. 751–758.
17. Seyfried T.N. Consideration of Ketogenic Metabolic Therapy as a Complementary or Alternative Approach for Managing Breast Cancer // *Front Nutr.* – 2020. – V. 7, № 21.
18. Tulipan J., Kofler B. Implementation of a Low-Carbohydrate Diet Improves the Quality of Life of Cancer Patients – An Online Survey // *Front Nutr.* – 2021. – V. 8. – P. 661253.

19. Klement R, Weigel M, Sweeney R. A ketogenic diet consumed during radiotherapy improves several aspects of quality of life and metabolic health in women with breast cancer // *Clin Nutr.* – 2021. – V. 40. – P. 4267–4274.
20. Ballard-Barbash R. Physical activity, biomarkers, and disease outcomes in cancer survivors: a systematic review // *J Natl Cancer Inst.* – 2012. – V. 104. – P. 815–840.
21. Hojman P, Gebli J, Christensen J, Pedersen B. Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment // *Cell Metab.* – 2018. – V. 27. – P. 10–21.
22. Zylstra J. Exercise prehabilitation during neoadjuvant chemotherapy may enhance tumour regression in oesophageal cancer: results from a prospective non-randomised trial // *Br J Sports Med* bjsports. – 2022.
23. Pusapati R. mTORC1-Dependent Metabolic Reprogramming Underlies Escape from Glycolysis Addiction in Cancer Cell // *Cancer Cell.* – 2016. – V. 29. – P. 548–562.
24. Liu G, Sabatini D. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2020. – V. 21. – P. 183–203.
25. Li C. Mitochondrial DNA stress triggers autophagy-dependent ferroptotic death // *Autophagy.* – 2021. – V. 17. – P. 948–960.
26. Romero R. Keap1 loss promotes Kras-driven lung cancer and results in dependence on glutaminolysis // *Nat Med.* – 2017. – V. 23. – P. 1362–1368.
27. Mayers J. Tissue of origin dictates branched-chain amino acid metabolism in mutant Kras-driven cancers // *Science.* – 2016. – V. 353. – P. 1161–1165.
28. Kinsey C. Protective autophagy elicited by RAF→MEK→ERK inhibition suggests a treatment strategy for RAS-driven cancers // *Nat Med.* – 2019. – V. 25. – P. 861.
29. Mukhopadhyay S, Mahapatra K, Prabaraj P, Patil S, Bbutia S. Recent progress of autophagy signaling in tumor microenvironment and its targeting for possible cancer therapeutics // *Semin Cancer Biol.* – 2021. – S1044-579X(21)00227.
30. Shan C. The Emerging Roles of Autophagy-Related MicroRNAs in Cancer // *Int J Biol Sci.* – 2021. – V. 17. – P. 134–150.
31. Yuneva M.O., et al. The metabolic profile of tumors depends on both the responsible genetic lesion and tissue type // *Cell Metab.* – 2012. – V. 15. – P. 157–170.
32. Venugopal S. Efficacy and safety of enasidenib and azacitidine combination in patients with IDH2 mutated acute myeloid leukemia and not eligible for intensive chemotherapy // *Blood Cancer J.* – 2022. – V. 12, № 10.
33. Xu G, Wang H, Li X, Huang R, Luo L. Recent progress on targeting ferroptosis for cancer therapy // *Biochem Pharmacol.* – 2021. – P. 114584.
34. Badgley M. Cysteine depletion induces pancreatic tumor ferroptosis in mice // *Science.* – 2020. – V. 368. – P. 85–89.
35. Dixon S. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death // *Cell.* – 2012. – V. 149. – P. 1060–1072.
36. Yang W. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 // *Cell.* – 2014. – V. 156. – P. 317–331.
37. Fang S, Yu X, Ding H, Han J, Feng J. Effects of intracellular iron overload on cell death and identification of potent cell death inhibitors // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2018. – V. 503. – P. 297–303.
38. Gan B. Mitochondrial regulation of ferroptosis // *J Cell Biol.* – 2021. – V. 220. – P. e202105043.
39. Du J, Cullen J, Buettner G. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer // *Biochim Biophys Acta.* – 2012. – V. 1826. – P. 443–457.
40. Carpenter K.J. The discovery of vitamin C // *Ann Nutr Metab.* – 2012. – V. 61. – P. 259–264.
41. Peterkofsky B. Ascorbate requirement for hydroxylation and secretion of procollagen: relationship to inhibition of collagen synthesis in scurvy // *Am J Clin Nutr.* – 1991. – V. 54. – P. 1135S–1140S.
42. Reczek C, Chandel N. CANCER. Revisiting vitamin C and cancer // *Science.* – 2015. – V. 350. – P. 1317–1318.
43. Creagan E. Failure of high-dose vitamin C (ascorbic acid) therapy to benefit patients with advanced cancer. A controlled trial // *N Engl J Med.* – 1979. – V. 301. – P. 687–690.
44. Moertel C. High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy. A randomized double-blind comparison // *N Engl J Med.* – 1985. – V. 312. – P. 137–141.
45. Zasowska-Nowak A, Nowak P, Cialkowska-Rysz A. High-Dose Vitamin C in Advanced-Stage Cancer Patients // *Nutrients.* – 2021. – V. 13.
46. Yun J. Vitamin C selectively kills KRAS and BRAF mutant colorectal cancer cells by targeting GAPDH // *Science.* – 2015. – V. 350. – P. 1391–1396.
47. Ngo B, Van Ripper J, Cantley L, Yun J. Targeting cancer vulnerabilities with high-dose vitamin C // *Nat Rev Cancer.* – 2019.
48. El Halabi I. Ascorbic Acid in Colon Cancer: From the Basic to the Clinical Applications // *Int J Mol Sci.* – 2018. – V. 19.
49. Giansanti M, Karimi T, Faraoni I, Graziani G. High-Dose Vitamin C: Preclinical Evidence for Tailoring Treatment in Cancer Patients // *Cancers (Basel).* – 2021. – V. 13. – P. 1428.
50. Lee S. Quo Vadis Oncological Hyperthermia // *Front Oncol.* – 2020. – V. 10. – P. 1690.
51. Webb B, Chimenti M, Jacobson M, Barber D. Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression // *Nat Rev Cancer.* – 2011. – V. 11. – P. 671–677.
52. Robey I, Nesbit L. Investigating mechanisms of alkalization for reducing primary breast tumor invasion // *Biomed Res Int.* – 2013. – P. 485196.

53. *Azzarito T.* Effect of Modified Alkaline Supplementation on Syngenic Melanoma Growth in CB57/BL Mice // *PLoS One.* – 2016. – V. 11. – P. e0159763.
54. *Ando H.* Increasing Tumor Extracellular pH by an Oral Alkalinizing Agent Improves Antitumor Responses of Anti-PD-1 Antibody: Implication of Relationships between Serum Bicarbonate Concentrations, Urinary pH, and Therapeutic Outcomes // *Biol Pharm Bull.* – 2021. – V. 44. – P. 844–852.
55. *Hamaguchi R.* Effects of Alkalinization Therapy on Chemotherapy Outcomes in Advanced Pancreatic Cancer: A Retrospective Case-Control Study // *In Vivo.* – 2020. – V. 34. – P. 2623–2629.
56. *Marullo R.* The metabolic adaptation evoked by arginine enhances the effect of radiation in brain metastases // *Science Advances.* – 2021. – V. 7.
57. *Lundberg J., Weitzberg E., Gladwin M.* The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics // *Nat Rev Drug Discov.* – 2008. – V. 7. – P. 156–167.
58. *Heinecke J.* Tumor microenvironment-based feed-forward regulation of NOS2 in breast cancer progression // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2014. – V. 111. – P. 6323–6328.

Reference

1. *Hanabian D.* Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov.* 2022; 12: 31-46.
2. *Pavlova N., Thompson C.* The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metab.* 2016; 23: 27-47.
3. *Kerk S., Papagiannakopoulos T., Shih Y., Lyssiotis C.* Metabolic networks in mutant KRAS-driven tumours: tissue specificities and the microenvironment. *Nat Rev Cancer.* 2021.
4. *Stine Z., Schug Z., Salvino J., Dang C.* Targeting cancer metabolism in the era of precision oncology. *Nat Rev Drug Discov.* 2021.
5. *Shim H., Chun Y.S., Lewis B.C., Dang C.V.* A unique glucose-dependent apoptotic pathway induced by c-Myc. *Proc Natl Acad Sci USA* 95. 1998; 1511-1516.
6. *Yuneva M., Zamboni N., Oefner P., Sachidanandam R., Lazebnik Y.* Deficiency in glutamine but not glucose induces MYC-dependent apoptosis in human cells. *The Journal of Cell Biology.* 2007; 178: 93-105.
7. *Prager M., Baechtel F.* Human renal carcinoma: asparagine independence with asparaginase susceptibility in culture. *Cancer Lett.* 1988; 43: 191-195.
8. *Douer D., Gökbuget N., Stock W., Boissel N.* Optimizing use of L-asparaginase-based treatment of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood Rev.* 2021; 100908.
9. *Li H.* The landscape of cancer cell line metabolism. *Nat Med.* 2019; 25: 850-860.
10. *Lugtenberg R.* Quality of life and illness perceptions in patients with breast cancer using a fasting mimicking diet as an adjunct to neoadjuvant chemotherapy in the phase 2 DIRECT (BOOG 2013-14) trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2021; 185: 741-758.
11. *Zhu H.* Ketogenic diet for human diseases: the underlying mechanisms and potential for clinical implementations. *Signal Transduct Target Ther.* 2022; 7: 11.
12. *Coleman P., Parlo R.* Warburg's Ghost-Cancer's Self-Sustaining Phenotype: The Aberrant Carbon Flux in Cholesterol-Enriched Tumor Mitochondria via Deregulated Cholesterogenesis. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9(626316).
13. *Ascierto P.* Adjuvant nivolumab versus ipilimumab in resected stage IIIB-C and stage IV melanoma (CheckMate 238): 4-year results from a multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2020; 21: 1465-1477.
14. *Dai X.* Energy status dictates PD-L1 protein abundance and anti-tumor immunity to enable checkpoint blockade. *Mol Cell.* 2021; 81: 2317-2331.e6.
15. *Xia S.* Prevention of Dietary-Fat-Fueled Ketogenesis Attenuates BRAF V600E Tumor Growth. *Cell Metab.* 2017; 25: 358-373.
16. *Khodabakhshi A.* Effects of Ketogenic metabolic therapy on patients with breast cancer: A randomized controlled clinical trial. *Clin Nutr.* 2021; 40: 751-758.
17. *Seyfried T.N.* Consideration of Ketogenic Metabolic Therapy as a Complementary or Alternative Approach for Managing Breast Cancer. *Front Nutr.* 2020; 7(21).
18. *Tulipan J., Kofler B.* Implementation of a Low-Carbohydrate Diet Improves the Quality of Life of Cancer Patients – An Online Survey. *Front Nutr.* 2021; 8: 661253.
19. *Klement R., Weigel M., Sweeney R.* A ketogenic diet consumed during radiotherapy improves several aspects of quality of life and metabolic health in women with breast cancer. *Clin Nutr.* 2021; 40: 4267-4274.
20. *Ballard-Barbash R.* Physical activity, biomarkers, and disease outcomes in cancer survivors: a systematic review. *J Natl Cancer Inst.* 2012; 104: 815-840.
21. *Hojman P., Gebel J., Christensen J., Pedersen B.* Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment. *Cell Metab.* 2018; 27: 10-21.
22. *Zylstra J.* Exercise prehabilitation during neoadjuvant chemotherapy may enhance tumour regression in oesophageal cancer: results from a prospective non-randomised trial. *Br J Sports Med* bjsports. 2022.
23. *Pusapati R.* mTORC1-Dependent Metabolic Reprogramming Underlies Escape from Glycolysis Addiction in Cancer Cell. *Cancer Cell.* 2016; 29: 548-562.
24. *Liu G., Sabatini D.* mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020; 21: 183-203.