

Институт микробиологии НАН Беларуси

Перспективы использования рекомбинантных ферментов микроорганизмов и модифицированных компонентов нуклеиновых кислот для терапии рака



чл.-корр. НАН Беларуси
А.И. Зинченко

2019 год

- В 2018 году от новообразований умерло более **17 тысяч** белорусов.
- Чаще всего это были пациенты, у которых диагностировали
рак легкого, рак толстой кишки и
рак молочной железы.
- При этом медики выявили **52 тысячи** новых случаев злокачественных опухолей. С каждым годом эта цифра увеличивается на 1 тысячу.

Всего в 2018 году в Республике Беларусь на диспансерном учете находилось более 300 тыс. онкологических пациентов.

В среднем — это уже **каждый 32-й житель страны. (В 2015 г. — был каждый 37-й).**

**По утверждению руководителей РНПЦ онкологии и медицинской радиологии: –
«Онкология стала самым затратным, но и самым востребованным направлением в медицине»**

- Самым **трудным для лечения** является рак поджелудочной железы.

Только **5%** пациентов переживает 5 лет.

- **Опухоли мозга** также лечатся очень плохо и убивают пациентов за срок от 3 мес. до 3 лет.

Проблема возникновения рака до настоящего времени не имеет однозначного решения.

Известно, что по причине индуцированного и спонтанного мутагенеза у каждого человека ежедневно возникает угроза развития, по меньшей мере, 5–7 видов рака.

Главную роль в защите организма от рака играют **клетки врожденного иммунитета:**

натуральные киллеры,

макрофаги,

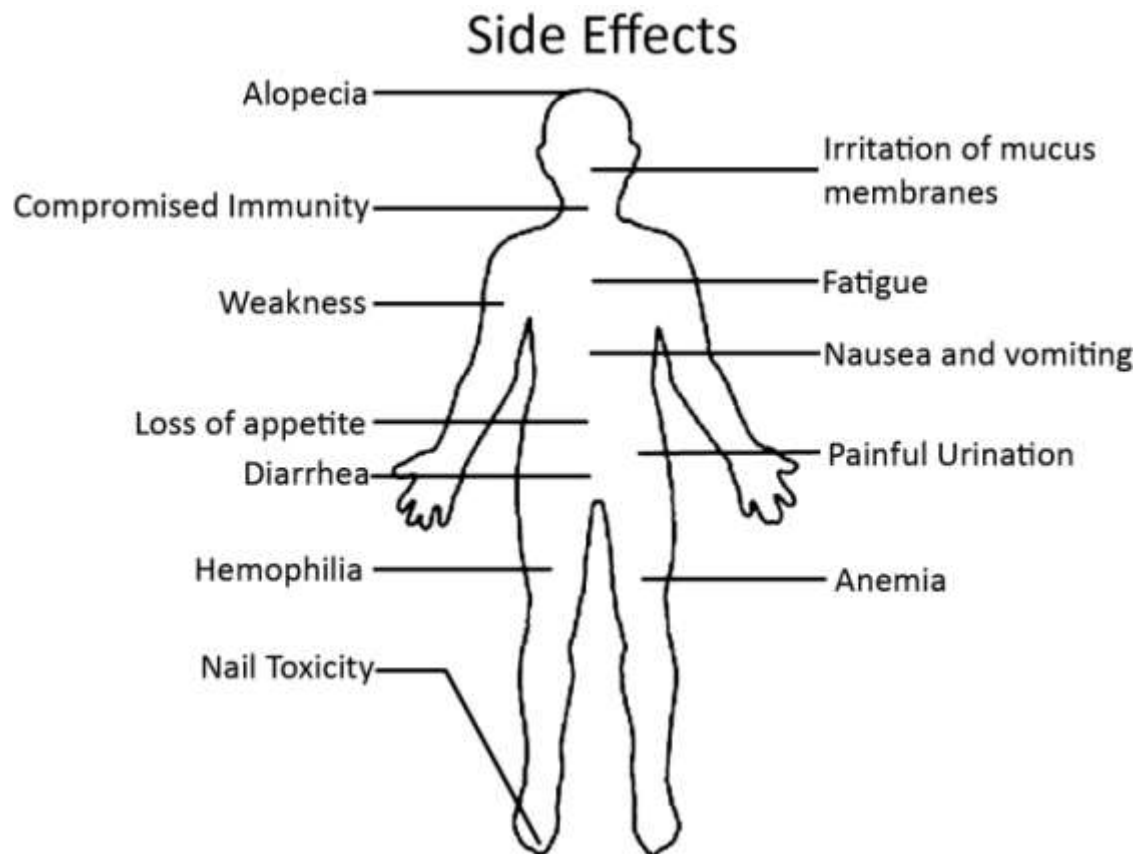
которые способны распознавать **единичные переродившиеся клетки и обезвреживать их ещё до начала развития опухоли.**

Терапия рака

Для лечения рака применяются:

лучевая терапия, хирургия и химиотерапия.

- **Радиация и хирургия** не могут излечивать метастазы, которые образуются иногда уже на ранних стадиях заболевания.
- **Химиотерапия** рака неспособна эффективно отличать «больные» клетки от здоровых (быстро обновляющихся клеток, которые присутствуют в костном мозге, пищеварительном тракте и волосяных фолликулах).



Считается, что при системном введении противоопухолевых цитостатиков лишь 1% препарата достигает цели, тогда как основная часть поражает здоровые ткани организма.

Тем не менее, уже хорошо лечатся такие опухоли, как

- лимфома Беркита,
- лимфогрануломатоз (болезнь Ходжкина),
- Рак простаты, молочной железы и шейки матки.

Прогресс в отношении терапии других (более многочисленных) заболеваний связывают с главным современным успехом в изучении рака – обнаружением **молекулярных мишеней**, уникальных для раковых клеток.

Однако, опухоли - чрезвычайно гетерогенны.

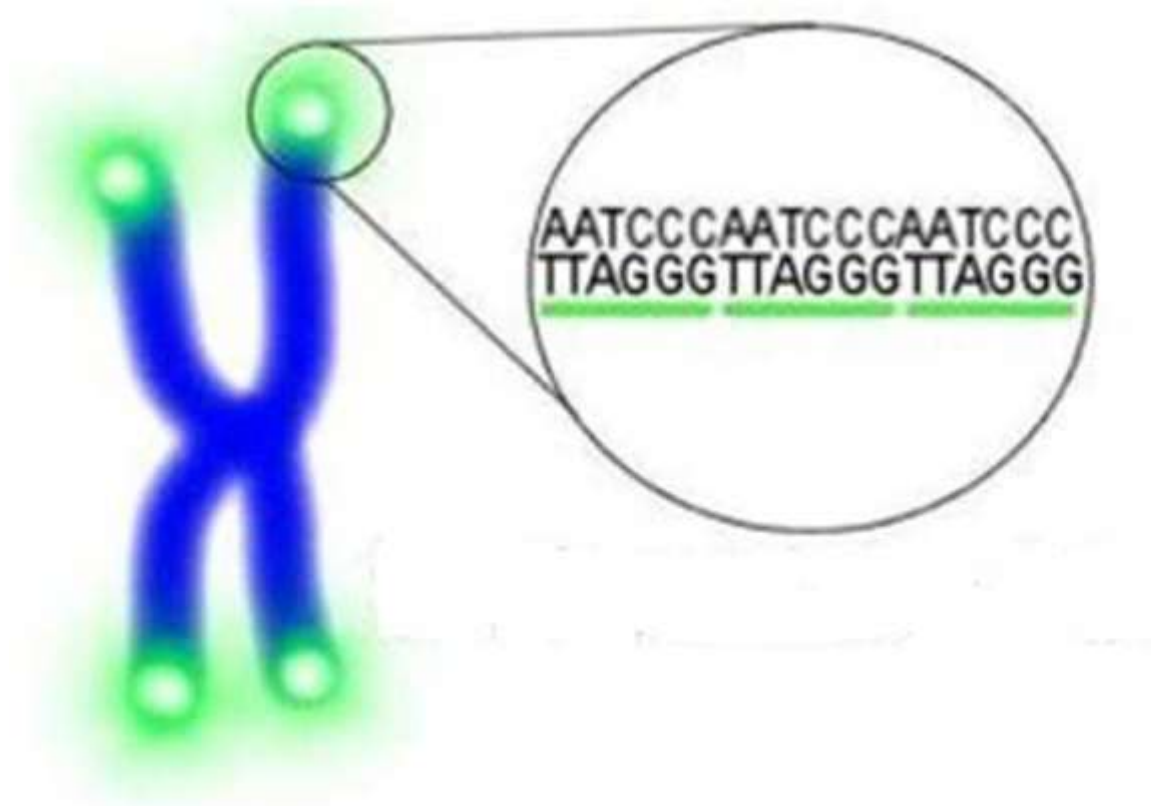
Оказалось, что не существует двух одинаковых клеток в одной опухоли или двух одинаковых клеток в разных опухолях.

- **Врачи-онкологи располагают сотнями противоопухолевых препаратов, и ежегодно регистрируются 2-3 новых средства.**
- **Сам факт наличия такого количества препаратов свидетельствует о крайнем неблагополучии в этой области медицины.**
- **Новые препараты, как правило, увеличивают выживаемость пациентов на считанные месяцы или лишь недели.**
- **При этом затраты на создание новейших препаратов и вакцин доходят до миллионов и даже миллиардов долларов и стоимость лечения становится недоступной большинству населения.**

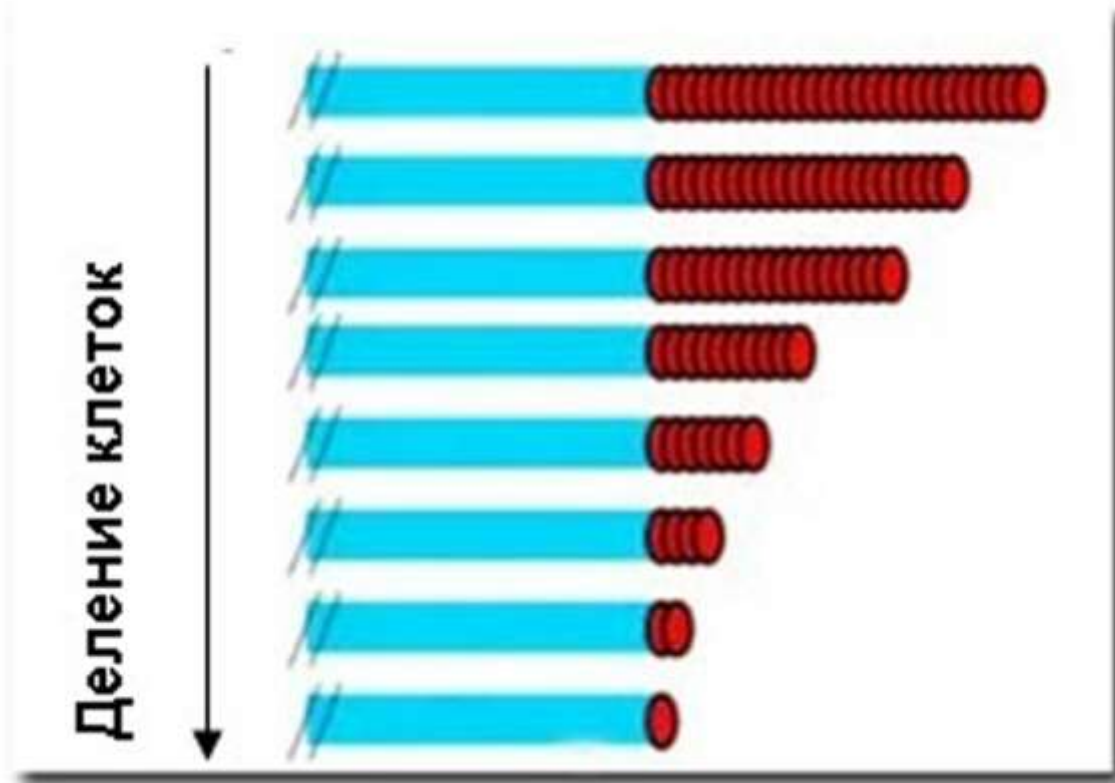
- Имеющийся к настоящему времени опыт показывает, что раковая опухоль обладает огромным потенциалом блокировать или обходить все усилия организма и врачей, направленные на ее уничтожение.
- Все это многих наводит на мысль, что традиционная **терапия рака достигла своего плато** и порождает даже сомнения в принципиальной возможности эффективной терапии этого заболевания.

Нам представляется целесообразным атаковать рак по трем направлениям:

- - нарушить механизм образования теломер (с помощью **модифицированного нуклеозида**);
- - осуществить киллинг раковых клеток, используя т.н. про-лекарственный подход (на основе применения **бактериального фермента – ПНФазы**);
- - взломать защиту опухоли от хозяинского иммунитета (при помощи **бактериального фермента аденозиндезаминазы, таргетирующей фосфолипид – фосфатидилсерин на поверхности раковых клеток**).



Схематическое изображение хромосомы человека с теломерами



Схема, иллюстрирующая сокращение длины теломер по мере деления клетки

В любой растущей клеточной популяции эти постепенные потери нуклеотидного материала приводят к критически коротким нефункциональным теломерам, геномной нестабильности и, в конечном счете (после 50–70 клеточных делений) - к апоптозу.

Считается, что сокращение теломер в нормальных клетках является препятствием на пути развития рака.

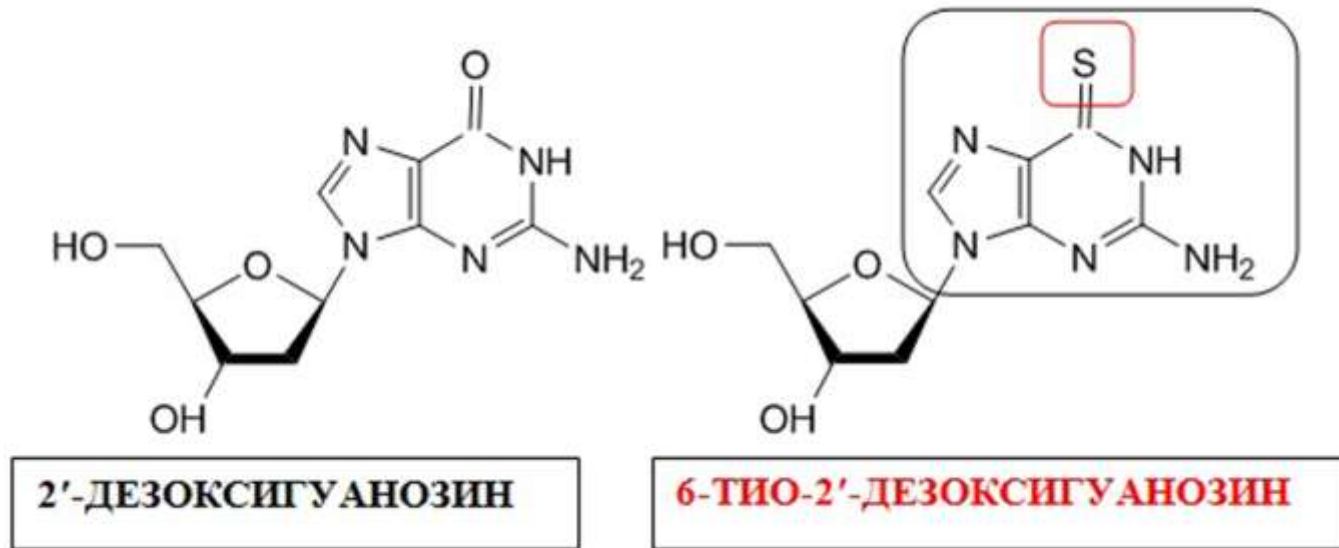
Однако в опухолевых клетках активируется особый фермент – теломераза, которая поддерживает длину теломер путем добавления утраченных ранее фрагментов ДНК на концах хромосом.

У большинства нормальных клеток теломеразы нет, но ее обнаруживают у 90% злокачественных опухолей человека.

Так возникла идея - подавить активность теломеразы в раковой клетке, что рано или поздно должно привести к критическому сокращению длины теломер и ее гибели.

Однако эта «хитрость» экспериментаторам не удалась. Среди множества проверенных ингибиторов теломеразы, пока не удалось найти соединения без непереносимых побочных эффектов.

Недавно в литературе был описан принципиально новый методический подход, приводящий к избирательному самоуничтожению раковых клеток, который основан не на ингибировании теломеразы, а на ее способности синтезировать **«бракованные» теломеры.**



6-Тио-2'-дезоксигуанозин, который является модифицированным аналогом 2'-дезоксигуанозина, при попадании в опухолевую клетку фосфорилируется до 5'-трифосфата, распознается теломеразой в качестве субстрата и затем включается во все теломеры

независимо от их размера!

Включение в теломеру модифицированного нуклеозида изменяет её структуру и она становится не способной экранироваться защитными белками. Образующаяся «голая теломера» воспринимается опухолевой клеткой как критически короткая, что приводит к запуску апоптоза и гибели клетки.

Поскольку теломераза опухолевых клеток, является **почти универсальной мишенью для терапии рака**, то разработка подходов избирательного воздействия на эту мишень, может привести к появлению лекарственных препаратов с минимальными побочными эффектами для нормальных теломераза-негативных клеток.

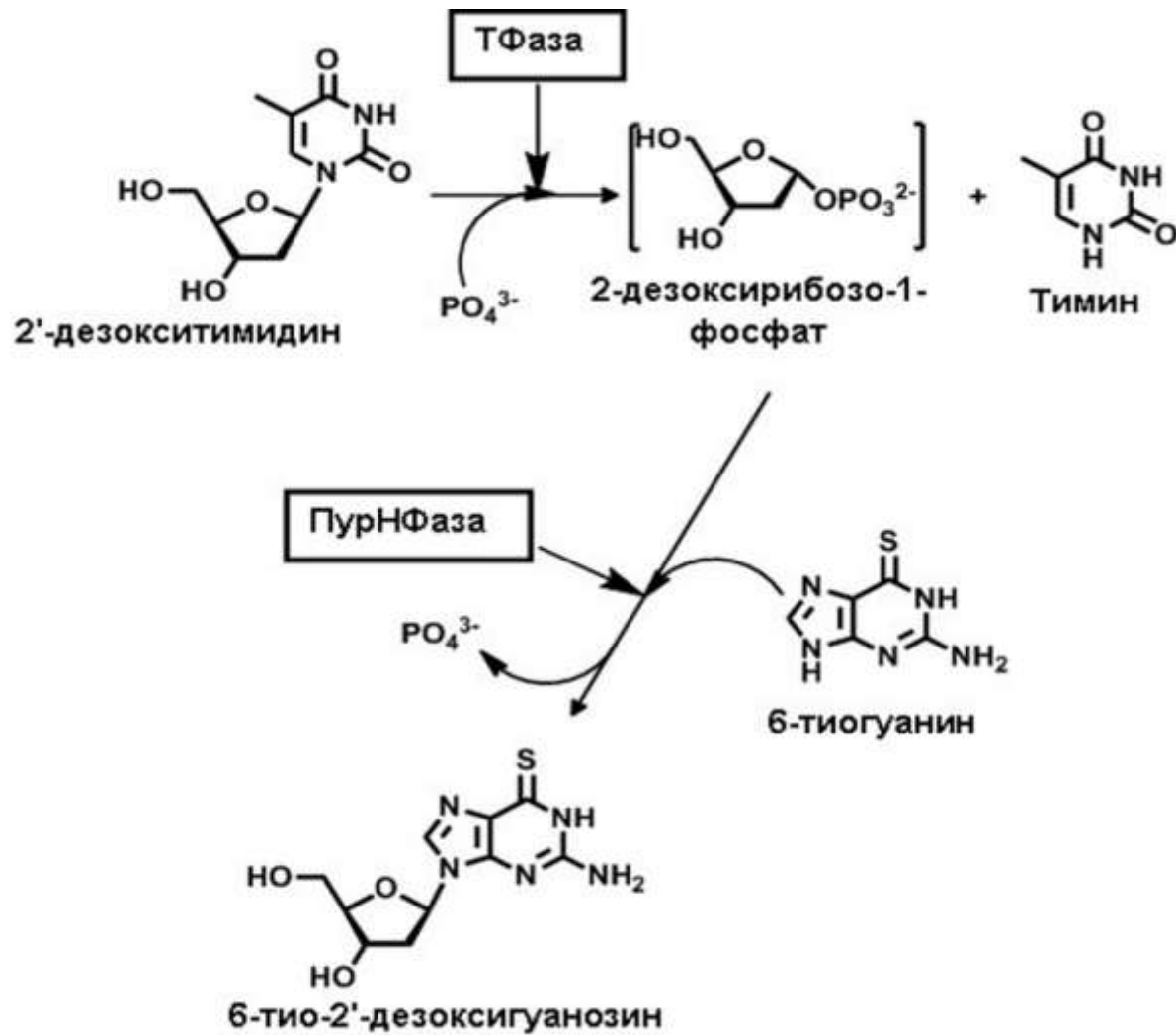
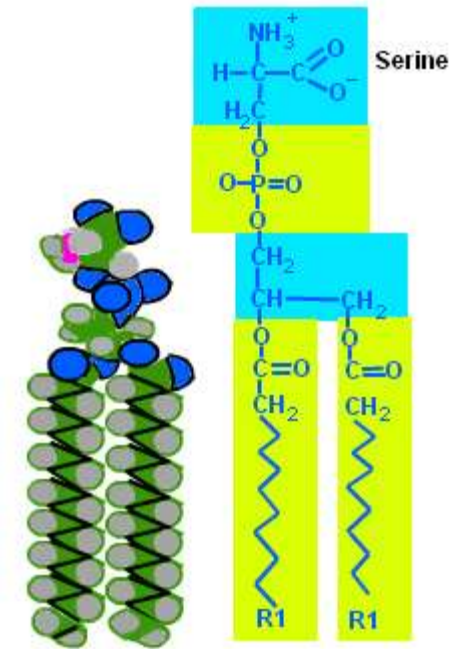


Схема синтеза 6-тио-2'-дезоксигуанозина
 с помощью рекомбинантных ферментов (ТФазы и ПурНФазы)

Кроме теломеразы в опухолевых клетках имеется еще одна специфическая мишень, а именно фосфолипид – **фосфатидилсерин**.

В 2011 году обнаружено, что расположение фосфатидилсерина на внешней стороне плазматической мембраны - **общий феномен раковых клеток**, позволяющий отличать их от клеток нормальных.



Наличие специфического маркера в составе опухолевой клетки – необходимое, но недостаточное условие для доставки туда цитостатиков.

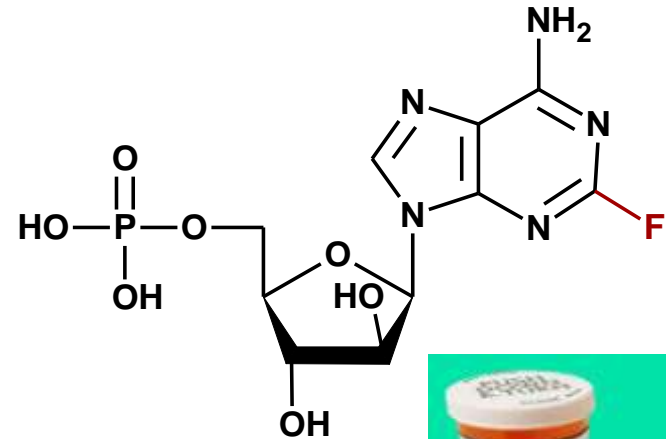
Кроме «**адреса**» необходим также и «**почтальон**» – транспортер, способный доставить препарат в опухоль в интактном виде.

Известно, что одним из таких транспортеров может выступать человеческий белок **аннексин-А5**, который высокоаффинно связывается только с **фосфатидилсерином (ФС)**.

- Такое избирательное взаимодействие аннексина-А5 с фосфатидилсерином открыло возможность использования этого белка в качестве **средства адресной доставки** к опухолевой клетке различных предварительно соединенных с ним противоопухолевых соединений (в том числе ферментов).

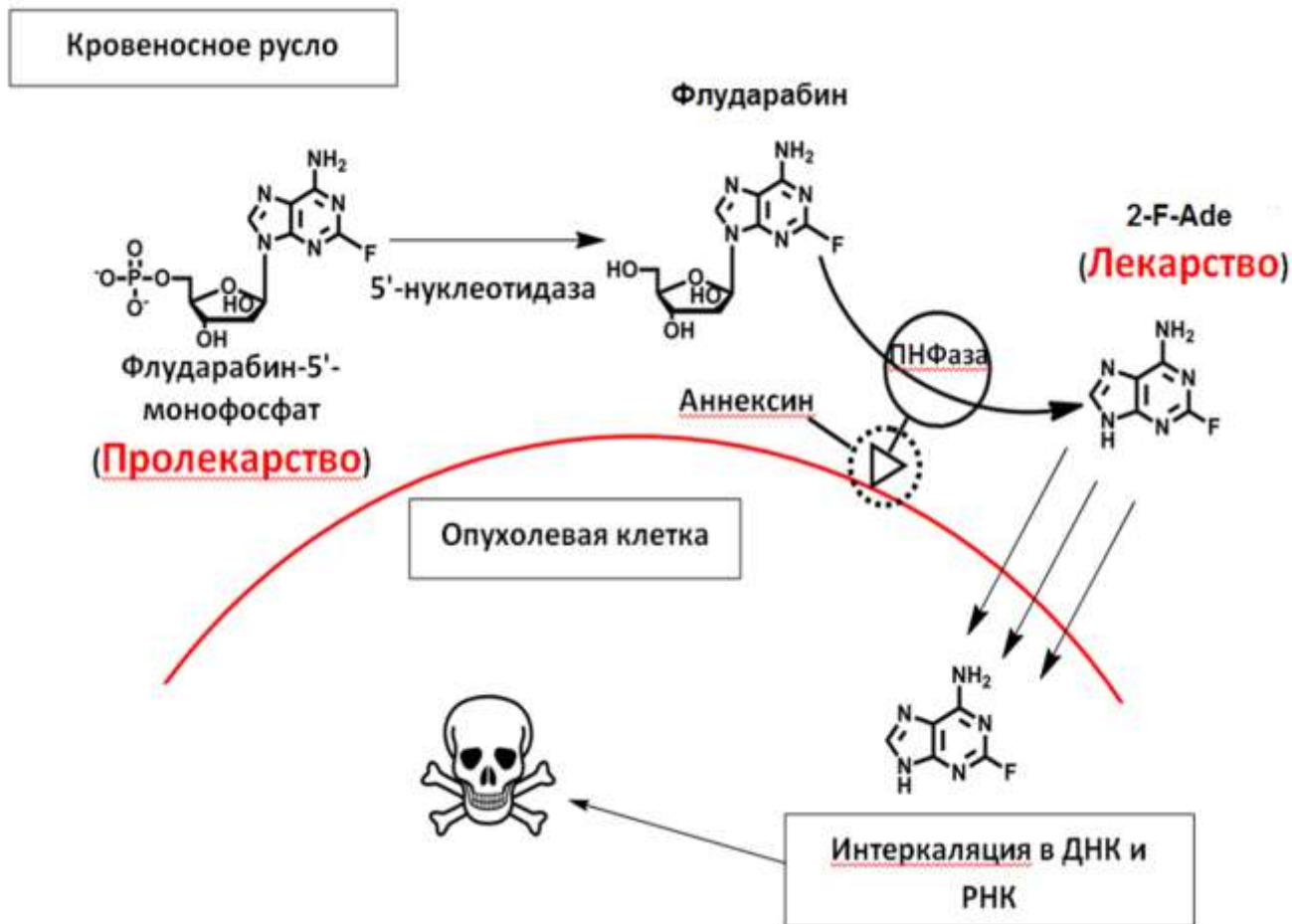
Флударабин-5'-монофосфат

(«Флударабел») применяется для терапии В-клеточного хронического лимфолейкоза. Более широкому применению препарата препятствует его нейротоксичность.

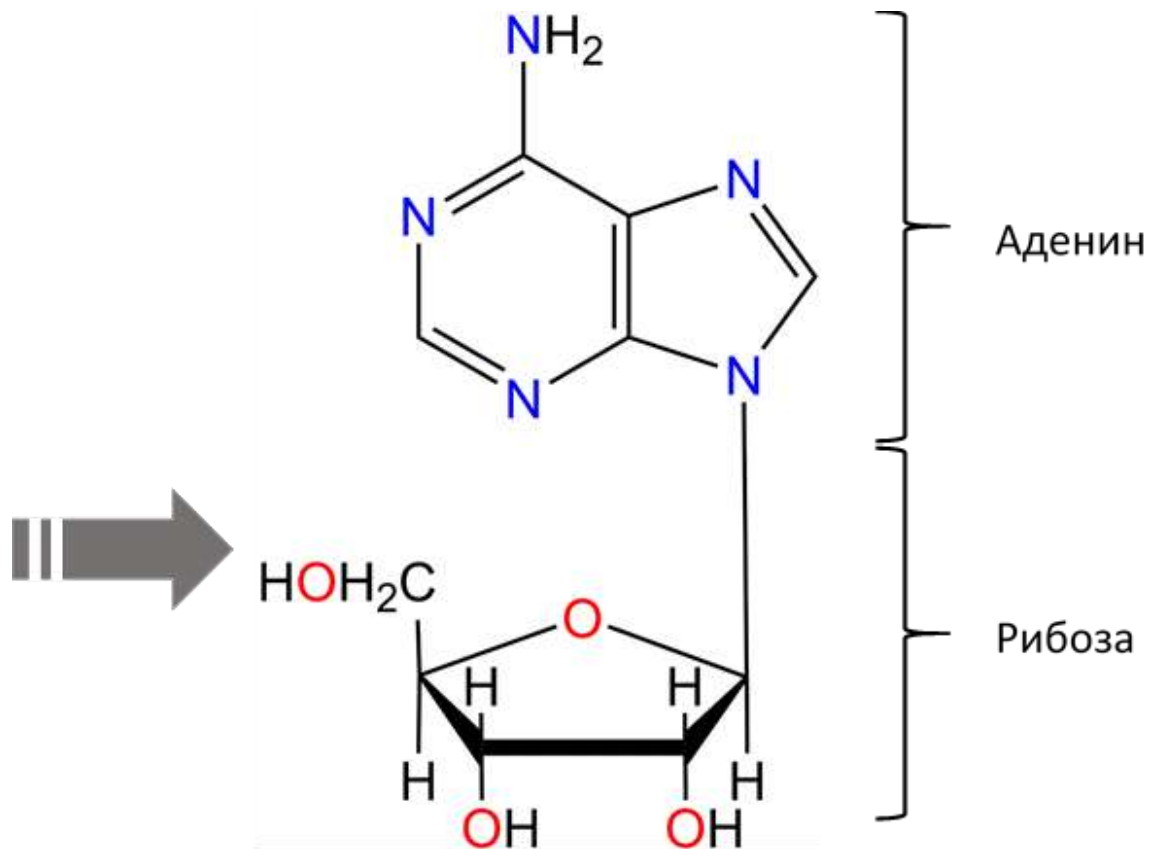


Флударабел
НПЦ «ХимФармСинтез»

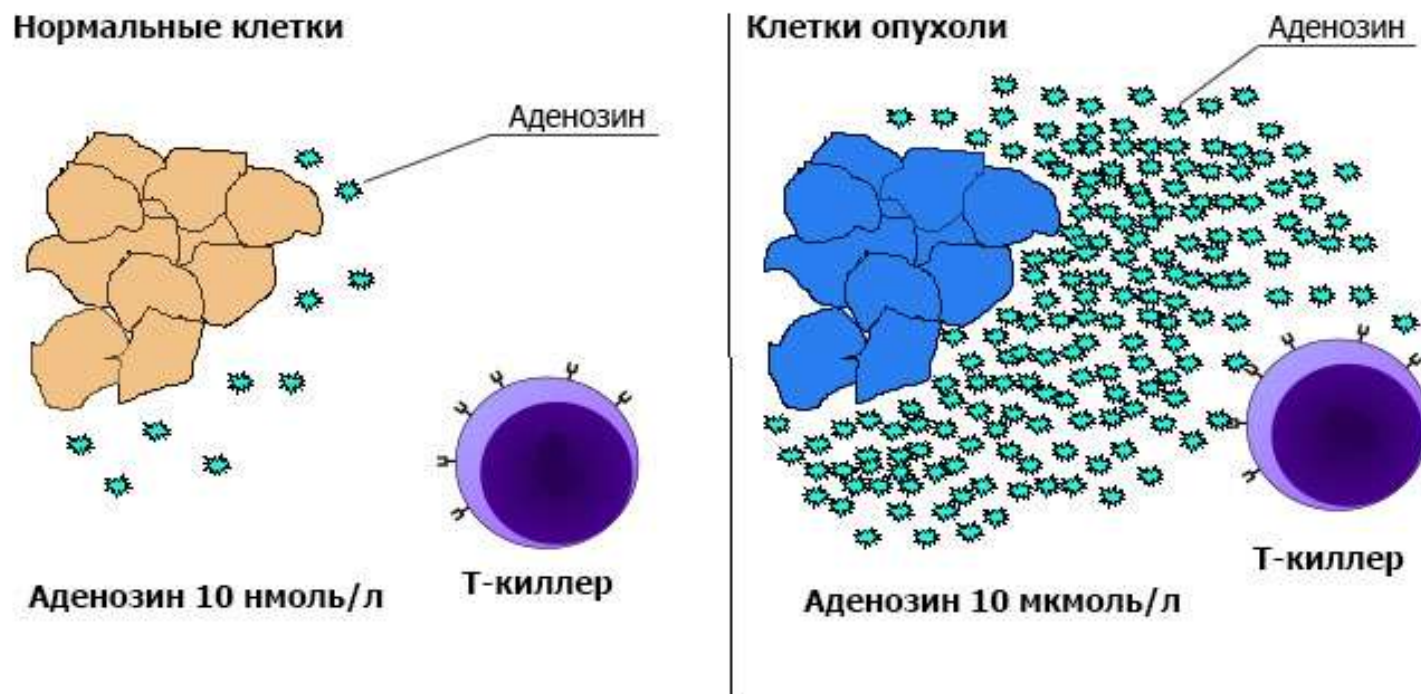
Известно, что проблема системной токсичности может быть решена с помощью так называемых пролекарств. **Пролекарства** - это инертные соединения, которые, попадая (например) в опухоль, подвергаются там трансформации в летальные для клетки субстанции (т.е. превращаются в лекарства).



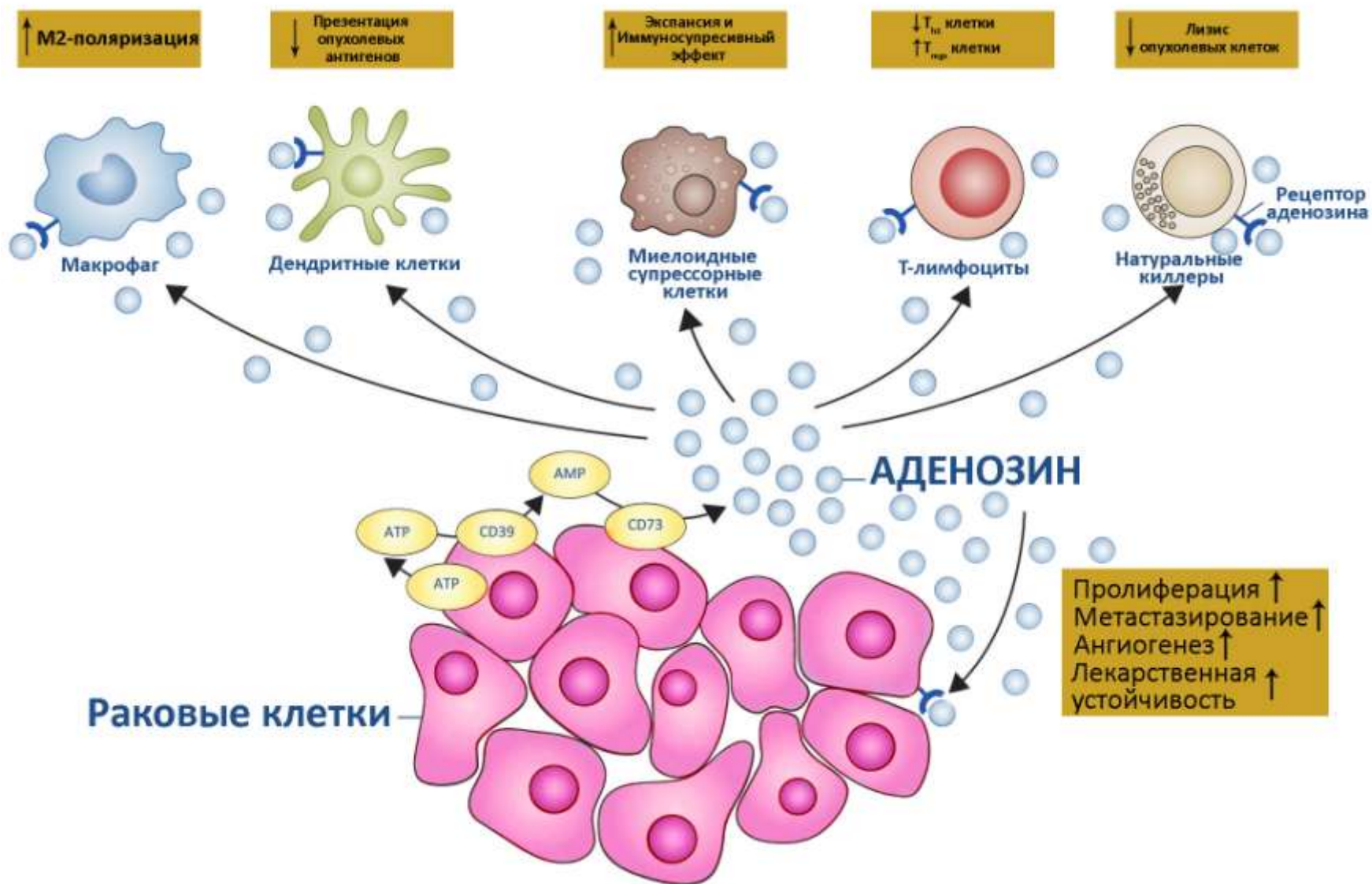
Схематическое представление ферментной пролекарственной терапии рака



Химическая структура аденозина



**Схематическое изображение молекулярного барьера
из аденозина между
опухолью и клеточным иммунитетом**

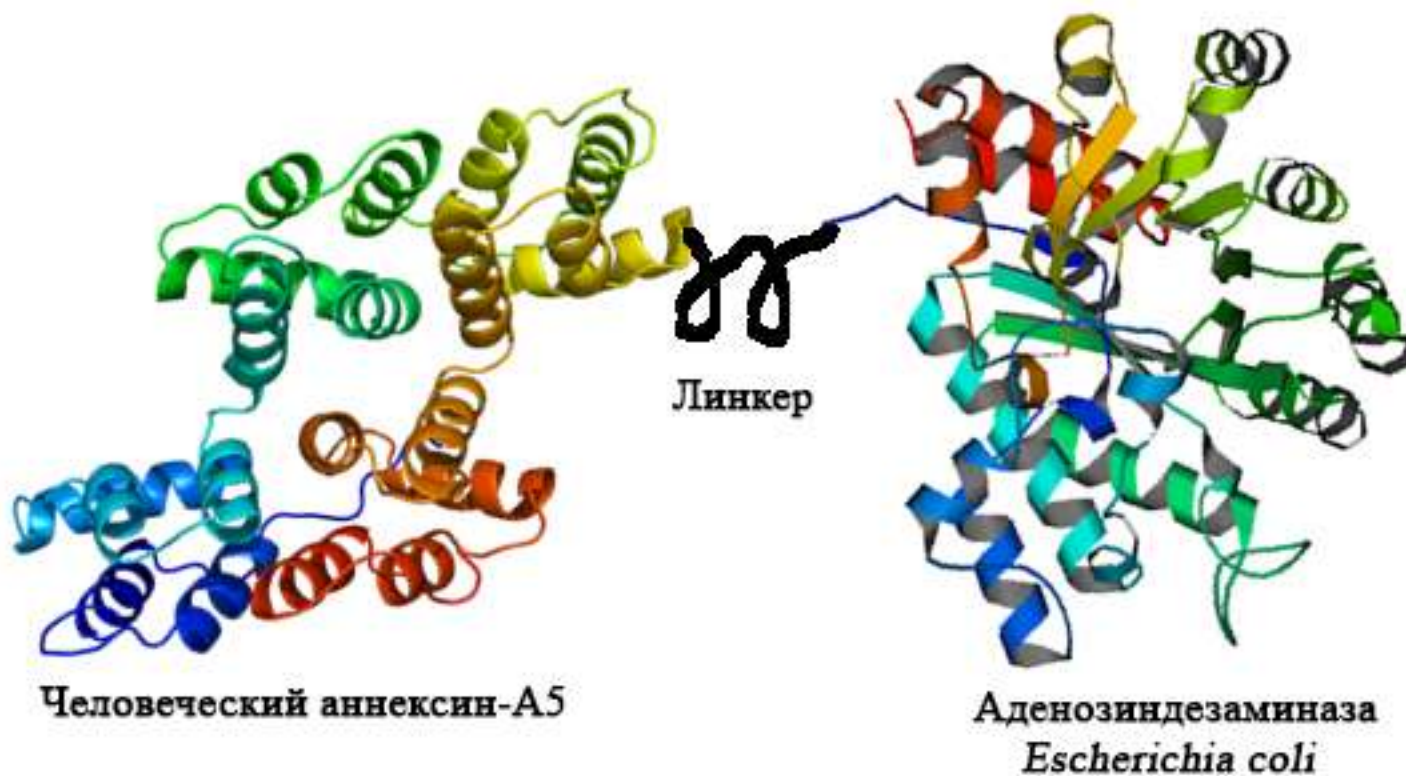


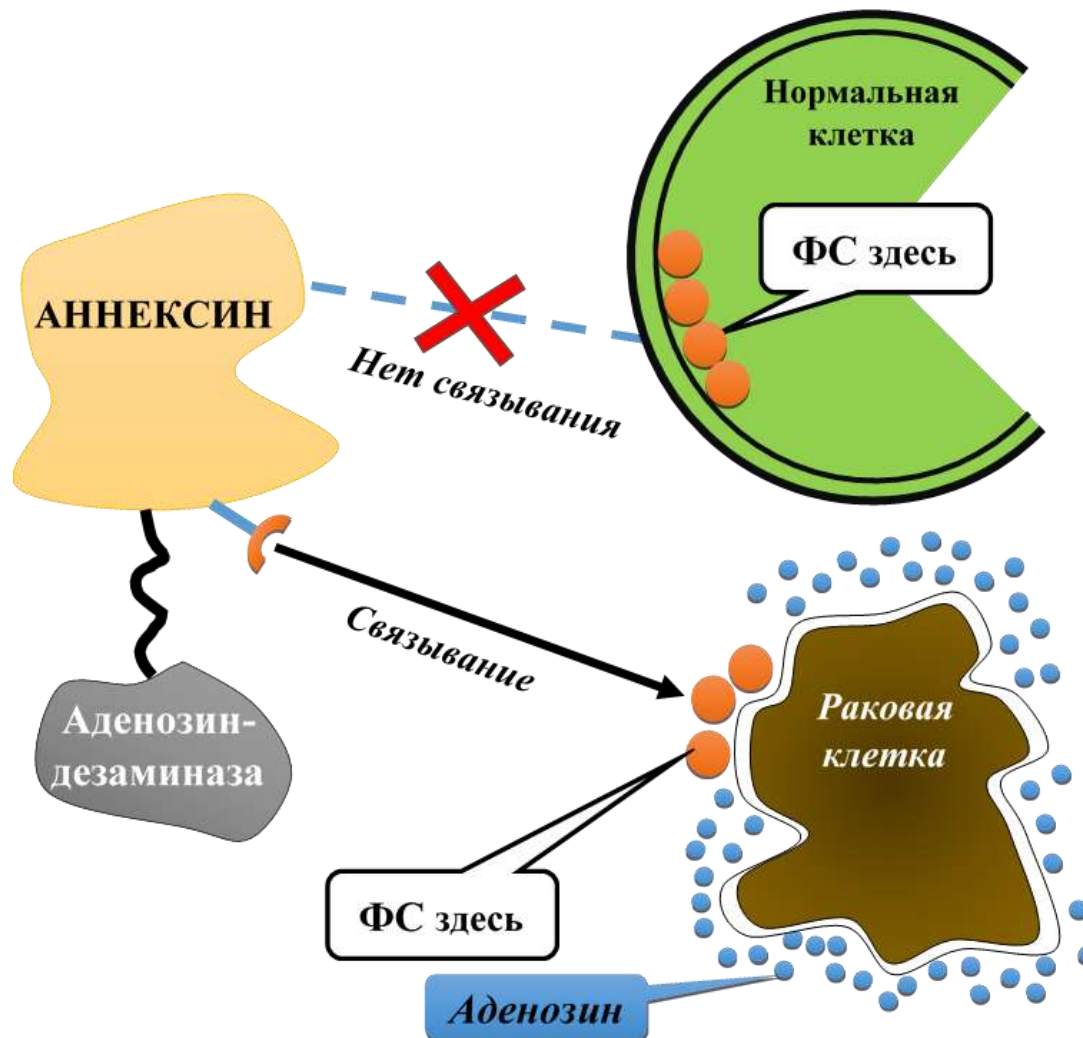
Влияние внеклеточного аденозина на клеточный иммунитет

Таким образом, к настоящему времени накоплен достаточный экспериментальный материал для доказательства того, что **внеклеточный аденозин** – один из главных факторов, ответственных за феномен супрессии противоопухолевого иммунного ответа.

Влиянием аденозина
М.Ситковский объясняет т.н. «**парадокс Хелстрема**»,
который проявляется в
«Сосуществовании в организме онкологических больных
опухолевых клеток
и
антиопухолевых иммуноцитов».

Схема молекулы рекомбинантного химерного белка
с перспективной противоопухолевой активностью





Устранение «**аденозинового** облака»
вокруг опухолевых клеток

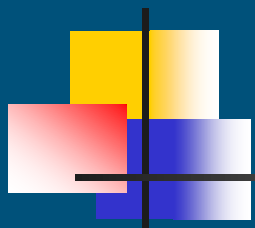
Материал опубликован:

Береснев А.И., Рышко А.Н., Ерошевская Л.А., Квач С.В., Квасюк Е.И., Зинченко А.И. Синтез флударабин-5'-монофосфата с использованием бактериальных рекомбинантных ферментов // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2017. № 1. С. 7–15.

Zinchenko A.I., Kvach S.V., Eroshevskaya L.A., Bulatovski A.B. Engineering of bacterial strain-producer of chimeric protein containing human annexin A5 and *Escherichia coli* adenosine deaminase // East. Eur. Sci. J. (Dusseldorf). 2017. N 4. P. 5–11.

Береснев А., Квасюк Е., Квач С., Зинченко А. Атака на теломеры, или подход к терапии рака с помощью 6-тио-2'-дезоксигуанозина // Наука и инновации. 2016. № 9. С. 58–61.

Зинченко А.И. Аденозин как потенциальная мишень для биотерапии рака // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2016. № 4. С. 118–128.



Благодарю за внимание