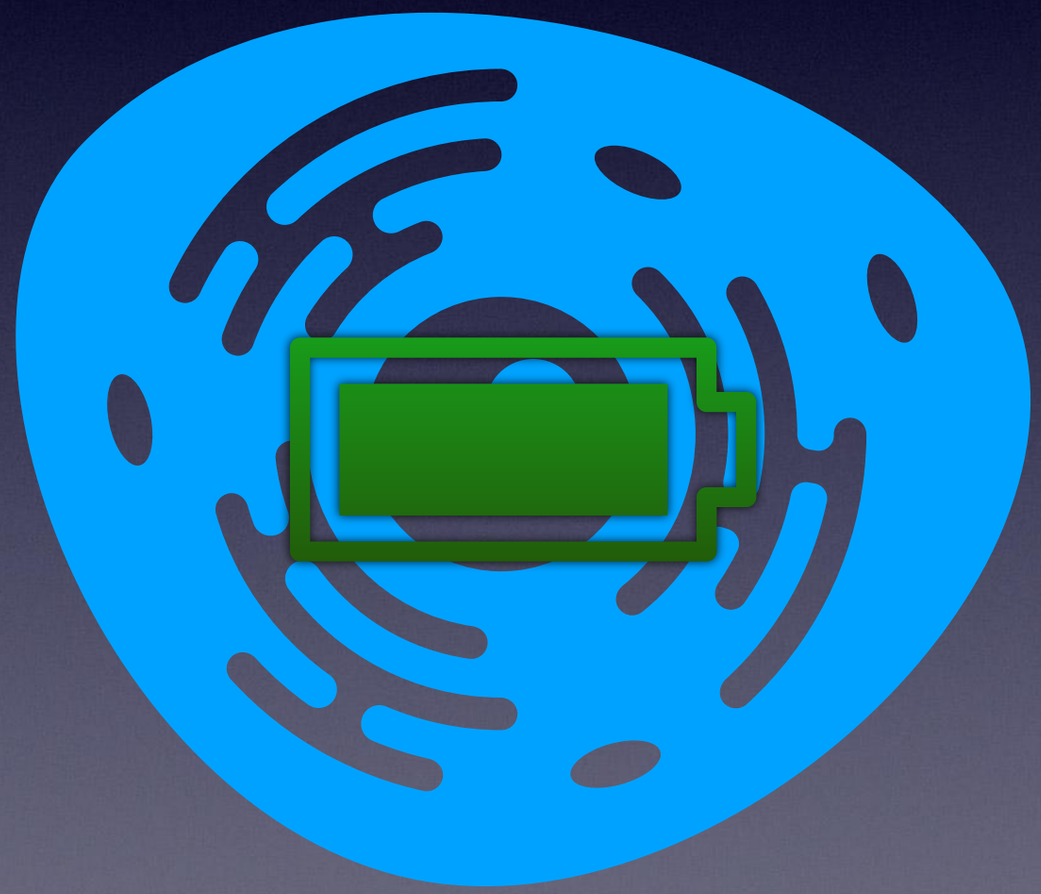
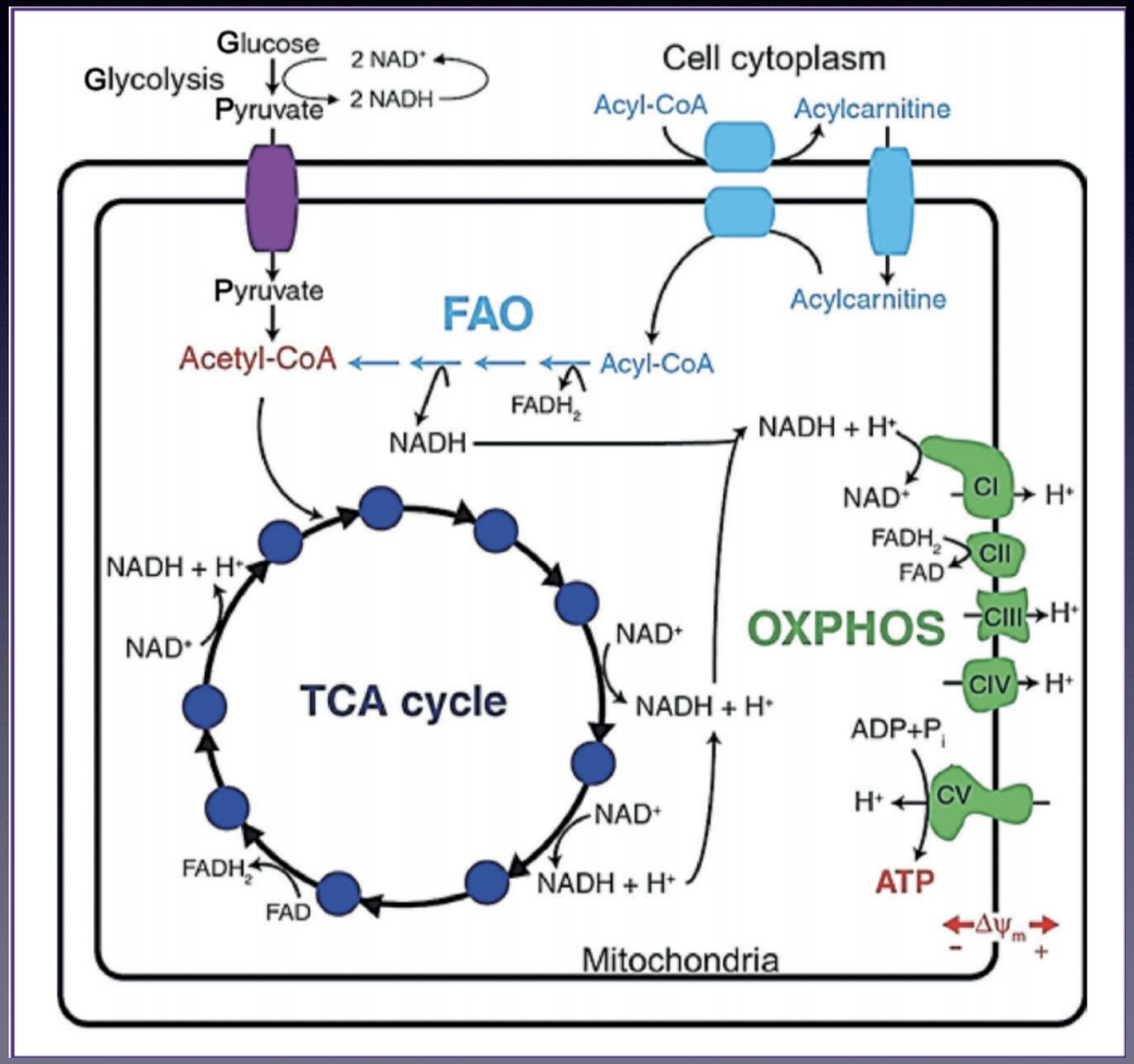
Особенности энергетического метаболизма опухолей



Доклад подготовил: Царьков СС 637

Энергетический метаболизм

- это поток реакций, сопровождающихся мобилизацией энергии и преобразованием ее в электрохимическую (дельта мю H+) или химическую (АТФ) форму, которая затем может использоваться во всех энергозависимых процессах.



Метаболические особенности опухолевых клеток:

- Активная неконтролируемая пролиферация
- Повышен уровень гликолиза
- У солидных опухолей преобладают явление гипоксии

Эффект Варбурга

Метаболизм нормальных клеток ≠ Метаболизм клеток опухолевых

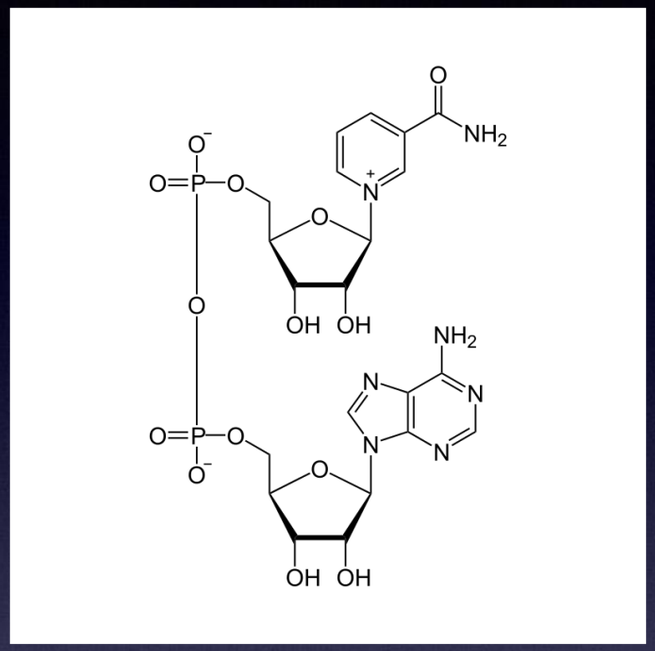
Диагностика и визуализация процесса лечения

Преимущества метаболизма опухолевой клетки

- высокая потребность опухолевых клеток в синтезе макромолекул для активного роста.
- понижено образование свободных радикалов
- продуктом гликолиза является лактат, снижение pH, что способствует опух инвазии и метастазированию

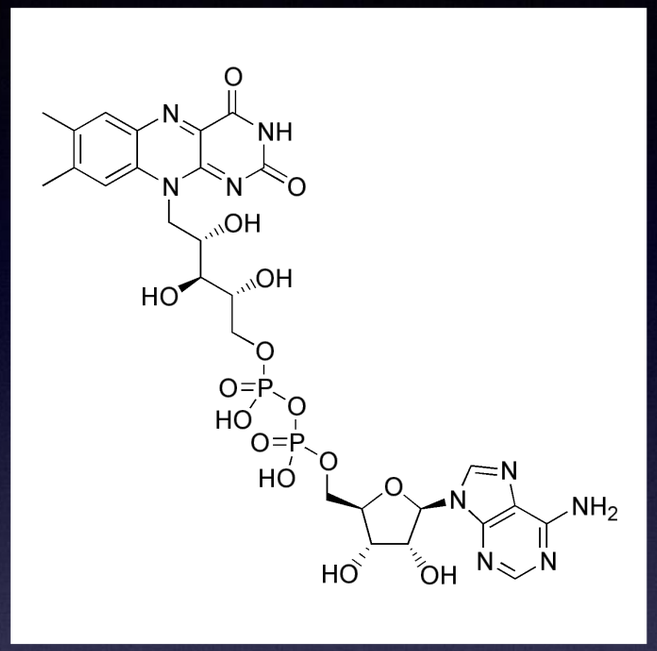
Кофакторы **НАДН** и **ФАД** и их роль в энергетическом метаболизме клетки

НАДН

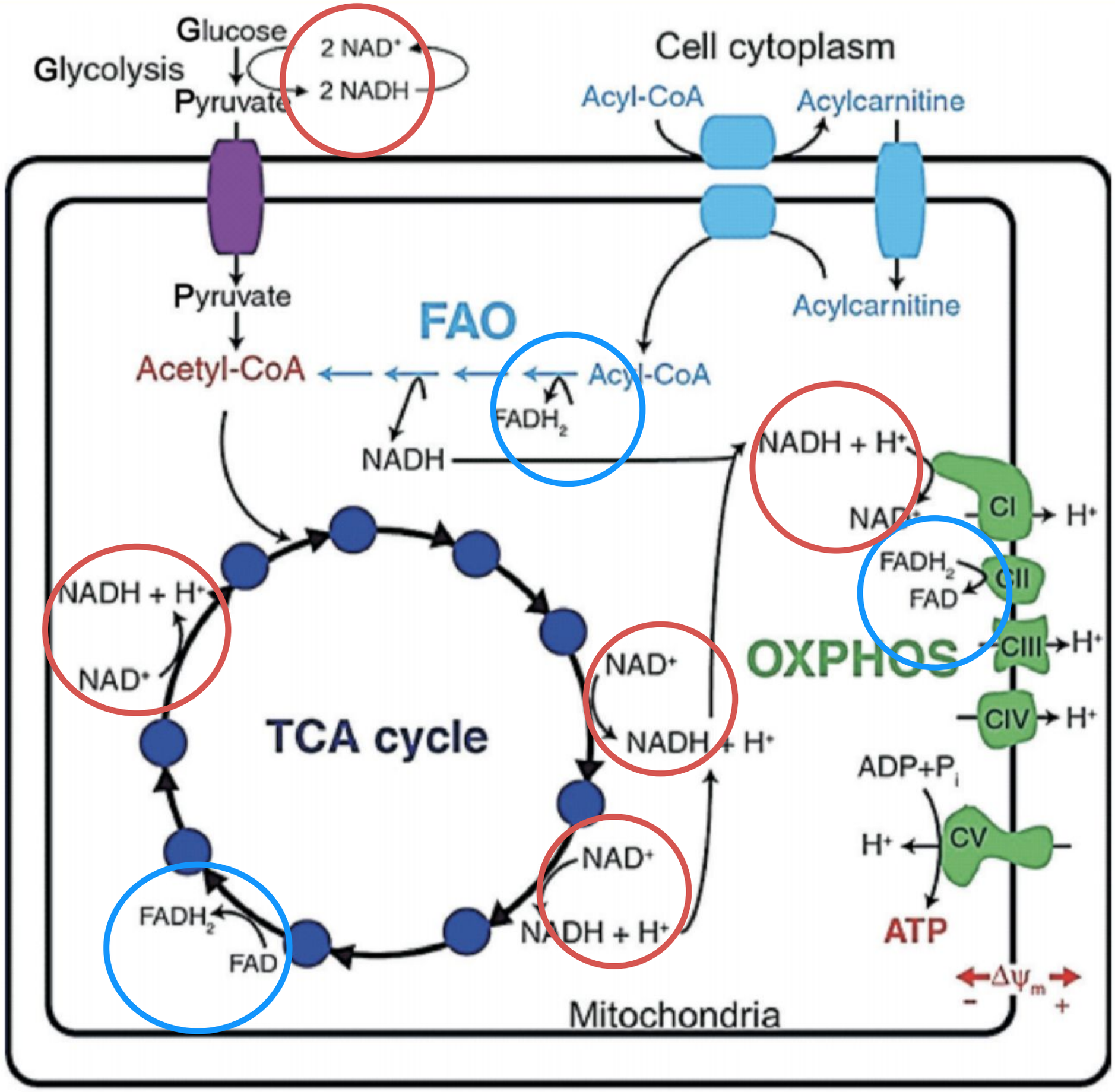


первичный донор электронов

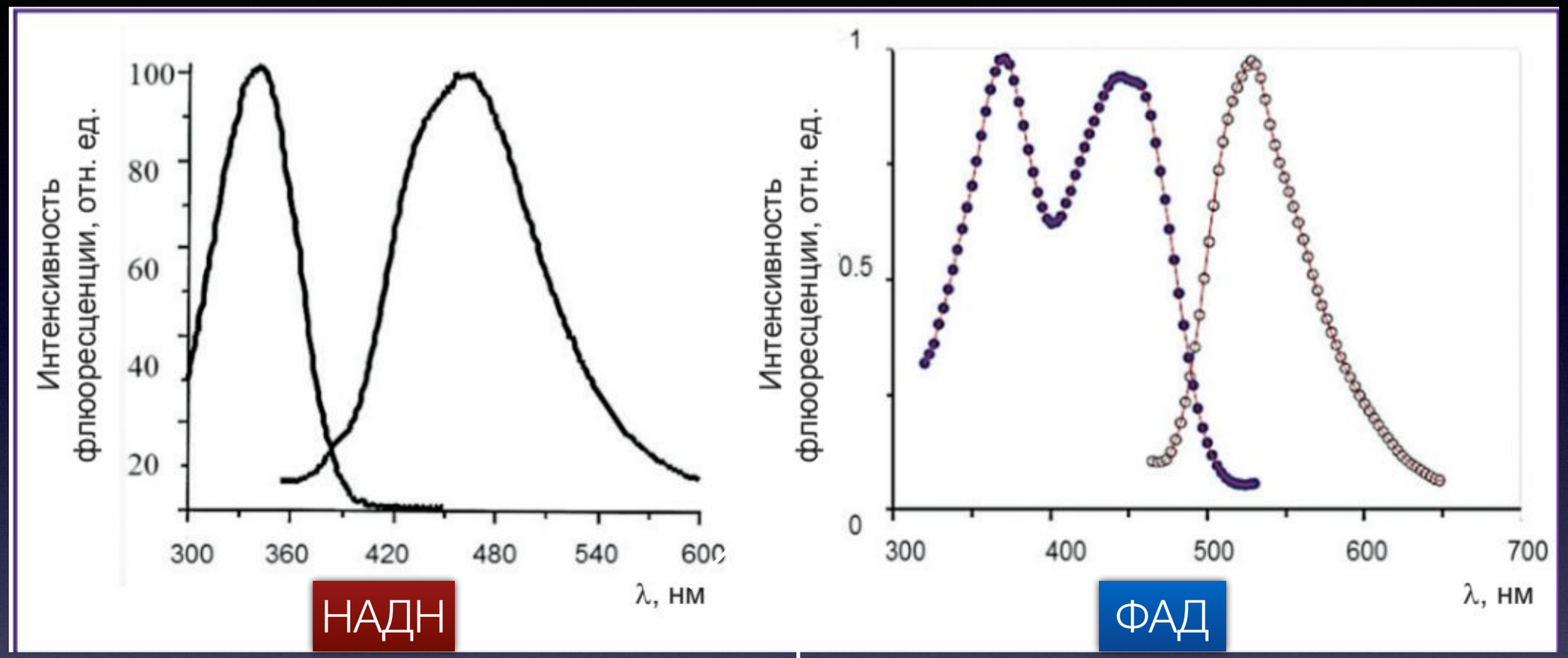
ФАД



первичный акцептор электронов и протонов в дыхательной цепи митохондрий


Glucose
Glycolysis
Pyruvate
2 NAD+
2 NADH
Cell cytoplasm
Acyl-CoA
Acylcarnitine
Acylcarnitine
Pyruvate
FAO
Acetyl-CoA
Acyl-CoA
FADH2
NADH
NADH + H+
NAD+
CI
H+
FADH2
FAD
CII
CIII
H+
OXPHOS
CIV
H+
NADH + H+
NAD+
NAD+
NADH + H+
TCA cycle
ADP+Pi
H+
CV
ATP
NAD+
NADH + H+
FADH2
FAD
Δψm
-
+
Mitochondria

Кофакторы **НАДН** и **ФАД** и их роль в энергетическом метаболизме клетки



локализован в цитоплазме и митохондриях и участвует преимущественно в энергетическом обмене клетки.

Локализован в митохондриях задействован в различных биохимических процессах (утилизация глутатиона, липогенез, перекисное окисление липидов и др)

Методы «метаболического имиджинга»

В чем перспектива?

- Неинвазивный анализ метаболических кофакторов НАДН и ФАД в живых опухолевых клетках
- С высоким пространственным разрешением (до нескольких сот нанометров)
- Без применения дополнительных красителей и без существенного влияния на биохимическое и физиологическое состояние

Редокс-отношение

(предложен в 60-х годах Чансом)

-отношение интенсивности флуоресценции окисленных электронных переносчиков к восстановленным

Используется для оценки метаболического статуса опухолевых клеток in vitro, ткани ex vivo и опухолей in vivo.

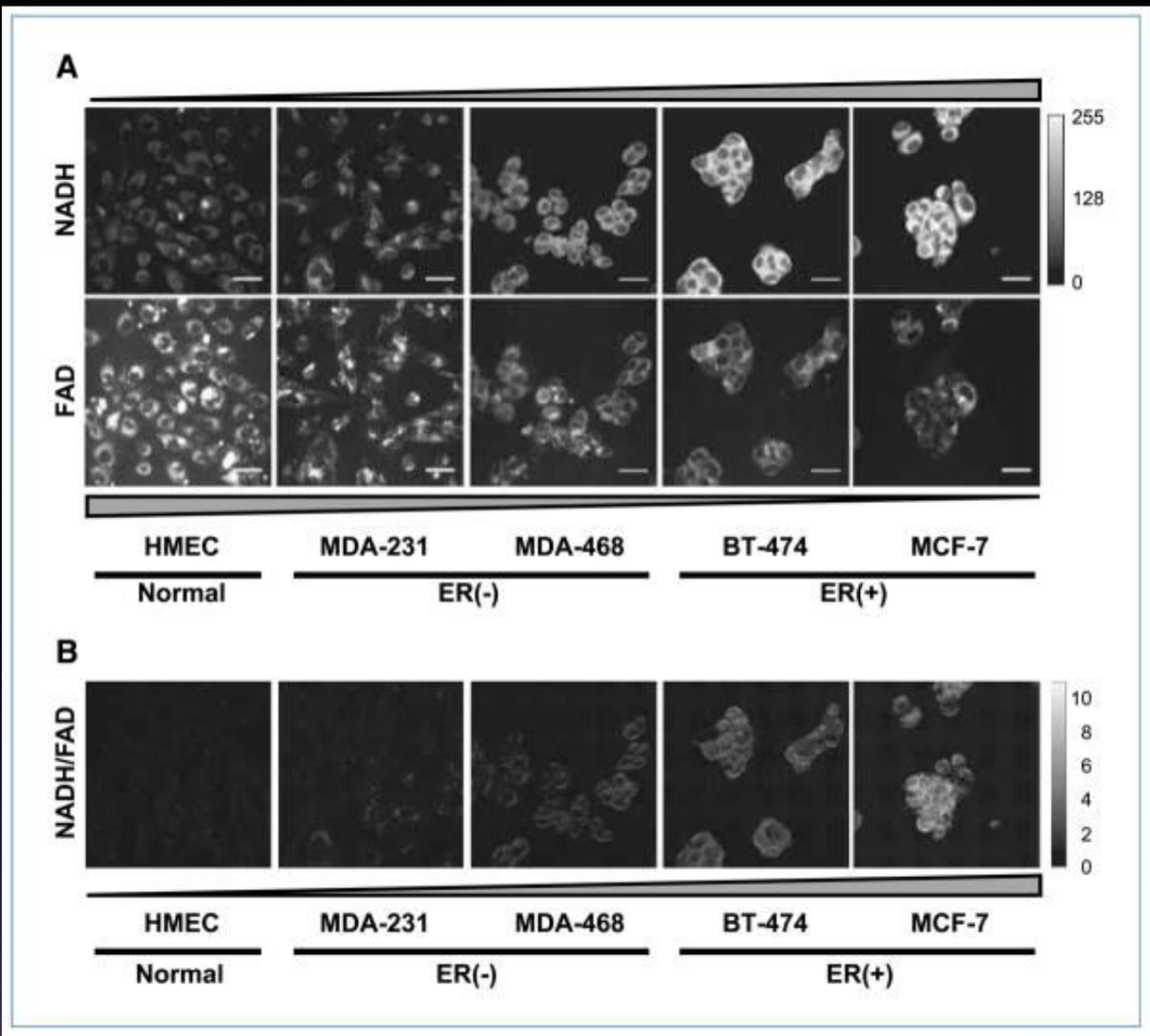
ФАД/НАДН

НАДН/ФАД

ФАД/(НАДН+ФАД)

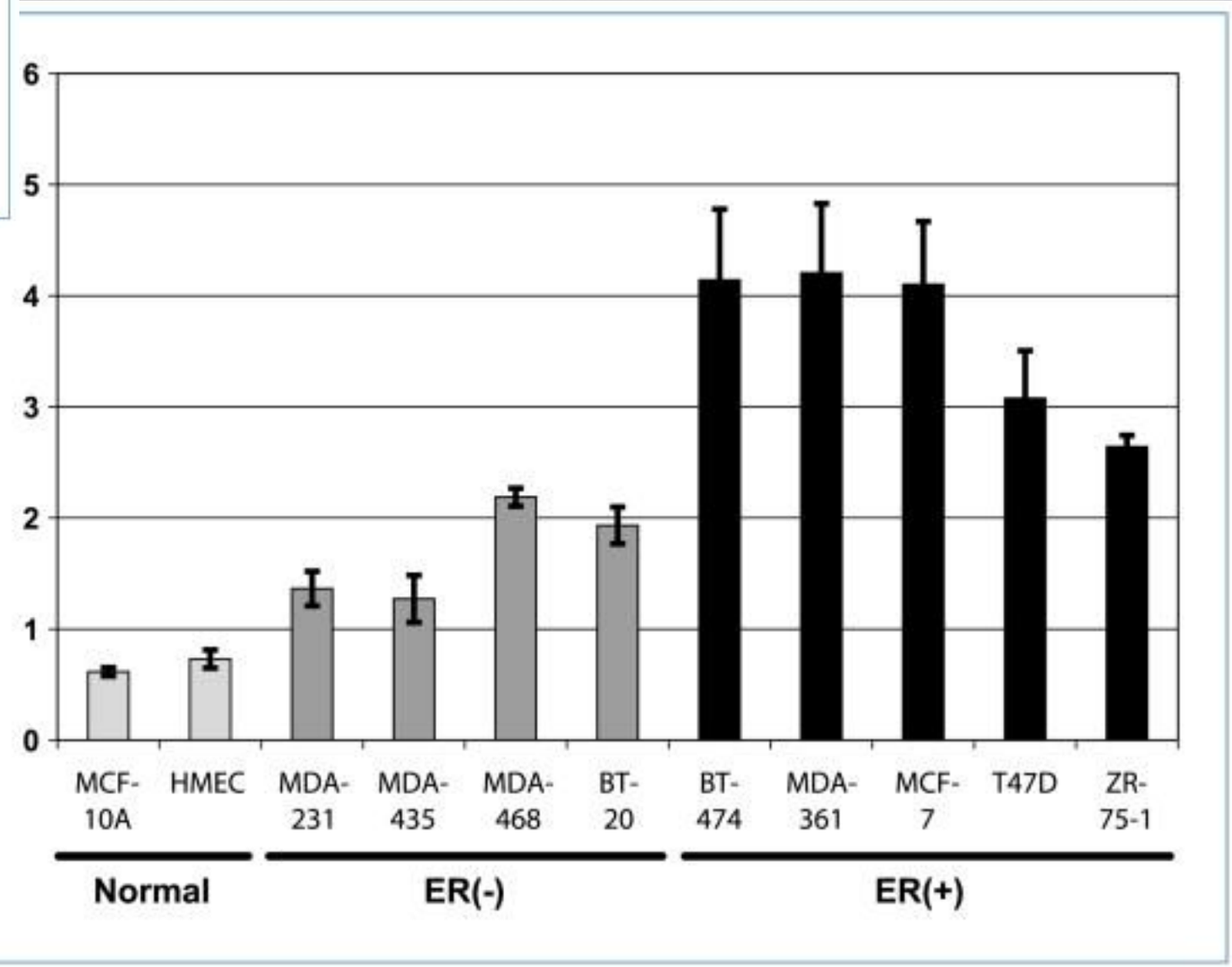
1. **Низкое редокс-отношение** указывает на **высокую метаболическую активность** клетки и **преобладание гликолитического** пути над окислительным фосфорилированием.

2.Снижение интенсивности НАДН и увеличение ФАД **высокое редокс-отношение** = высокой потребности в АТФ и **преобладании окислительного фосфорилирования.**

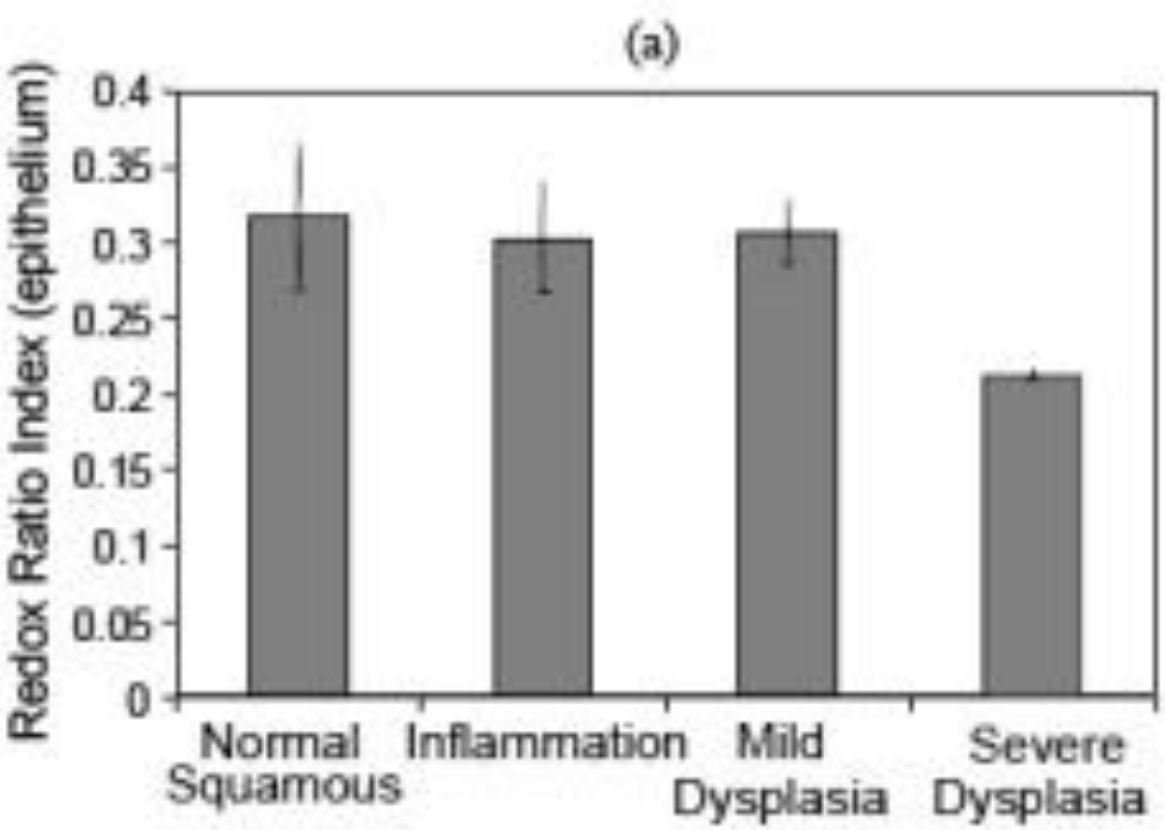


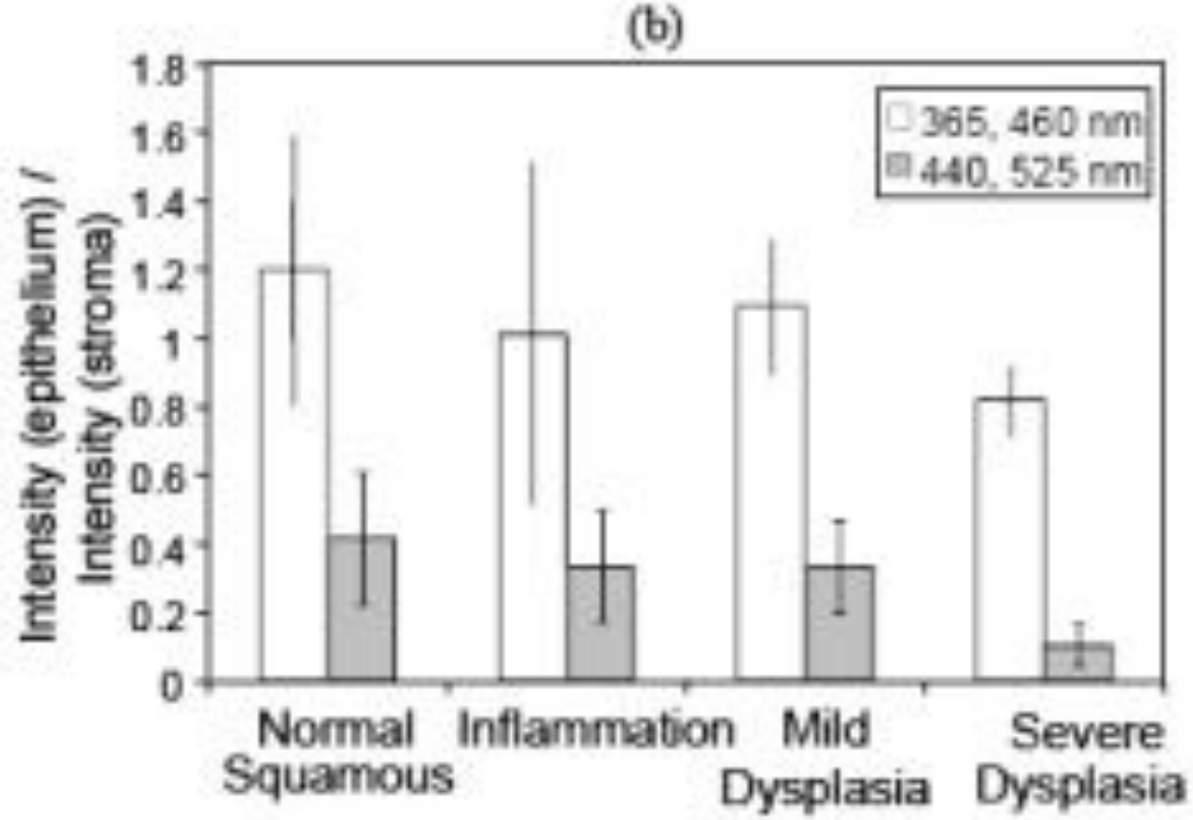
- Опухолевые клетки имеют увеличенное редокс-отношение НАДН/ФАД по сравнению с нормальными эпителиальными клетками.

- Клетки РМЖ, экспрессирующая рецепторы эстрогена, имела сниженное редокс отношение.



Ostrander J.H., McMahon C.M., Lem S., Millon S.R., Brown J.Q., Seewaldt V.L., Ramanujam N. Optical redox ratio differentiates breast cancer cell lines based on estrogen receptor status. Cancer Res 2010; 70(11): 4759–4766, https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-09-2572.





На образцах эпителия шейки матки показано, что образцы с дисплазией имеют сниженное редокс-отношение ФАД/(НАДН+ФАД) по сравнению с нормальным эпителием

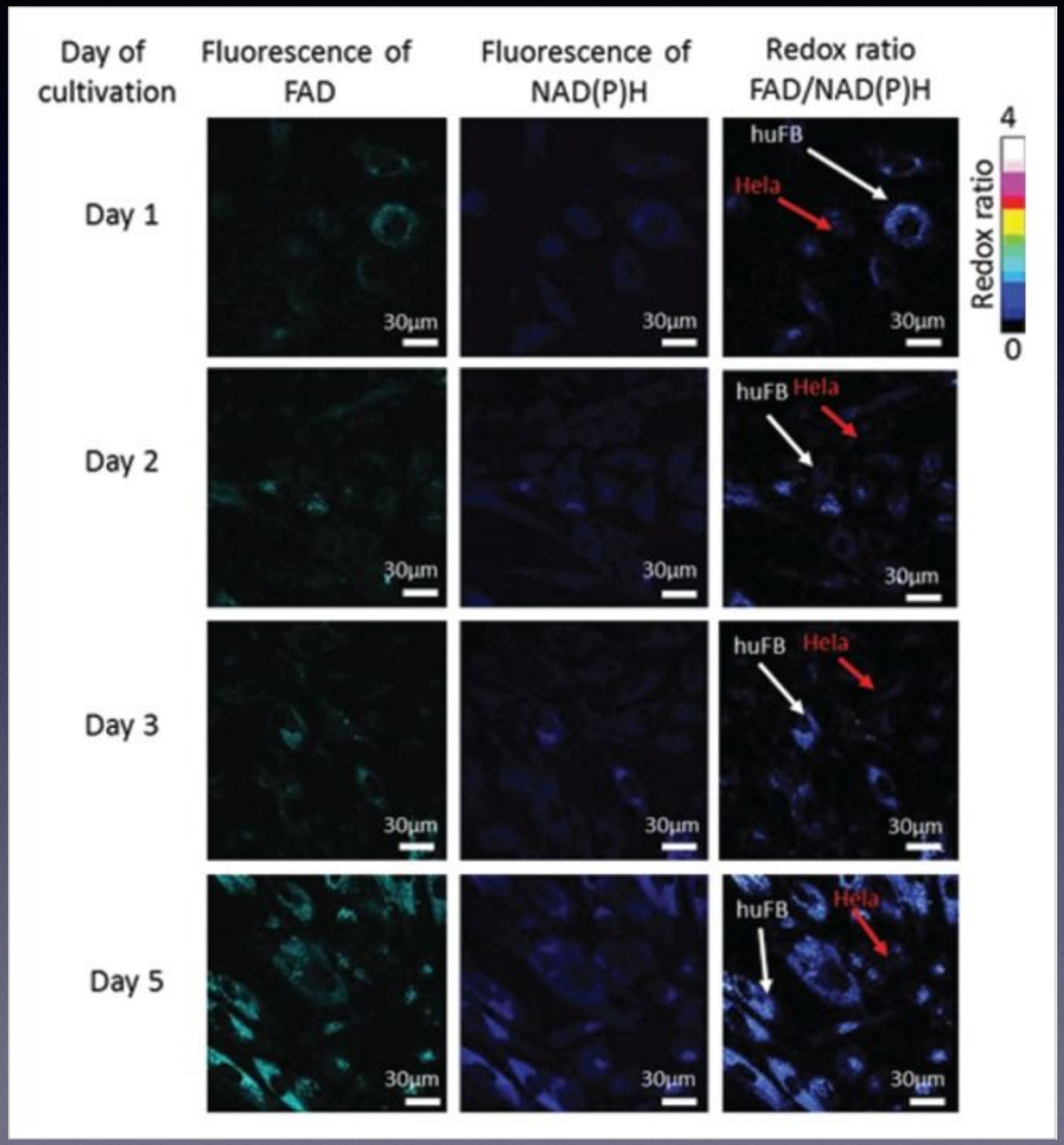
82. Ramanujam N., Richards-Kortum R., Thomsen S., Mahadevan-Jansen A., Follen M., Chance B. Low temperature fluorescence imaging of freeze-trapped human cervical tissues. Opt Express 2001; 8(6): 335–343, https://doi.org/10.1364/oe.8.000335.

Метаболическое взаимодействие раковых клеток и фибробластов

В совместной культуре клеток цервикальной карциномы человека и человеческих фибробластов происходил:

- метаболический сдвиг от окислительного фосфорилирования к гликолизу в раковых клетках
- от гликолиза к OXPHOS в фибробластах начиная со второго дня совместного культивирования.

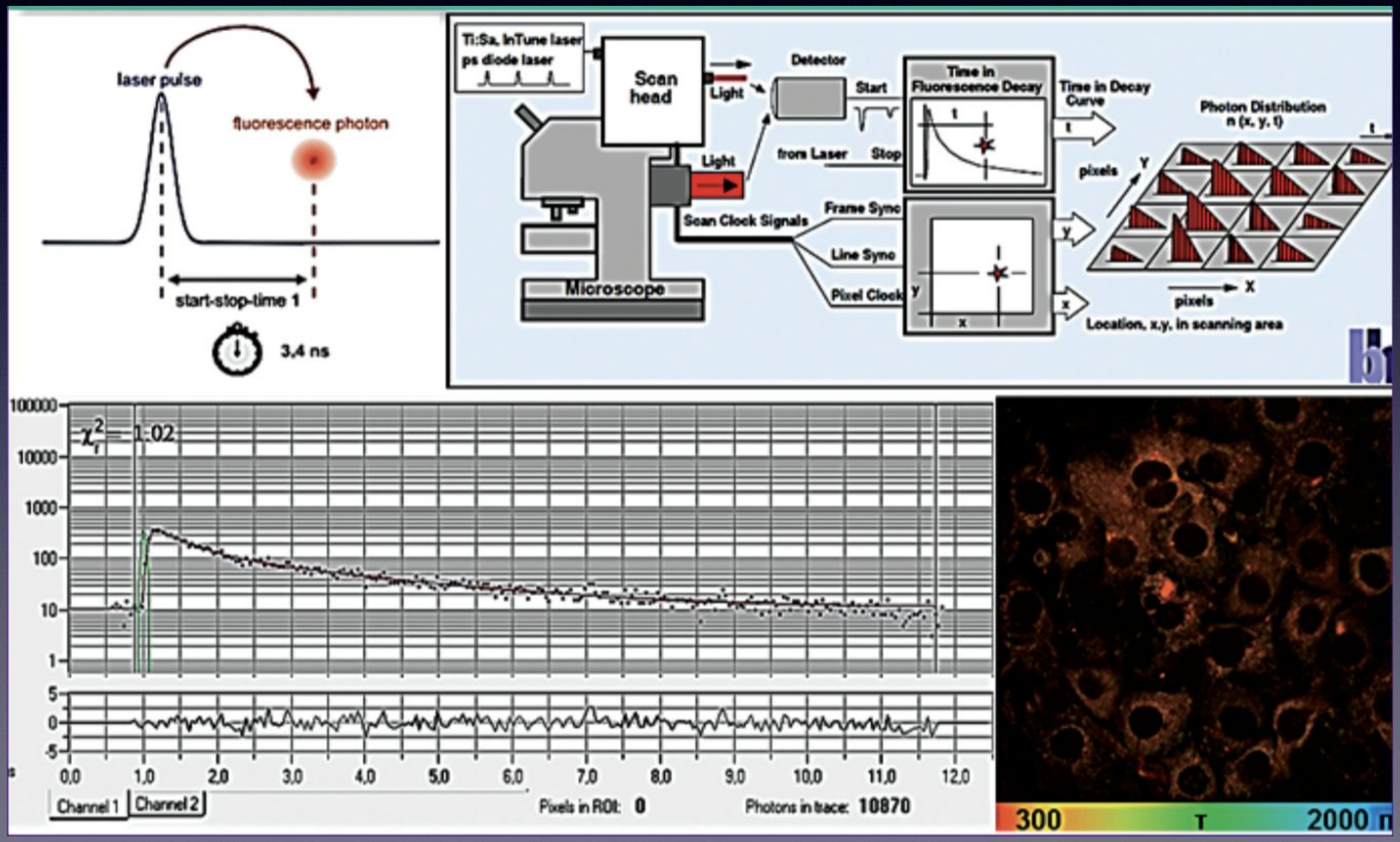
- Переключатель метаболизма сопровождался продуцированием H2O2 и небольшим подкислением цитозоля в раковых клетках по сравнению с метаболизмом соответствующей монокультуры



Cell Cycle. 2016 May 2;15(9):1257-66. doi: 10.1080/15384101.2016.1160974.

Метод время-коррелированного счета фотонов

(time-correlated single photon counting, TCSPC)



Флюоресцентный имиджинг с временным разрешением. (FLIM)

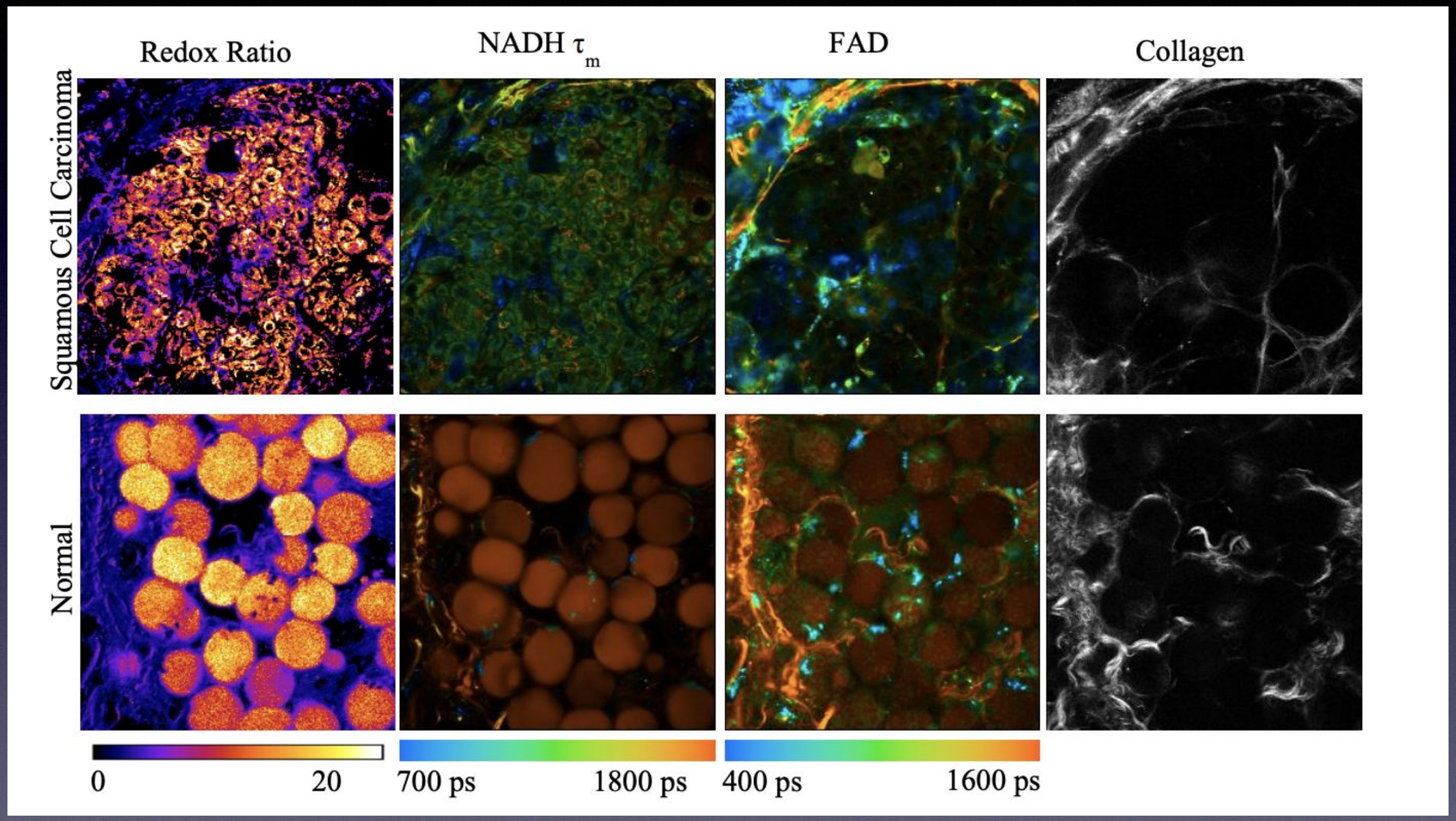
базировано на том, что время жизни флюоресценции кофакторов НАДН и ФАД существенно отличается в зависимости от того, в свободном состоянии они находятся или связаны с белками.

Дает возможность исследовать метаболические кофакторы в живых клетках путем измерения среднего времени, в течение которого молекула находилась в возбужденном состоянии, а не фактической интенсивности флюоресценции.

Микроокружение является наиболее значимым фактором, так как на время жизни влияют:

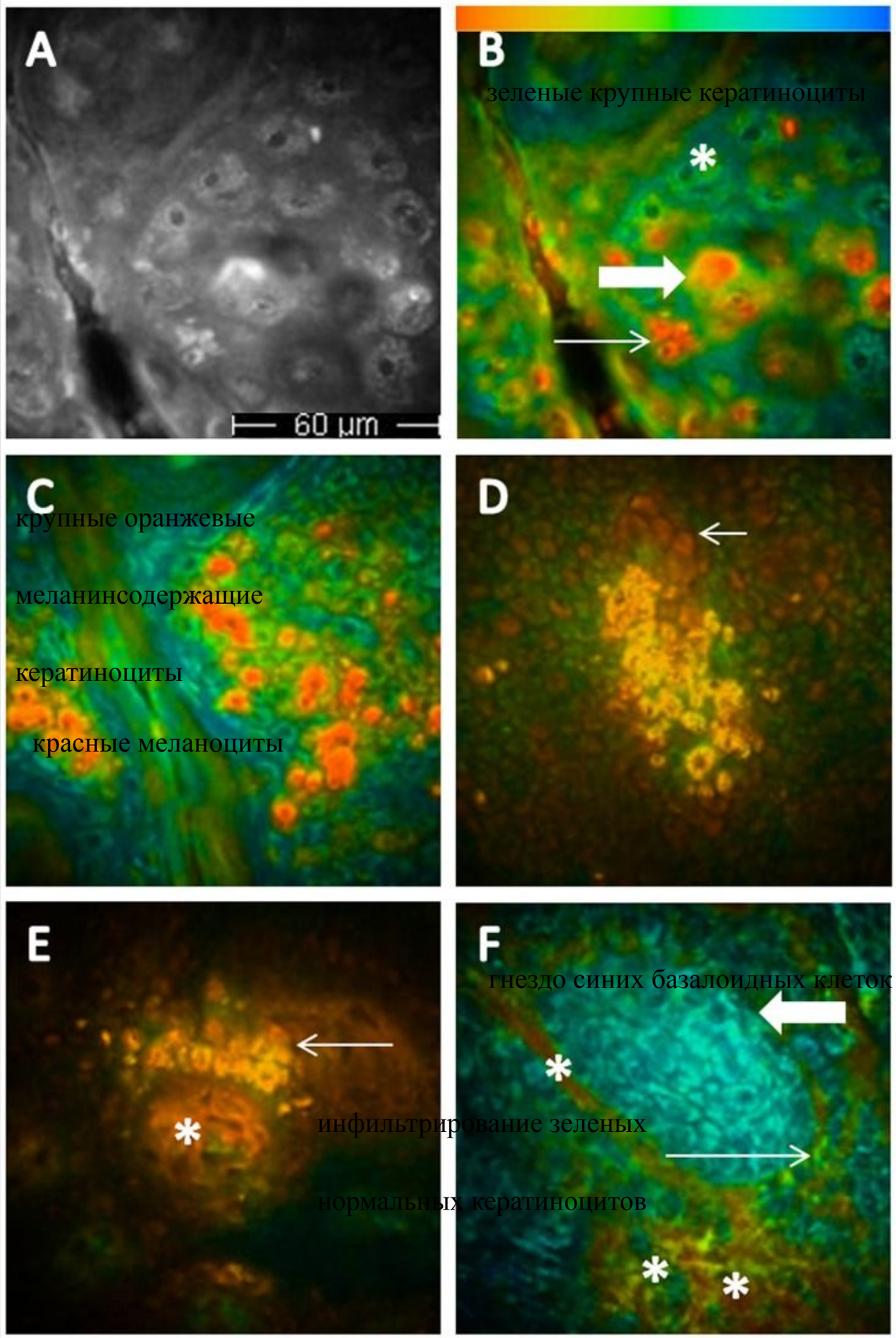
- pH,
- температура,
- концентрация
- ионов
- концентрация кислорода,
- связь с другими молекулами (комформация)

Ex vivo микроскопия тканей пациента с раком головы и шеи



Shah A.T., Skala M.C. Ex vivo label-free microscopy of head and neck cancer patient tissues. Proc. SPIE 9329, Multiphoton Microscopy in the Biomedical Sciences XV, 93292B

Из-за небольшой глубиной зондирования (~300 мкм), работы с использованием FLIM на опухолях человека in vivo ограничены исследованиями новообразований кожи и головного мозга



A, B. Здоровая кожа
C, D и E. Меланоцитарный невус
F. Базально-клеточная карцинома

Seidenari S., Arginelli F., Dunsby C., French P.M., Konig K., Magnoni C., Talbot C., Ponti G. Multiphoton laser tomography and fluorescence lifetime imaging of melanoma: morphologic features and quantitative data for sensitive and specific non-invasive diagnostics. PLoS ONE 2013;

In vivo многофотонная томография и флуоресцентная визуализация ткани опухоли головного мозга человека.

Многофотонный томограф был применен для обеспечения оптических биопсий при резекции клинического случая глиобластомы. Отображение интенсивности морфологического флуоресценции и визуализация на протяжении всей жизни опухолевых мышц мыши и нативных образцов ткани человека четко дифференцировали опухоль и смежную ткань головного мозга. Было установлено, что интраоперационная визуализация технически осуществима. Качество интраоперационного изображения было сопоставимо с исследованиями ex vivo.

J Neurooncol. 2016 май, 127 (3): 473-82. doi: 10.1007 / s11060-016-2062-8. Epub 2016 30 января.

лазерный томограф

ВЫВОД:

Благодаря таким методам как редокс-отношение и время жизни флюоресценции (FLIM) открываются возможности
не только ранней диагностики онкологических заболеваний и мониторинга ответа на терапевтическое воздействие в режиме реального времени, а также улучшение понимания биохимических процессов в клетках, что возможно даст перспективу в диагностике др патологических процессов и поиска новых методов лечения заболеваний.