

В. О. Шляховенко, О. А. Орловський,
О. А. Самойленко, А. В. Вербиненко

Рибонуклеази – можливий новий напрям у розробці методів лікування пухлин

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
імені Р. Є. Кавецького Національної академії наук України, м. Київ*

*Ключові слова: рибонуклеази, апоптоз,
протипухлинна активність*

Рибонуклеази (РНКази) – велика група гідролітичних ферментів, що розщеплюють різні види РНК з утворенням як окремих нуклеотидів (у разі дії екзо-РНКаз), так і фрагментів різного розміру (за дії ендо-РНКаз), які можуть виявляти біологічний вплив на процеси розвитку, проліферації, дозрівання та загибелі клітин. РНКази виявляють багатосторонню біологічну дію, що реалізується як на рівні процесів транскрипції, так і трансляції. У цьому разі частина інформаційних молекул (мРНК) може бути значно модифікована або повністю знищена. Під час транскрипції утворюються великі молекули-попередники (про-РНК), які внаслідок сплайсингу та процесингу за участю РНКаз формуються у вигляді зрілих інформаційних, транспортних чи рибосомних РНК.

Рибонуклеази виявляють цитотоксичну дію в зв'язку з руйнуванням окремих видів РНК і як наслідок – блокуванням синтезу білка.

Серед ендорибонуклеаз вирізняють: РНКазуА, РНКазуР, РНКазуН, РНКазуШ, РНКазуТ1, РНКазуТ2, РНКазуU2, РНКазуV1, РНКазу1, РНКазу РнУМ та РНКазуV. Екзорибонуклеази представлені олігорибонуклеотидфосфорилазою (PNPase), РНКазою РН, РНКазоюII, РНКазоюR, РНКазоюТ, олігорибонуклеазою, екзорибонуклеазою I та екзорибонуклеазою II. Ці ферменти розщеплюють різні послідовності в молекулах РНК. Останнім часом дослідники звернули увагу на РНКази як на можливі засоби спрямованого керування експресією генів і можливого лікування раку. Ідея використання РНКаз

для лікування раку полягає в можливості пошкодження злоякісних клітин без впливу на навколишні здорові тканини [1]. Цитотоксична дія РНКаз ґрунтується на руйнуванні внутрішньоклітинних РНК, що веде до апоптозу [2]. Цитотоксична дія РНКаз проявляється і при зовнішньому впливі на клітини, але цитотоксичність зростає приблизно в 1000 разів, коли фермент штучно вводиться в цитозоль, що свідчить про важливість етапу інтерналізації для прояву цитотоксичності ферменту [3].

Було показано, що зміни поліморфізму гена РНКази L (RNASEL) у послідовностях Arg462Gln та Asp541Gln асоціюються з ризиком раку простати і можуть бути віднесені до біомаркерів цього раку [4, 5]. Результати цих досліджень свідчать про те, що мутації в RNASEL збільшують ризик захворювання на рак простати в чоловіків, а в деяких випадках сприяють більш агресивному його перебігу навіть у молодих осіб.

Для з'ясування можливої ролі РНКази2 в апоптозі ракових клітин Malathi з співавторами знизили рівень РНКази L у клітинах простати DU145 у декілька разів за допомогою малих інтерферуючих РНК (siRNA). Такі клітини виявились резистентними до апоптозу, індукованого 2'-5'-олігоденілатом (2'-5'A). Цікаво, що клітини, дефіцитні за РНКазою L, виявились також резистентними до інгібітора топоізомерази I топотокану та індуктора інтерферону TRAIL (Apo2L).

Asquati та ін. [6] показали, що екстрацелюлярна РНКаза бере участь у контролі туморогенезу яєчника. Вони встановили, що втрата функції РНКази T2, давнього та філогенетично консервованого

ферменту, відіграє ключову роль у туморогенезі яєчника [7, 8].

Дослідження механізму протівірусної дії інтерферону та роботи з генетики раку простати зійшлися на одному ферменті, специфічному до одониткових послідовностей РНК – рибонуклеазі, що регулюється системою 2'-5'A, яка забезпечує вроджений імунітет проти вірусних інфекцій. 2'-5'A активує латентну РНКазу L, що становиться активною в разі приєднання 2'-5'A. РНКазу L також бере участь у процесі апоптозу у відповідь на дію вірусних та невірусних індукторів [9]. Активація РНКазу L 2'-5' – олігоаденілатом призводить до специфічного розщеплення 18S рибосомної РНК, наслідком чого є розвиток апоптозу. Апоптоз у відповідь на дію РНКазу L супроводжується вивільненням цитохрому C з мітохондрій. Ці дані свідчать також про доцільність можливого застосування 2'-5'A для підсилення протипухлинного впливу інтерферону [10].

Вищезгадані дані стали основою для багатьох спроб використати РНКазу для терапії раку. Сьогодні показано, що РНКазу, ізольовані з різних джерел, виявляють протипухлинну активність. У деяких випадках дослідження дійшли до клінічних випробувань. Однією з перших була випробувана РНКазу зі сперми та тестикул великої рогатої худоби (BS-РНКазу). BS-РНКазу виявила протипухлинну, антисперматогенну та імуносупресивну активність. Ця РНКазу є гомологом панкреатичної РНКазу А, що належить до групи ферментів з особливими біологічними властивостями RISBASEL (Ribonucleases with Special Biological Actions), до якої також входять ангіогенін, селективні нейротоксичні РНКазу, лектини та фактор міжвидової несумісності квіткових рослин [11]. Виділений фермент був гомогенним за багатьма критеріями чистоти, але виявляв три субфракції за умов його обмінної хроматографії на карбоксиметилцелюлозі. Ця гетерогенність пов'язана з співвідношенням субодиниць у молекулі ферменту. На відміну від РНКазу А, BS-РНКазу виявляє значну токсичність щодо злоякісних клітин

людини. Особливо чутливими до дії ферменту виявились клітини злоякісної мезотеліоми [12].

Іншим ферментом, що виявив цитотоксичну дію до пухлинних клітин, виявилась РНКазу, ізольована з тканин леопардової жаби *Rana pipiens*. Фермент одержав назву Onconase (Ranpirnase). У попередніх лабораторних, а пізніше в клінічних дослідженнях було показано, що фермент вибірково впливає на клітини злоякісних пухлин, не пошкоджуючи нормальних, близьких за походженням і структурою клітин. Фермент запускає апоптоз кількома сигнальними шляхами [13]. Протипухлинна дія ферменту була продемонстрована на декількох пухлинних моделях [14, 15]. У I фазі клінічних випробувань було показано, що максимально толерантною дозою для ранпірнази є 960 г/м², а головним дозолімітуючим показником є ниркова токсичність.

У великих дослідженнях II фази було встановлено, що ранпірназа впливає на ріст злоякісної мезотеліоми. У 2006 році об'єднання Alfacell (США) опублікувало проміжні дані III фази клінічних випробувань Онконази в поєднанні з доксорубіцином. У дослідженнях, що охоплювали 316 пацієнтів з мезотеліомою, було показано зростання середньої тривалості життя до 12 місяців порівняно з одним доксорубіцином (10 міс.). У дослідженнях також було показано, що цитотоксичність ферменту залежить від руйнування РНК. Одночасно була показана антивірусна активність ферменту проти вірусу папіломатозу людини (HPV), який, як відомо, пов'язаний з виникненням генітального та анального раку.

Дві РНКазу одержані з мікроскопічних грибів. РНКазу T1 (RNaseT1) (ЕС3.1.27.3) розрізає одониткові РНК по гуанілових залишках на 3'-кінцях. Фермент є малим білком з двома субодиницями $\alpha + \beta$, які складаються з 104 амінокислот. Третинна структура його фіксується двома дисульфідними зв'язками Cys2-Cys10 та Cys6-Cys103 [16], а відновлення цих зв'язків веде до розгортання (unfolding) молекули з втратою фер-

ментної активності [17]. Фермент секретується грибами з роду *Aspergillus* та *Penicillium*. Ця РНКаза розщеплює консервативні великі одониткові послідовності рРНК, відомі як сарцин-рицинова петля. Це розщеплення призводить до інгібування білкового синтезу з наступною загибеллю клітин шляхом апоптозу. Оскільки жодних рецепторів до ферменту не описано, вважається, що вони призводять до загибелі клітин внаслідок пошкодження мембрани.

Фермент сам по собі не є цитотоксичним через нездатність інтерналізуватися у пухлинні клітини. У зв'язку з цим Shunji Yuki з співавт. [18] інтерналізували РНКазу T1 у пухлинні клітини людини, застосувавши новий засіб переносу – гемаглютинуючий вірусний вектор (HVJ), застосування якого призвело до загибелі пухлинних клітин. Ця цитотоксичність різко зростала, якщо HVJ попередньо обробляли протамінсульфатом, причому цитотоксичність виявилася більшою, ніж у Онконази, яка знаходиться на III фазі клінічних випробувань як немутагенний протипухлинний засіб. На жаль, дія ферменту виявилася неспецифічною для пухлинних клітин, і тому дотепер фермент не вважається перспективним для створення протипухлинних ліків [16, 19].

Останнім часом увагу дослідників привертає фермент Актибінд (Actibind, РНКаза T2). Цей білок продукується чорною пліснявою *Aspergillus niger* – мікроорганізмом, що використовується в біотехнологіях і харчовій промисловості [20]. У рослин Актибінд зв'язує актин, внаслідок чого блокується ріст трубочок пилку, чим блокується клітинний ріст. Показано, що Актибінд пригнічує ріст злоякісних клітин у савців. РНКаза T2 також зв'язує актин у клітинах людини та тварин, які мігрують, зокрема клітин, пов'язаних з утворенням нових судин у пухлинах (ангіогенез), а також злоякісних клітин, що мігрують у кров'яне русло, утворюючи метастази [20]. Таким чином, Актибінд з грибів та його аналог РНКази T2 у людини можуть представляти інтерес для створення нового класу ліків для боротьби з раком.

α -сарцин (мітоглілн, рестриктоцин) – невеликий рибосом-інактивуючий білок величиною 17 кДа, що продукується грибами роду *Aspergilli*, і здатен каталітично інактивувати велику рибосомну субодиницю.

Усі три вищезгадані грибні риботоксини діють як специфічні РНКази, гідролізуючи один фосфодієфірний зв'язок у домені 23-28S рРНК, і знаходяться серед найпотужніших інгібіторів білкового синтезу. Молекулярні дослідження риботоксинів зі застосуванням методів ПЛР показали, що певні домени риботоксинів мають гомологічні послідовності з білками рибосом, що може бути причиною їхньої прицільної дії на рибосоми. У зв'язку з цим розглядається можливість використання риботоксинів як інструментів для досліджень, а також їхнє використання з діагностичною та терапевтичною метою [21].

α -сарцин – циклізуюча РНКаза, в якій His50, Glu96 та His137 утворюють каталітичний центр молекул. Гідроліз 3'-5' фосфодієфірного зв'язку в молекулах РНК призводить до утворення 2'-3' циклічних мононуклеотидів з наступними перетвореннями їх на відповідний 3'-монофосфат, як кінцевий продукт реакції. У цьому разі розщеплюється 28S-рРНК і блокується білковий синтез. Крім того, α -сарцин взаємодіє з ліпідним бішаром мембран, що призводить до їхнього злиття та витікання внутрішньоклітинного вмісту. Відомо, що кожен токсин, що призводить до інгібування білкового синтезу, індукує апоптоз [22, 23].

Випробовувались також РНКази з вищих грибів. Одна з РНКаз виділена з гриба *Pleurotus sajor-caju*. Вона виявила антипроліферативну дію на клітини гепатоми та лейкозу, а також антимиотичну дію на клітини селезінки мишей [39]. Останнім часом чинники, що інактивують синтез білка, виділені з кількох видів грибів *Calvatia caelata*, *F. velutipes*, *H. marmoreus*, *Lyophyllum shimeiji*, *Pleurotus tuber* та ін. [24, 25].

На особливу увагу заслуговують дослідження РНКази Р. РНКаза Р – унікальний фермент, оскільки він представляє собою рибозим, тобто особливої

структури молекулу РНК, що діє в такий самий спосіб, як фермент білкової природи. Його особливістю є здатність гідролізувати певні послідовності в молекулах РНК. Каталітичною субодиницею РНКаз Р є так звана РНК М1. Ця субодиниця каталізує гідролітичне видалення 5'-лідерної послідовності в молекулі тРНК. Вивчення цього механізму призвело до розробки стратегії «генного націлювання» М1 РНК [26]. М1 РНК може бути націлена на мРНК просто шляхом приєднання так званої керуючої послідовності (guide sequence) на своєму 3'-кінці. Розщеплення мРНК перешкоджатиме утворенню (fusion) білків, специфічних для злоякісних клітин. Перспективність цього напрямку була продемонстрована на моделі онкогена BCR-ABL [26]. Онкоген BCR-ABL утворюється за транслокації послідовностей від гена ABL на 9 хромосомі до гена BCR на хромосомі 22 [27]. Два таких онкогена утворюють дві «злиті» послідовності відповідно до BCR-ABL p190 та BCR-ABL p210. Обидві вони мають ідентичні ABL-послідовності, але відрізняються за числом нуклеотидів у BCR. Утворені онкогени є причиною утворення специфічного білка та виникнення відповідно мієлоїдного лейкозу та гострого лімфобластного лейкозу [28].

Онкоген BCR-ABL інгібує апоптоз за шляхом Bcl-2 і є частиною онкогенного фенотипу. Тому пригнічення експресії BCR-ABL шляхом гідролізу відповідної «зливої» РНК буде відновлювати природний фенотип і спрямовувати клітини до апоптозу. Сконструйована таким чином послідовність VIGS виявилася націленою тільки на «злиту» послідовність мРНК і була здатна блокувати проліферацію лейкозних клітин [26].

Наведені дані показують, що РНК-ази можуть бути різними за будовою та походженням і виявляти різну біологічну дію. Особливий інтерес представляють РНКази, що виявляють

протиухлинну дію відносно пухлинних і лейкозних клітин. Приклади протиухлинної дії РНКаз з різних джерел, таких як фермент із сім'яників великої рогатої худоби або зародкового матеріалу жаби, свідчать про можливість пошуку нових РНКаз як перспективних протиухлинних засобів. У цьому сенсі ферменти рослинного походження представляють величезні можливості для пошуків, перші роботи в цьому напрямі свідчать про те, що РНКази з рослинного матеріалу можуть виявляти протиухлинну дію [29–31]. У той самий час одна рослина може бути джерелом кількох різних РНКаз. Наприклад, у роботі Y. Yen, P. J. Green у *Arabidopsis thaliana* виявлено 15 різних РНКаз [32].

Висновки

З викладеного вище можна передбачити проведення досліджень протиухлинної дії РНКаз у кількох напрямках:

- пошук нових джерел РНКаз з протиухлинною активністю. Важливими об'єктами пошуку можуть бути мікроорганізми, рослини та гриби;
- дослідження нових індукторів продукування РНКаз у пухлинах та нормальних тканинах. Відомо, наприклад, що активація латентного ферменту – РНКаз L (RNaseL) під впливом інтерферону, яка реалізується через 2'-5'-олігоаденілат, призводить до протиухлинного ефекту;
- хімічна модифікація відомих рибонуклеаз з метою покращання їхньої інтерналізації та резистентності до інгібіторів;
- створення нових рибозимів, або рибозимоподібних ферментів, націлених на знищення продуктів онкогенів;
- перспективним може виявитись також комбінування РНКаз з існуючими протиухлинними засобами.

Розвиток цих досліджень може стати передумовою для створення нових перспективних підходів у терапії злоякісних новоутворень.

1. Benito A. On the track of antitumour ribonucleases / A. Benito, M. Ribo, M. Vilanova // *Molecular BioSystems*. – 2005. – V. 1, № 4. – P. 294–302.
2. Molecular determinants of apoptosis induced by the cytotoxic ribonuclease onconase: evidence for cytotoxic mechanisms different from inhibition of protein synthesis / M. S. Iordanov, O. P. Ryabinina, J. Wong [et al.] // *Cancer Research*. – 2000. – V. 60, № 7. – P. 1983–1994.

3. Mechanism of ribonuclease cytotoxicity / J. Kim, J. Soucek, J. Matousek, R. T. Raines // *Journal of Biological Chemistry*. – 1995. – V. 270, № 52. – P. 31097–31102.
4. Arg462Gln and asp541glu polymorphisms in ribonuclease I and prostate cancer risk: a meta-analysis / Y. Mi, Q. Yu, Z. Min [et al.] // *Journal of biomedical research*. – 2010. – V. 24, № 5. – P. 365–373.
5. Effects of rnae I mutations associated with prostate cancer on apoptosis induced by 2', 5'-oligoadenylates / Y. Xiang, Z. Wang, J. Murakami [et al.] // *Cancer research*. – 2003. – V. 63, № 20. – P. 6795–6801.
6. Loss of function of ribonuclease t2, an ancient and phylogenetically conserved rnae, plays a crucial role in ovarian tumorigenesis / F. Acquati, M. Lualdi, S. Bertilaccio[et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2013. – V. 110, № 20. – P. 8140–8145.
7. *Silverman R. H.* Implications for rnae I in prostate cancer biology / R. H. Silverman // *Biochemistry*. – 2003. – V. 42, № 7. – P. 1805–1812.
8. Prevention of human prostate tumor metastasis in athymic mice by antisense targeting of human angiogenin / K. A. Olson, H. R. Byers, M. E. Key, J. W. Fett // *Clinical cancer research*. – 2001. – V. 7, № 11. – P. 3598–3605.
9. Hpc1/rnaeI mediates apoptosis of prostate cancer cells treated with 2', 5'-oligoadenylates, topoisomerase inhibitors, and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand / K. Malathi, J. M. Paranjape, R. Ganapathi, R. H. Silverman // *Cancer research*. – 2004. – V. 64, № 24. – P. 9144–9151.
10. *Rusch L.* Caspase-dependent apoptosis by 2, 5 -oligoadenylate activation of rnae I is enhanced by ifn-beta / L. Rusch, A. Zhou, R. H. Silverman // *Journal of Interferon and Cytokine Research*. – 2000. – V. 20, № 12. – P. 1091–1100.
11. Seminal rnae: a unique member of the ribonuclease superfamily / G. D'Alessio, A. Di Donato, A. Parente, R. Piccoli // *Trends in biochemical sciences*. – 1991. – V. 16. – P. 104–106.
12. *Lee J.* Cytotoxicity of bovine seminal ribonuclease: monomer versus dimer / J. Lee, R. T. Raines // *Biochemistry*. – 2005. – V. 44, № 48. – P. 15760–15767.
13. Comparative molecular modeling and crystallization of p-30 protein: a novel antitumor protein of rana pipiens oocytes and early embryos / S. C. Mosimann, K. L. Johns, W. Ardel[et al.] // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. – 1992. – V. 14, № 3. – P. 392–400.
14. A cytotoxic ribonuclease. study of the mechanism of onconase cytotoxicity / Y. Wu, S. M. Mikulski, W. Ardel[et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 1993. – V. 268, № 14. – P. 10686–10693.
15. A study of the intracellular routing of cytotoxic ribonucleases / Y. Wu, S. K. Saxena, W. Ardel[et al.] // *Journal of Biological chemistry*. – 1995. – V. 270, № 29. – P. 17476–17481.
16. *Yoshida H.* The ribonuclease t1 family / H. Yoshida // *Methods in enzymology*. – 2001. – V. 341. – P. 28.
17. *Maquat L. E.* Rna turnover in eukaryotes: nucleases, pathways and analysis of mrna decay / L. E. Maquat, M. Kiledjian. – Academic Press, 2009.
18. Noncytotoxic ribonuclease, rnae t1, induces tumor cell death via hemagglutinating virus of japan envelope vector / S. Yuki, Y. Kondo, F. Kato [et al.] // *The FEBS Journal*. – 2004. – V. 271, № 17. – P. 3567–3572.
19. The therapeutic potential of fungal ribotoxins / N. Carreras-Sangrà, E. Alvarez-García, E. Herrero-Galán [et al.] // *Current pharmaceutical biotechnology*. – 2008. – V. 9, № 3. – P. 153–160.
20. Actibind, an actin-binding fungal t2-rnae with antiangiogenic and anticarcinogenic characteristics / L. Roiz, P. Smirnov, M. Bar-Eli [et al.] // *Cancer*. – 2006. – V. 106, № 10. – P. 2295–2308.
21. *Kao R.* Fungal ribotoxins: a family of naturally engineered targeted toxins? / R. Kao, J. Davies // *Biochemistry and cell biology*. – 1995. – V. 73, № 11–12. – P. 1151–1159.
22. Cytotoxic mechanism of the ribotoxin alpha-sarcin. induction of cell death via apoptosis / N. Olmo, J. Turnay, G. de Buitrago [et al.] // *The FEBS Journal*. – 2001. – V. 268, № 7. – P. 2113–2123.
23. Production and characterization of a colon cancer-specific immunotoxin based on the fungal ribotoxin α -sarcin / N. Carreras-Sangrà, J. Tomé-Amat, L. García-Ortega [et al.] // *Protein Engineering, Design and Selection*. – 2012. – V. 25, № 8. – P. 425–435.
24. Bioactive proteins from mushrooms / X. Xu, H. Yan, J. Chen, X. Zhang // *Biotechnology advances*. – 2011. – V. 29, № 6. – P. 667–674.
25. *Wasser S. P.* Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective / S. P. Wasser, A. L. Weis // *Critical Reviews™ in Immunology*. – 1999. – V. 19, № 1.
26. *Cobaleda C.* In vivo inhibition by a site-specific catalytic rna subunit of rnae p designed against the bcr-abl oncogenic products: a novel approach for cancer treatment / C. Cobaleda, I. Sánchez-García // *Blood*. – 2000. – V. 95, № 3. – P. 731–737.
27. *Sanchez-Garcia I.* Tumorigenic activity of the bcr-abl oncogenes is mediated by bcl2 / I. Sanchez-Garcia, G. Grütz // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1995. – V. 92, № 12. – P. 5287–5291.
28. Acute leukaemia in bcr/abl transgenic mice / N. Heisterkamp, G. Jenster, J. Ten Hoeve[et al.] // *Nature*. – 1990. – V. 344, № 6263. – P. 251.
29. Mung bean sprout (*Phaseolus aureus*) nuclease and its biological and antitumor effects. / J. Soucek, J. Skvor, P. Pouckova [et al.] // *Neoplasma*. – 2006. – V. 53, № 5. – P. 402–409.

30. Effect of wheat leaf ribonuclease on tumor cells and tissues / J. Skvor, P. Lipovova, P. Pouckova [et al.] // *Anti-cancer drugs*. – 2006. – V. 17, № 7. – P. 815–823.
31. Antitumor and biological effects of black pine (*pinus nigra*) pollen nuclease. / P. Lipovova, T. Podzimek, L. Orctova [et al.] // *Neoplasma*. – 2008. – V. 55, № 2. – P. 158–164.
32. Yel Y. Identification and properties of the major ribonucleases of *arabidopsis thaliana* / Y. Yen, P. J. Green // *Plant Physiology*. – 1991. – V. 97, № 4. – P. 1487–1493.

В. О. Шляховенко, О. А. Орловський, О. А. Самойленко, А. В. Вербиненко
Рибонуклеази — можливий новий напрям у розробці методів лікування пухлин

В огляді аналізуються результати досліджень, які демонструють різноманітні механізми включення рибонуклеаз (РНКази) у метаболічні та сигнальні шляхи клітини, що призводять до загибелі пухлинних клітин і гальмування росту пухлин.

Цитотоксичність РНКази базується здебільшого на індукції апоптозу за руйнування внутрішньоклітинних РНК. Показано, що цей ефект збільшується приблизно в 1000 разів за умови штучної інтерналізації РНКази до цитозолю. Цей факт вказує на фундаментальну роль процесу інтерналізації в цитотоксичності РНКази та є принципово важливим для терапевтичних підходів, що використовують екзогенні РНКази. Крім того, РНКази, присутні в міжклітинному середовищі за природних умов, можуть бути дуже важливими для протипухлинної резистентності. Наприклад, показано, що дисфункція позаклітинної РНКази T2 є ключовим чинником у канцерогенезі яєчника. Важливо також, що дослідження РНКази виявили деякі ключові точки перетину між механізмами протипухлинної та противірусної резистентності, такі як інтерферон-залежна індукція експресії РНКази L.

Багато які з цих механізмів забезпечують вибірковий цитотоксичний ефект лише щодо пухлинних, але не щодо нормальних клітин, що робить РНКази перспективною групою протипухлинних чинників. Останнім часом були проведені різні стадії клінічних випробувань низки РНКази та виявлена їхня значна протипухлинна активність. Серед них, зокрема: BS-РНКаза великої рогатої худоби, яка проявила переважну активність щодо злоякісної мезотеліоми; онконаза (ранпіраза) з *Rana pipiens*, яка ініціює апоптоз різними шляхами та демонструє активність як проти клітин злоякісної мезотеліоми, так і проти вірусу папіломатозу людини (HPV), що пов'язаний з виникненням генітального та анального раку; РНКази T1 і T2 та α -сарцин, одержані з мікроскопічних грибів, та деякі інші.

Особливо цікавою є РНКаза Р, що є рибозимом, тобто унікальною молекулою РНК, яка має ферментативну (РНКазну) активність і порушує процес утворення «злитих» (fusion) білків шляхом специфічної взаємодії з відповідними тРНК та мРНК.

Таким чином, такі дослідницькі напрями як пошук нових РНКази з протипухлинною активністю в різноманітних біологічних об'єктах, нових індукторів та модифікаторів РНКази, цілеспрямоване створення нових рибозимів і різних комбінацій РНКази та традиційних хімотерапевтичних препаратів можуть бути вельми перспективними для розробки нових ефективних підходів до протипухлинної терапії.

Ключові слова: рибонуклеази, апоптоз, протипухлинна активність

В. А. Шляховенко, А. А. Орловський, Е. А. Самойленко, А. В. Вербиненко
Рибонуклеази – возможное новое направление в разработке методов лечения опухолей

В обзоре анализируются результаты исследований, демонстрирующих различные механизмы включения рибонуклеаз (РНКази) в метаболіческие и сигнальные пути клетки, приводящие к гибели опухолевых клеток и торможению роста опухолей.

Цитотоксичность РНКази основана главным образом на индукции апоптоза при разрушении внутриклеточных РНК. Показано, что этот эффект возрастает примерно в 1000 раз при искусственной интернализации РНКази в цитозоль. Этот факт указывает на фундаментальную роль процесса интернализации в цитотоксичности РНКази и принципиально важен для терапевтических подходов, использующих экзогенные РНКази. Кроме того, РНКази, присутствующие в межклеточной среде в естественных условиях, могут быть очень важны для противоопухолевой резистентности. Например, показано, что дисфункция внеклеточной РНКази T2 является ключевым фактором в канцерогенезе яичника. Примечательно, что исследования РНКази выявили некоторые ключевые точки пересечения между механизмами противоопухолевой и противовирусной резистентности, такие как интерферон-зависимая индукция экспрессии РНКази L.

Многие из этих механизмов обеспечивают избирательный цитотоксический эффект лишь для опухолевых, но не для нормальных клеток, что делает РНКази перспективной группой противоопухолевых агентов. За последнее время были проведены различные стадии клинических испытаний ряда РНКази и выявлена их значительная противоопухолевая активность. Среди них, в частности, BS-РНКаза крупного рогатого скота, проявившая преимущественную активность против злокачественной мезотелиомы; онконаза (ранпіраза) из *Rana pipiens*, которая инициирует апоптоз различными путями и демонстрирует активность как против клеток злокачественной мезотелиомы, так и против вируса папилломатоза человека (HPV), связанного с возникновением генитального и анального рака; РНКази T1 и T2 и α -сарцин, полученные из микроскопических грибів, и некоторые другие.

Особый интерес представляет РНКазы Р, являющаяся рибозимом, то есть уникальной молекулой РНК, обладающей ферментативной (РНКазной) активностью и нарушающей процесс образования «слипных» (fusion) белков путем специфического воздействия на соответствующие тРНК и мРНК.

Таким образом, такие исследовательские направления, как поиск новых РНКаз с противоопухолевой активностью в различных биологических объектах, новых индукторов и модификаторов РНКаз, целенаправленное создание новых рибозимов и различных комбинаций РНКаз и традиционных химиотерапевтических препаратов могут быть весьма перспективны для разработки новых эффективных подходов к противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: рибонуклеазы, апоптоз, противоопухолевая активность

V. O. Shlyakhovenko, O. A. Orlovsky, O. A. Samoilenko, A. V. Verbinenko **Ribonucleases — a new possible direction in elaboration of the cancer treatment**

A review of the investigations demonstrates different mechanisms of the RNAases involvement into the cellular metabolic and signaling pathways, resulting in the tumor cell death and tumor growth inhibition.

RNAase cytotoxicity is mainly based on apoptosis induction due to the intracellular RNA destruction. This effect was shown to be magnified for near 1000 times if an exogenous RNAase would be artificially internalized into the cytosol. This fact demonstrates a fundamental role of the internalization process in RNAase cytotoxicity and is a matter of principle for the therapeutic approach using exogenous RNAases. In addition, naturally existing extracellular RNAases may be very important for anticancer resistance. For example, disfunction of the RNAase T2 was shown to be a key factor in the ovarian carcinogenesis. It is notable that the RNAases investigations have demonstrated some crucial crosspoints between the mechanisms of anticancer and antiviral resistance, such as interferon-dependent induction of the RNAase L expression.

Many of these mechanisms provide differential cytotoxic effect on the cancer but not normal cells, making the RNAases a prospective group of anticancer agents. Nowadays, there were performed the different stages of the clinical trials of a series of RNAases and have demonstrated significant anticancer activity. Especially, they are: bovine BS-RNAase with preferential activity against the malignant mesothelioma; Onconase (Ranpirinase) from *Rana pipiens*, which initiates apoptosis through different pathways and demonstrates activity against both malignant mesothelioma cells and human papillomavirus (HPV) associated with appearance of genital and anal cancer; RNAases T1 and T2 and α -sarcin, obtained from the microscopic fungi, and some others.

Of a special interest is the RNAase P, which is a ribozyme, i.e. the unique RNA molecule which has an enzyme (RNAase) activity and disturbs formation of the fusion proteins through specific effects on corresponding tRNA and mRNA.

Thus, such research directions as search for new RNAases with anticancer activity in different biological objects, new RNAases inducers and modifiers, purposeful creation of new ribozymes and different combinations of the RNAases with the traditional chemotherapeutic agents may be highly prospective in elaboration of new efficient approaches in anticancer therapy.

Key words: ribonucleases, apoptosis, anticancer activity

Надійшла: 29 серпня 2017 р.

Контактна особа: Шляховенко Володимир Олексійович, доктор медичних наук, професор, провідний науковий співробітник, відділ біохімії пухлин та онкофармакології, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, буд. 45, вул. Васильківська, м. Київ, 03022. Тел.: + 38 0 44 259 91 95.
Електронна пошта: doctorvlad38@gmail.com