

УДК 616-006.03: 616-006.04

ФАКТОРЫ ВОЗРАСТНОЙ ГЕНОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ И РАК ПРОСТАТЫ

© 2009 г. Д.И. Водолажский¹, Н.Н. Тимошкина¹, С.А. Гусев²

Рассмотрены основные молекулярно-генетические процессы, лежащие в основе развития рака предстательной железы. Проведен подробный анализ молекулярно-генетических маркеров онкотрансформации предстательной железы в рамках концепции возрастных изменений тканей простаты. Проанализирована роль возрастных изменений в теломерных участках хромосом, белках теломерного комплекса и митохондриальной ДНК в развитии рака предстательной железы.

Ключевые слова: рак предстательной железы (РПЖ), теломеры, теломераза, хромосомная нестабильность (Chromosomal Instability – CIN), делеции, митохондриальная ДНК (мтДНК), митохондриальная нестабильность (Mitochondrial Instability – MtIN), геномная нестабильность (Genome Instability – GIN).

В качестве возможных причин возникновения и развития рака предстательной железы исследованы и описаны многочисленные экологические, этологические, диетические и генетические факторы [1, 2]. Однако в настоящее время доказана несомненная роль только двух ключевых факторов повышенного риска возникновения РПЖ: положительная семейная история болезни и возраст [3]. Результаты исследований, проведенных в течение последних десятилетий, не дают ясного понимания клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе карциногенеза простаты. Исследования механизмов развития патологии на этом уровне детализации необходимы для получения надежных методов оценки риска развития рака простаты, а также для разработки эффективных профилактических и лечебных методов.

Рак предстательной железы характеризуется разнообразными клиническими проявлениями, фенотипически отражающими гетерогенные генетические, эпигенетические, биохимические и морфологические изменения, лежащие в основе этого заболевания. Однако нет никаких сомнений в том, что РПЖ – это более чем на 90% «возрастная» болезнь [3]. Поэтому при рассмотрении генетических маркеров, которые могли бы ис-

пользоваться для диагностики возрастных патологических изменений, приводящих к онкотрансформации тканей предстательной железы, мы сосредоточили внимание на двух известных «биологических часах» клетки: теломерных участках хромосом и возрастных изменениях в митохондриальной ДНК.

РАК ПРОСТАТЫ – БОЛЕЗНЬ, ВЫЗЫВАЕМАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬЮ ГЕНОМА

Рак предстательной железы проявляется в выраженных изменениях на генетическом и гистологическом уровнях, а также в характерной клинической картине [4]. Общеизвестно, что одной из причин онкогенеза является накопление множественных изменений в экспрессии и/или в первичных нуклеотидных последовательностях онкогенов (в самих онкогенах и генах-супрессорах опухолей), которые часто сами являются элементами сигнальных путей роста клетки [5]. Важную линию защиты, предотвращающую появление мутаций, вызывающих онкотрансформацию клеток, обеспечивает чрезвычайно точная репликация ДНК в комплексном понятии этого термина: репликация, репарация, редактирующая функция и ряд других факторов. Существующие многочисленные синдромы, при которых наследуются мутации в генах, белковые продукты которых отвечают за поддержание геномной стабильности, доказывают достаточность чрезвычайно низкого количества мутаций

¹ Южный научный центр Российской академии наук, 344006, Ростов-на-Дону, ул. Чехова, 41; e-mail: vodolazhski@mmbi.krinc.ru.

² Научно-исследовательский институт физико-химической медицины Росздрава, 119992, Москва, ул. Малая Пироговская, 1-а; e-mail: ser_gus@mail.ru.

(«фенотип мутаций») для злокачественного преобразования ткани [6]. Однако для РПЖ до сих пор не обнаружены ни ключевые гены сигнальных путей роста опухоли, ни гены обслуживания и репарации ДНК, дефекты которых инициировали бы безусловный онкогенез. Исследования раковых новообразований простаты показали множество генетических изменений по всему геному [7], количество которых прогрессивно увеличивается на разных стадиях болезни, обнаруживая связь между генетической неустойчивостью и прогрессией болезни [8].

Для опухолей человека описаны два общих типа генетической неустойчивости [8]. Первый тип, микросателлитная и SNP-неустойчивости, отражает изменения секвенсов ДНК различных генов, и, вероятно, они играют существенную роль только в небольшой доле случаев РПЖ.

Второй тип генетической неустойчивости – хромосомная нестабильность (Chromosomal Instability – CIN), характеризуемая количественными и структурными хромосомными отклонениями, обычно выявляемыми при цитогенетических исследованиях онкотрансформированных тканей простаты. На самой ранней гистологически опознаваемой стадии онкогенеза простаты – стадии внутриэпителиальной неоплазии простаты (Prostatic Intraepithelial Neoplasia – PIN) – проявляются как потери, так и увеличения структурных компонентов хромосомного материала. По мнению некоторых авторов, подобные изменения могут указывать на главенствующую роль цитогенетических изменений при развитии рака простаты [7]. Хотя изменения в числе хромосом или их компонентов могут возникнуть и вследствие появления дефектов в центромерах или в механизмах регуляции критических точек митоза, вовлеченных в развитие РПЖ, на сегодняшний день очень мало информации о механизмах происхождения структурных хромосомных aberrаций [9].

С нашей точки зрения, онкотрансформирующие процессы на молекулярном уровне, безусловно, являются первопричиной видимых цитогенетических нарушений – нарушений молекулярно-генетической организации теломерных комплексов хромосом и возрастных изменений в митохондриальной ДНК.

ТЕЛОМЕРЫ И ИХ РОЛЬ В ХРОМОСОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ

Теломеры – это структурные комплексные компоненты хромосом, состоящие из терминальных повторяющихся последовательностей ДНК, связанных с белками теломерного комплекса.

Теломеры расположены на концах каждой хромосомы и выполняют стабилизирующую и защитную функции. ДНК теломерных участков некодирующая и состоит из тандемных (т.е. расположенных друг за другом) гексануклеотидных повторяющихся последовательностей TTAGGG [10]. Длина теломерных повторов изменяется от клетки к клетке и от хромосомы к хромосоме, но обычно она варьирует в пределах от 1000 до 2000 повторов (то есть 6–12 т.п.о.). Чтобы функционировать должным образом, теломеры должны иметь достаточную длину и обладать надлежащим набором и количеством теломер-связанных специфичных белков. Короткие теломеры становятся дисфункциональными и приводят к формированию дицентрических хромосом, которые неправильно сегрегируются (расходятся) или ломаются в ходе клеточного деления. Хромосомные разрывы могут спонтанно соединяться, фиксируя образовавшиеся нарушения в виде хромосомных aberrаций [11].

В соматической клетке теломерная ДНК постоянно сокращается приблизительно на 100 пар оснований в процессе каждого клеточного деления из-за неспособности ДНК-полимераз полностью копировать теломерные последовательности ДНК в ходе S-фазы клеточного цикла [11]. Градуальное сокращение теломер приводит к необратимой фиксации клеточного цикла, называемого репликативным старением. Этот эволюционно развившийся процесс, служащий опухоль-супрессорным барьером, инициирует развитие запрограммированной клеточной смерти (апоптоз) при достижении подпорогового значения длины теломерных участков хромосом. Таким образом, сокращение теломерных участков хромосом выполняет функцию “митотических часов”, отсчитывая в обратном порядке клеточные деления и сигнализируя о конце полного клеточного цикла развития, когда одна или более теломер достигает критической пороговой длины. Сокращение теломерных участков хромосом может произойти также из-за наличия нерепарированных одно- и двунитевых разрывов, вызванных окислительным повреждением теломерной ДНК [12].

Увеличение длины теломер осуществляет фермент теломерсинтезирующая теломераза (или просто теломераза). Намного реже это действие осуществляется через недостаточно описанный и независимый от теломеразы механизм генетической рекомбинации [13]. В нормальных соматических клетках человека активность теломеразы подавляется, поэтому уменьшение длины теломер может использоваться как

сигнал окончания клеточного цикла. Точный механизм, который запускается укорочением теломер и вызывает старение и апоптоз, пока еще не известен. В настоящее время известно участие в этом процессе супрессоров опухолей p53 и p16, подавляющих клеточное деление в ответ на сокращение длины теломер [5]. Важно, что отсутствие этих контрольных точек позволяет продолжить деление клеток и без теломеразы. В результате этого нарушения возможно сокращение теломерных участков до размера менее критической пороговой длины, что ведет к открытию хромосомных терминальных участков и к хромосомной дестабилизации (CIN).

Таким образом, CIN индуцируется градуальным сокращением длины теломерных участков хромосом, укороченных меньше критических размеров. Этот факт подтверждается многочисленными исследованиями раковых новообразований человека [14].

ТЕЛОМЕРНЫЕ УЧАСТКИ ХРОМОСОМ И РПЖ

Укорочение теломерных участков хромосом является следствием нормальной работы «митотических часов», и элиминация таких клеток оправдана в рамках борьбы с энтропийными процессами в организме. Большинство исследованных до настоящего времени раковых тканей и линий раковых клеток человека содержали аномально короткие теломеры [14]. Возможно, что раковые новообразования являются результатом деления клеток-прародителей, в которых недостаточно действенны механизмы, компенсирующие укорочение теломерных участков или элиминацию клеток с короткими теломерными участками в ходе апоптоза. Другая (не исключая первую) интерпретация: первичные клетки опухоли являются более восприимчивыми к окислительному стрессу, который приводит к быстрой потере теломер.

В работе Коенман и др. [15] использована Southern-блот-техника для общей оценки длины теломерных участков хромосом. Установлено, что раковые новообразования простаты имели среднюю длину теломерных участков на 2 тпн меньше, чем нормальные ткани простаты. Результаты этой работы хорошо согласуются с более ранними результатами, полученными на образцах первичных раковых новообразований простаты, в сравнении с непосредственно прилегающими нормальными тканями и доброкачественными пролиферирующими (ВРН) тканями [16].

Для прямой оценки длины теломерных участков в зафиксированных формалином образцах тканей была применена модифицированная флуоресцентная *in situ* гибридизация (Fluorescence *in situ* Hybridization – FISH) [17]. В полном соответствии с результатами предыдущих исследований с помощью этого метода обнаружены более короткие теломеры в первичных раковых клетках простаты по сравнению с нормальными эпителиальными клетками. До настоящего времени 86% исследованных первичных опухолей содержали более короткие, по сравнению с нормальными клетками, теломеры. Только в 6% первичных опухолей длина теломерного участка находилась в пределах нормы. Ни в одном случае не наблюдали аномального удлинения теломер в первичных опухолях. В 84% случаев локального метастазирования (тазовые лимфатические узлы) было выявлено укорочение теломер, тогда как небольшое количество проб (5%) демонстрировало нормальные или более длинные теломеры, и в 11% случаев проявилась гетерогенность длин теломерных участков. Большая доля тканей удаленных метастазов, 57% (56 из 98 метастазов в 28 случаях), также характеризовалась более короткими теломерами.

Наблюдаемое сокращение длины теломер может отражать большое количество клеточных делений, характерное для процесса роста опухоли. С другой стороны, само укорочение теломер может быть причиной карциногенеза предстательной железы. В этом случае должны существовать доказательства этого влияния на самой ранней, распознаваемой стадии онкогенеза, предшествующей агрессивному злокачественному преобразованию – этапу высокостадийного PIN (high-grade PIN – HGPIN) [18]. Использование FISH-метода при исследовании длины теломерных участков на стадии HGPIN показало, что теломеры имели аномально короткую длину в большинстве очагов HGPIN (в 93% случаях) исследованных образцов после радикальной простатэктомии. Сокращение длины теломер было найдено также в HGPIN-биоптатах 20 пациентов без наличия параллельных гистопатологических данных о присутствии РПЖ [19].

Уровень сокращения теломер, наблюдаемый в тканях на стадии PIN, превышает тот, который обычно выявляют в нормальных тканях. Это заставляет предположить, что система контрольных точек регулирования клеточного цикла в PIN-измененных тканях уже нарушена. Поскольку большинство PIN-новообразований не ведет к агрессивной раковой стадии, репликативное старение, регулируемое теломерными или апоптоз-

ными контрольными точками, может представлять критически узкое место, ограничивающее рост большинства PIN-новообразований. Например, у линии мышей, дефектных по теломеразной активности, наблюдали опухоль-супрессорную роль укорочения теломер, только если контрольные точки регулирования клеточного цикла не были повреждены; особенно путь p53 супрессора опухоли [20].

С нашей точки зрения рассмотрение биологии теломер приводит к заключению о том, что теломеры могут выполнять противоположные функции в процессе развития рака. С одной стороны, сокращение теломер, вызванное клеточными делениями, определяет строгие границы пролиферативной способности клеток данного происхождения, ограничивая потенциальную злокачественную экспансию. С другой стороны, короткие дисфункциональные теломеры могут способствовать карциногенезу, иницируя CIN. Решающим фактором в дальнейшей судьбе таких клеток, возможно, является статус контрольных точек регулирования клеточных путей роста, которые связаны с длиной теломерных участков хромосом.

ТЕЛОМЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ОНКОГЕНЕЗЕ ПРОСТАТЫ

Развивающаяся опухоль в некоторый момент должна повторно стабилизировать или даже восстановить длину теломерных участков хромосом, чтобы предотвратить накопление генетических повреждений, которые приведут к летальному исходу. Раковые новообразования простаты, подобно большинству других злокачественных опухолей человека, стабилизируют свои теломерные участки путем активизации теломеразы [5].

Теломераза – это обратная транскриптаза, которая восстанавливает повторы теломерных участков ДНК на концах хромосом [21]. Теломераза человека состоит из двух основных субъединиц: каталитической белковой субъединицы (hTERT) и РНК – субъединицы (hTR, или hTERC), которая содержит матрицу для дополнительных теломерных повторов [22]. Ген теломеразы (*TERT*) находится в хромосомном локусе человека 5p15.33. Теломеразная активность в нормальных соматических клетках подавлена. Однако известны исключения, например активированные лимфоциты, субпопуляции высокопролиферативных тканей (такие как гемопоэтическая система) и пролиферативных зон в возобновляемых тканях (таких как кишечные крипты,

базальный слой кожи и шейки матки), а также гормональнозависимые клетки молочной железы и эндометрия матки [23, 24]. Обычно hTR в норме хорошо экспрессируется, тогда как экспрессия каталитической субъединицы, hTERT, возможно, ограничивает активность теломеразы во многих (например в яичнике, коже и шейке матки), но не во всех (например в почке, толстом кишечнике и эндометрии матки) тканях [22, 25, 26].

Теломераза, активизированная в клетках опухоли, стабилизирует аномально укороченные теломеры, понижает вероятность CIN и дает возможность для неограниченного количества клеточных делений (бессмертия) [5]. Исследования показали, что восстановление длины теломерных участков – необходимый этап для клеток человека в процессе злокачественной трансформации. По крайней мере, 85% эпителиальных раковых новообразований человека проявляют теломеразную активность [27]. Активность теломеразы, детектируемая в нормальных тканях, обычно намного ниже активности теломеразы гомологичных злокачественных тканей того же происхождения.

Кроме ферментативной активности теломеразы как способа поддержания длины теломерных участков хромосом, для некоторых опухолей (особенно мезенхимного происхождения) описан путь альтернативного удлинения теломер (Alternative lengthening of telomeres – ALT), детали которого все еще изучаются [13].

Активность теломеразы может быть оценена методом измерения экспрессии мРНК, кодирующей или каталитическую субъединицу белка, или матричную РНК с помощью PCR в реальном времени, а также методом гибридизации *in situ* [27].

В большинстве случаев (47–100% изученных образцов) измеренная теломеразная активность клинических образцов простаты имеет позитивные величины [16, 27–29]. Во время тестирования активность не обнаруживали чаще всего в прилегающих областях (в трех из пяти исследований) или в областях ВНР, ассоциированных с раком (50–90% образцов). В таких случаях уровень активности обычно намного меньше, чем детектируемый в тканях РПЖ. Высокая чувствительность PCR-метода обуславливает и трудности в интерпретации активности, проявляющейся в смежных с раковыми опухолями тканях. Возможно, что это – активность нескольких морфологически не детектируемых раковых клеток, о чем свидетельствует отсутствие теломеразной активности в тканях нормальных, с

ВНР и полученных из простаты без диагноза РПЖ. Engelhardt и др. [28] нашли положительную корреляцию между активностью теломеразы и степенью инфильтрации клеток опухолей. Потенциальным источником теломеразной активности могут быть также активированные лимфоциты при воспалениях в предстательной железе.

Другой факт, требующий объяснения, состоит в том, что 10–20% случаев рака простаты характеризуются негативной теломеразной активностью. Среди возможных причин – технические проблемы, но не исключен и действительный дефицит теломеразной активности. Вероятность поддержания теломер при РПЖ через ALT-механизм очень мала, потому что его никогда не наблюдали в эпителиальных раковых новообразованиях. Возможно, что часть теломеразанегативных раковых новообразований простаты не развивается в метастазирующую карциному и элиминируется на ранних стадиях.

Исследованию субъединиц теломеразы hTR и hTERT в клинических образцах простаты посвящено несколько работ, выполненных различными методами [29, 30–33]. С помощью RT-PCR hTR РНК-матрица детектируется в 100% образцов раковых новообразований простаты, в 100% ВНР и в 56% образцов стромы, что объясняется широко распространенным видом экспрессии, наблюдаемым для hTR. hTERT обнаруживали в большей части образцов тканей раковых опухолей, но не в ближайшей строме. В работе Kamradt и др. hTERT была также обнаружена в 35% образцов с ВНР, но ее уровни экспрессии и активность были намного ниже, чем в онкотрансформированных тканях [29]. Образцы раковых тканей также проявили широкий диапазон уровней экспрессии hTERT, которые положительно коррелировали с hTR-уровнями, что является показателем скоординированного регулирования этих двух генов. В исследованиях экспрессии мРНК hTR и hTERT простаты Liu и др., а также Kamradt и др. [29, 32] не обнаружили корреляции этих показателей с другими прогностическими маркерами. Напротив, de Kok и др. [34] показали, что hTERT-уровни коррелировали со стадией, но не с видом опухоли. В нескольких случаях, в которых изучалась экспрессия и hTR, и hTERT, ткани опухоли проявляли негативную теломеразную активность [29]. Такие данные предостерегают от поспешных выводов о статусе активности теломеразы, основанных на результатах RT-PCR. Несоответствие между присутствием мРНК hTERT и реальной ферментативной активностью не является неожиданным,

учитывая многоуровневую регуляцию каталитической активности теломеразы (сплайсинг мРНК, посттрансляционная модификация белка, надлежащее собирание белковых компонентов и РНК матрицы, ассоциация с другими молекулами белка, правильная локализация активного комплекса и доступность теломерного субстрата) [35, 36]. Кроме того, существуют доказательства о минимальном количестве мРНК hTERT, требуемом для осуществления теломеразной ферментативной активности [35].

В отличие от RT-PCR метод гибридизации *in situ* обеспечивает информацией не только о генном статусе экспрессии, но также о специфичном клеточном и субклеточном местоположении экспрессирующихся видов РНК. Исследования гибридизации *in situ* также выявили hTR- и hTERT-экспрессию в большинстве случаев раковых заболеваний. Инфильтрующиеся лимфоциты были позитивны и по hTR, и по hTERT в соответствии с имеющейся детектируемой теломеразной активностью. Стромальные клетки, как правило, негативны по показателю экспрессии hTERT, за исключением данных исследования Kamradt и др. [29]. В соответствии с многочисленными сообщениями об исследованиях теломеразной активности на разных стадиях онкотрансформации PIN-образцы были положительны по hTERT и hTR как в базальных, так и в люминальных эпителиальных клетках [27, 37]. При исследованиях нормального эпителия простаты методом гибридизации *in situ* описана hTERT-положительность нормальных базальных клеток. Противоречивые результаты по экспрессии hTR были получены Bettendorf и др., которые нашли, что базальные клетки были hTR-отрицательными, а люминальные клетки – hTR-положительными [30]. Paradis и др. сообщили о противоположных результатах [31]. Наконец, в ВНР-тканях базальные клетки, как сообщали Kamradt и др., были положительны по hTERT [29].

Используя окрашивание hTERT белка с помощью антител к теломеразе, Iczkowski и др. сообщили о присутствии теломеразной иммунореактивности в лимфоцитах, в большинстве раковых новообразований простаты, нормальных базальных клетках и о прерывистом окрашивании базальных клеток в приблизительно одной трети случаев PIN [33]. В этом исследовании была найдена корреляция между теломеразоположительно окрашенными раковыми новообразованиями и коэффициентом Глисона. Кроме того, доля положительно окрашенных ядер в опухолях увеличивалась пропорционально увеличению коэф-

фициента Глисона. В другом иммуногистохимическом (ИНС) исследовании Bettendorf и др. нашли положительное окрашивание антителами в 100% случаев рака, в люминальных клетках – в 83% PIN-образований и положительную реактивность в люминальных клетках в 40% морфологически нормальных образцов эпителия [30].

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ТЕЛОМЕРАЗЫ

Транскрипционные регуляторы активности hTERT включают положительный регулятор с-Мус и отрицательно действующие регуляторы: MENIN (ген *MEN1*), Rak (FYN-RELATED KINASE; FRK), SIP1 (SMN-INTERACTING PROTEIN 1) и с-Мус – антагонист Mad1 [38].

Ген с-Мус находится в хромосомном регионе 8p и часто проявляет сверхэкспрессию при РПЖ, но не в случаях гормон-невосприимчивой стадии болезни [39]. При исследовании 33 случаев раковых новообразований простаты Latil и др. [39] обнаружили достоверную корреляцию между уровнями экспрессии hTERT и с-Мус, что подтверждает факт положительной регуляции активности гена hTERT геном с-Мус.

Субъядерное распределение теломеразы. Показано, что hTR связывается с ядрышком. Очевидно, что ядрышковые организаторы вовлечены в сборку теломеразы и/или её диссоциацию, и этот процесс нарушен в раковых клетках [40].

Регуляция процесса надлежащего сворачивания и сборки голофермента теломеразы происходит с участием шаперонов, особенно белков hsp90 и p23. Akalin и др. показали, что активность фермента теломеразы увеличивается в процессе онкотрансформации клеток простаты с сопутствующим увеличением экспрессии hsp90 и p23, но без существенных изменений экспрессии мРНК hTR или hTERT [41]. Такие данные дают основание для клинического исследования терапевтического потенциала агентов, блокирующих hsp90.

На сегодняшний день обнаружен ряд генов и соответствующих им белков, которые оказывают влияние на активность теломеразы, но механизмы этого влияния ещё не достаточно изучены.

Ген PINX1 (PIN2-Interacting protein 1), локализованный в хромосомной области 8p22-23, проявляет частую утрату гетерозиготности в раковых новообразованиях, включая РПЖ, и отрицательно регулирует активность теломеразы [42].

Аутоантителен La, полифункциональный белок, необходимый для стабилизации РНК и для созревания рибонуклеопротеинов (RNP), проявил в раковых клетках простаты линии DU-145

положительную корреляцию сверхэкспрессии с прогрессирующим сокращением длины теломер, что, по-видимому, связано с ингибированием активности фермента теломеразы [43].

BRCA1 хорошо известный опухолевый супрессор. Его сверхэкспрессия (не путать с BRCA1s) в клетках линии DU-145 блокирует генетический этап транскрипции теломеразы, но не транскрипцию других связанных с теломеразой генов, включая с-Мус. Основной BRCA1-опосредованный блок в процессе hTERT-транскрипции, видимо, реализуется путем ингибирования активации гена с-Мус через элемент гена с-Мус (E-box) в hTERT-генном промоторе [44].

NGF (Nerve Growth Factor). Его синтез в раковых клетках простаты снижен. Активность фермента теломеразы уменьшалась после NGF-обработки клеток линий PC3 и DU-145, но не в клетках линии LNCaP, которые характеризуются дефицитом экспрессии рецептора NGF [45].

Регулирование активности теломеразы в простате стероидными гормонами. Исследования, проведенные на предстательной железе крыс линии Copenhagen [46] и приматов [47], показали, что активность теломеразы существенно увеличивается после кастрации и падает в ходе регенерации желез, индуцированной восстановлением уровня тестостерона. На основании кинетики этих процессов сделано заключение, что в нормальной простате теломераза активно подавляется андрогензависимым способом, и её активность резко повышается после андрогенной депривации.

Совершенно противоположная картина наблюдается с регулированием теломеразы в клетках РПЖ, в которых детектируют теломеразную активность в присутствии андрогена и её подавление после андрогенной депривации. В ряде исследований на гормон-чувствительных линиях раковых клеток простаты LNCaP и ксенотрансплантантной модели CWR22 показано, что депривация андрогена вызывает уменьшение активности теломеразы, а обработка дигидротестостероном ведет к увеличению активности, за исключением нормальных эпителиальных клеток простаты и нечувствительной к гормону линии раковых клеток простаты DU-145 [48, 49]. Напротив, Bouchal и др. [50] не наблюдали положительного эффекта в клетках линии LNCaP после обработки дигидротестостероном, но обнаружили подавление активности теломеразы и понижение уровня мРНК *hTERT* в клетках линии LNCaP (но не в клетках DU-145) после обработки антиандрогеном bicalutamide. Bicalutamide

также уменьшал уровень экспрессии мРНК с-Мус, но не изменял экспрессию пула других модуляторов теломеразы, включая такие гены, как *DKC1*, *hsp90*, *p23*, *SIP1*, *Mad1* и *MENIN*. Стоит отметить, что ингибирование теломеразы андрогеной депривацией, наблюдаемое в раковых клетках простаты, обычно не достигает уровня 100%.

Точный механизм того, как андрогены регулируют активность теломеразы в простате, нуждается в объяснении. Потенциальным медиатором действия андрогена на экспрессию теломеразы в простате может быть положительный регулятор – ген с-Мус, экспрессию которого увеличивают андрогены. Экспрессия гена с-Мус положительно коррелирует с экспрессией гена *hTERT* в тканях РПЖ [51]. Другой потенциальный регулятор – полифункциональный белок *SVX7* (*CHROMOVOX HOMOLOG 7*). *SVX7* был недавно идентифицирован как сверхэкспрессируемый ген в эпителиальных нестарееющих клетках простаты [52].

Наряду с андрогенами в регулирование теломеразы в предстательной железе вовлечен эстроген. Обработка эстрогеном приводила к индукции *hTERT*-мессенджеров и увеличению активности теломеразы в культурах эпителиальных клеток нормальной простаты и тканей ВНР. Этот эффект сходен с увеличением активности теломеразы в линиях раковых клеток и в выращенных клетках раковых тканей [53]. Такие эффекты не наблюдали в клетках, в которых отсутствуют рецепторы к эстрогену. В отличие от андрогенов, эстрогены непосредственно активизируют *hTERT*-транскрипцию, вероятно, взаимодействуя с элементом ответа на эстроген, расположенным на *hTERT*-промоторе. Можно допустить, что локальная конверсия тестостерона в эстроген может играть роль регулятора теломеразной активности в простате.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР

Сокращение длины теломер, как правило, дает основание для неблагоприятного прогноза течения некоторых раковых новообразований. О потенциальной связи между длиной теломерных участков и положительным прогнозом РПЖ сообщили Donaldson и др. [54], используя модифицированный метод слот-блот-гибридизации. Этот метод позволяет измерять относительное содержание теломерной ДНК, отражающее длину теломер. В работе Fordyce и др. использовалась большая выборка (77 образцов простатэктомии) и более чувствительный хемилюминес-

центный метод слот-блот-детекции. Авторы сообщили, что содержание теломер ниже нормального уровня в первичных раковых новообразованиях простаты коррелировало с рецидивом заболевания независимо от возраста пациента, вида патологии и статуса региональных лимфатических узлов [55]. Интересно, что положительная корреляция была найдена между содержанием теломер в опухоли и в окружающей ее морфологически нормальной ткани простаты в тех же самых образцах, полученных в результате простатэктомии. Корреляция также была найдена между содержанием теломер в кажущихся нормальными тканях простаты и вероятностью 72-месячного выживания без рецидива. Таким образом, морфологически нормальные ткани с аномально короткими теломерами могут представлять собой области повышенного риска, испытывающие генетическую нестабильность. Это напоминает о так называемом явлении полевого эффекта (field effect), которое долго обсуждалось в литературе, посвященной раку.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ТЕЛОМЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ

Вышеизложенные факты несколько ограничивают использование показателя повышенной теломеразной активности в качестве безусловного онкомаркера. Тем не менее распространенность и относительно высокий уровень теломеразной активности, характеризующие раковые клетки по сравнению с нормальными и ВНР-тканями простаты, плюс очень высокая чувствительность стандартного метода измерения оправдывают использование показателей теломеразной активности в качестве диагностического маркера РПЖ. Было проведено несколько исследований для оценки активности теломеразы в биопсийных образцах простаты. В этих исследованиях присутствие теломеразы было обнаружено в более чем 80% случаев диагностированного рака, а повышенная активность теломеразы – в более чем половине всех случаев рака (диапазон 58–91%). Однако в некоторых исследованиях теломеразная активность была обнаружена и в нормальных образцах тканей простаты, а ее отсутствие – в 11–17% от общего количества образцов тканей с РПЖ [56, 57].

В дополнение к исследованиям биопсийных образцов была предпринята попытка обнаружить компоненты теломеразы и ее активность в образцах семенной жидкости. Такой неинвазивный подход имел бы очевидные преимущества в сравнении с биопсией. При исследовании

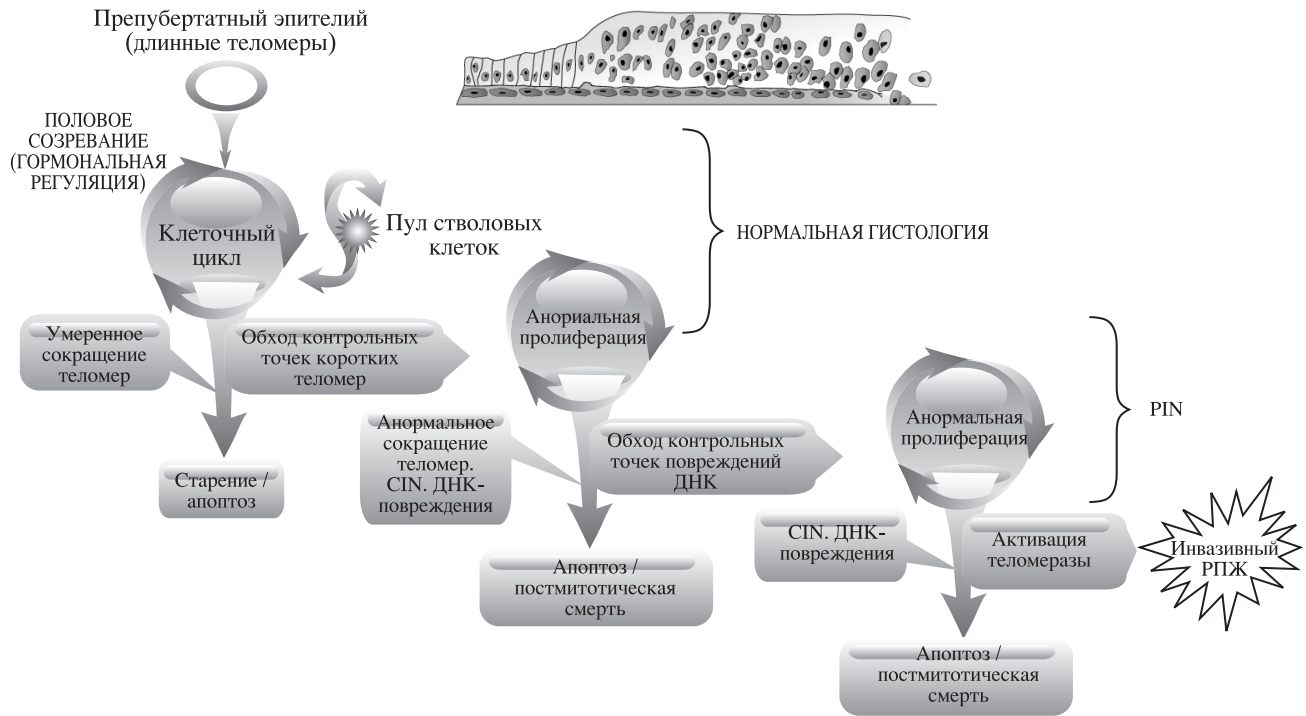


Рис. 1. Схема возможного пути онкотрансформации клеток

семенной жидкости 30 пациентов, больных раком простаты, Wang и др. обнаружили выраженную теломеразную активность в 83% случаев по сравнению с 11% (1 из 9) случаев детекции теломеразной активности в образцах семенной жидкости, полученной от мужчин без клинического диагноза РПЖ [58]. Эти значения согласуются с данными, полученными в работах на биоптатах тканей после радикальной простатэктомии. В этом исследовании отмечена положительная корреляция между уровнем теломеразной активности и показателями сывороточного PSA. Vicentini и др. получили подобные результаты на клетках, осажденных центрифугированием из жидкости после массажа простаты: активность была обнаружена в 90% образцов с гистологически доказанным раком простаты и в 13% образцов с ВНР [59]. Все теломеразоположительные образцы ВНР имели признаки острого воспаления. Более низкий процент детекции теломеразной активности у пациентов с РПЖ (58%) наблюдали в исследовании Meid и др. В этой работе теломеразная активность была измерена в образцах тканей, в моче или жидкости, полученной путем промывания мочеиспускательного канала после массажа простаты [60].

В целом потенциальная эффективность метода определения теломеразной активности или уровней hTERT, hTR-экспрессии при постановке

диагноза «рак простаты» кажется ограниченной прежде всего из-за проблем со специфичностью. Экспрессия hTR и/или hTERT обычно обнаруживается и при РПЖ, и в нормальной предстательной железе, и в простатической строме, и в ВНР. Ферментативную активность теломеразы многие исследователи находили у большей части образцов простаты после радикальной простатэктомии. Однако в нормальных или ВНР-тканях, не связанных с РПЖ, обычно активность выражена в меньшей степени. Активность теломеразы может быть дополнительным индикатором присутствия РПЖ. Особенно обнадеживающим фактом является то, что подобные высокие проценты детекции РПЖ по показателю теломеразной активности наблюдали как в исследованиях, использующих биопсийный материал тканей простаты, так и в исследованиях с использованием жидкостей предстательной железы.

Таким образом, короткие дисфункциональные теломеры и увеличенная теломеразная активность (рис. 1) могут быть наиболее вероятным инициатором сложных генетических изменений, лежащих в основе фенотипического разнообразия РПЖ, и объяснять немногочисленность генетических изменений в известных генах-супрессорах опухолей, онкогенах или генах стабильности генома. Сокращение теломер может отражать процессы естественного или

индуцированного клеточного старения и другие процессы, ускоряющие замену клеток, например воспаление или обычную патологию простаты. Это объясняет выраженную зависимость РПЖ от возраста. Критическое уменьшение длины теломерных участков хромосом инициирует хромосомную нестабильность (CIN) генетического аппарата клетки.

CIN влечет за собой повреждения ядерной ДНК и связанную с этим событием дестабилизацию работы внутриклеточных систем и всего комплекса ядерно-митохондриальных связей. Поэтому должны включиться контрольные точки репарации ДНК-повреждений, чтобы предотвратить дальнейшее развитие повреждений в геномной ДНК и элиминацию поврежденной мтДНК вплоть до ее полной элиминации (стадия PIN). Некоторое количество клеток с CIN может обойти этот второй контрольный пункт (точку контроля повреждений ДНК), что приводит к опухолеобразующим мутациям, гликолитическим сдвигам метаболизма и агрессивному раку. Наконец, приобретение бессмертия путем стабилизации длины теломерных участков хромосом, реализуемое обычно путем активации теломеразы, позволяет опухолям неограниченно расти (хотя все хромосомы во всех опухолевых клетках, возможно, и не достигают стадии полной стабилизации).

Возможность того, что инициированные к онкотрансформации клетки смогут обойти точки контроля длины теломер и точки контроля повреждений ДНК одновременно, невелика. Это объясняет, почему большинство онкотрансформированных клеток не в состоянии полностью прогрессировать к полноценному раковому состоянию. Даже клетки, которые преодолели эти онкоподавляющие барьеры, должны повторно стабилизировать свои теломеры, чтобы предотвратить неконтролируемую летальную генетическую неустойчивость (постмитотическая смерть клетки). Это должно привести к увеличению теломеразной активности, которая может быть эффективно использована в качестве маркера онкотрансформации.

МИТОХОНДРИИ И РАК ПРОСТАТЫ

Принято считать, что митохондрии – это органеллы, специализирующиеся исключительно на энергетическом метаболизме. На самом деле митохондрии являются многофункциональными образованиями, ответственными за развитие многих заболеваний. Это связано с внутриклеточными сигнальными системами, апоптозом и

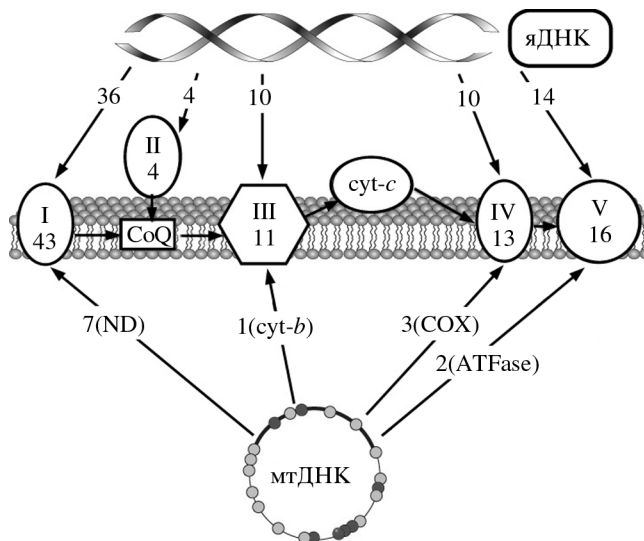


Рис. 2. Электронно-транспортные системы митохондрий и две системы кодирования; мтДНК – митохондриальная ДНК, яДНК – ядерная ДНК, ATFase – АТФаза, *cyt-b* – цитохром *b*, *cyt-c* – цитохром *c*, CoQ – кофермент Q (убихинон), COX – цитохром *c*-оксидаза, I, II, III, IV, V – пять белковых комплексов дыхательной цепи

клеточным гомеостазом. Митохондрии имеют собственный геном, присутствующий в множественных копиях (обычно 10^3 – 10^4 копий/клетку) и изменяющий свою копиюность в зависимости от уровня метаболической и функциональной нагрузки, вида ткани и возраста. Митохондриальная ДНК (мтДНК) служит для экспрессии 13 из приблизительно 100 полипептидных компонентов ферментных комплексов дыхательной цепи, расположенных во внутренней митохондриальной мембране (рис. 2).

Все 13 кодируемых мтДНК белковых компонентов являются необходимыми для окислительного фосфорилирования в митохондриях и, следовательно, для производства клеточной АТФ. Все остальные митохондриальные компоненты дыхательной цепи кодируются ядерными генами и доставляются к органелле определенными митохондриальными системами импорта. Кроме этого, молекула мтДНК кодирует две молекулы рибосомальной РНК (рРНК) и полный набор 22 транспортных РНК. В целом митохондриальный геном человека чрезвычайно компактен, каждый ген белка и рРНК непосредственно фланкирован по крайней мере одним тРНК-геном. Экспрессия митохондриального генома требует тРНК-вырезания (сплайсинга) в качестве главного механизма РНК-процессинга в случае, который опосредован, в частности, митохондриальной РНК-зой Р. Полный размер митохондриального генома у человека составляет 16 569 пн [61].

В отличие от других тканей функции митохондрий периферийных железистых эпителиальных клеток простаты человека уникальны и напрямую связаны с физиологией предстательной железы. Эпителиальные клетки простаты секретируют специфичный антиген (PSA или hK3), который переваривает гелеподобные протеины семеногелин I и II, приводя к разжижению секрета и высвобождению подвижных сперматозоидов. Ингибитором активности PSA является цинк (Zn^{2+}). Этот факт объясняет высокую концентрацию этого металла в тканях простаты [62]. Одновременно с этим цинк ингибирует активность м-аконитазы – фермента, вовлеченного в метаболизм лимонной кислоты в цикле Кребса, что приводит к угнетению всего цикла Кребса в клетках предстательной железы. Как следствие, в простатической жидкости накапливаются высокие концентрации лимонной кислоты. Кроме этого, цинк предотвращает рост клеток простаты, индуцируя апоптоз. Feng P. и др. показали, что аккумуляция внутриклеточного цинка оказывает непосредственное влияние на митохондрии, приводя к высвобождению цитохрома *c*. Этот шаг запускает каспазный каскад, приводящий к апоптозу [63]. В итоге накопление цинка в клетках простаты играет важную роль в регулировании энергетического метаболизма и в митохондриальном апоптогенезе.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

В процессе старения организма наблюдается широкий спектр изменений, в том числе в митохондриях и мтДНК. Эти изменения заключаются: в угнетении митохондриальной дыхательной функции; увеличении производства активных форм кислорода (АФК), приводящем к увеличению степени окислительного повреждения ДНК, белков и липидов митохондрий; накоплению SNP и крупномасштабных делеций в мтДНК; интенсификации апоптических процессов. Соматические мутации в мтДНК могут вызвать преждевременное старение без увеличения производства АФК. Митохондриальная дисфункция, окислительный стресс, накопление мутаций в мтДНК изменяют экспрессию групп генов, индуцируют апоптоз и являются важными составляющими в процессе старения человека [64].

Принято считать, что связанное со старением снижение активности дыхательной функции может привести к увеличенной генерации АФК в митохондриях вследствие утечки электронов че-

рез дефекты электронно-транспортной цепи. Кроме того, активность ферментов-перехватчиков свободных радикалов в процессе старения также понижается. Параллельные возрастные изменения этих двух систем приводят к усилению окислительного стресса в стареющих тканях. В определенном диапазоне концентраций АФК могут индуцировать стрессорный ответ в клетках, увеличивая экспрессию соответствующих генов (антиоксидантной защиты). Однако при определенном надпороговом уровне АФК могут стать источником обширного спектра окислительных повреждений в различных клеточных компонентах и привести к апоптозу путем индукции увеличения проводимости митохондриальной мембраны и выхода апоптотических факторов, например цитохрома *c*. С возрастом в различных тканях человека накапливаются окислительные повреждения и крупномасштабные делеции и дупликации мтДНК. Митохондрии могут работать как биодатчик окислительного стресса, они отражают возрастные и патологические изменения в клетке. Ухудшение митохондриального дыхания и окислительного фосфорилирования при наличии возрастных дефектов электронно-транспортной цепи вызывает увеличение нагрузки в виде окислительного стресса и приводит к перестановкам и делециям в мтДНК. Окислительный стресс и окислительные повреждения являются результатом параллельного накопления мутаций в мтДНК и в ядерных генах антиоксидантных ферментов в процессе старения человека.

ЭФФЕКТ ВАРБУРГА

Большинство раковых клеток даже в условиях избытка кислорода производит энергию гликолитическим путем. Это сопровождается молочно-кислой ферментацией в цитоплазме в отличие от нормальных клеток, которые получают АТФ благодаря дальнейшему окислению пирувата в митохондриях [65]. Отто Варбург постулировал, что такое изменение в метаболизме – фундаментальная особенность обмена веществ в раковых клетках [66]. Эффект Варбурга может быть связан с различными причинами: повреждением митохондрий при развитии рака, адаптацией к среде с низкой концентрацией кислорода в быстрорастущих опухолевых образованиях или являться результатом работы онкогенов, блокирующих митохондрии, вовлеченные в процесс апоптоза клетки. Бесспорным является лишь одно утверждение: процесс онкотрансфор-

магии клеток влечет изменение генетического и метаболического статуса митохондрий.

Однако не во всех тканях раковое преобразование клеток происходит по одному сценарию: от нормального окислительного фосфорилирования к гликолитическому метаболизму с суперпродукцией активных форм кислорода (АФК). Злокачественное преобразование простаты связано с ранней метаболической депрессией, что приводит к уменьшенному накоплению цинка, возобновлению активности м-аконитазы и увеличению в митохондриях окисления лимонной кислоты, получаемой в цикле Кребса. Усиление окислительного фосфорилирования в онкотрансформированных клетках подразумевает увеличение активности электронно-транспортной цепи, увеличение потребления кислорода и, возможно, избыточную генерацию АФК по сравнению с нормальными эпителиальными клетками простаты. Поскольку АФК могут значительно повреждать ДНК, белки и липиды, измененный метаболизм может ускорять мутации митохондриальной ДНК при РПЖ [67]. Однако само по себе снятие блока с фермента м-аконитазы и возобновление активности цикла Кребса с последующим терминальным окислением не подразумевает фатального увеличения повреждений клеток АФК. Концентрация АФК при нормальном функционировании митохондрий крайне мала, а для удаления следовых количеств АФК существуют эффективно работающие антиоксидантные системы. Следовательно, существенное повышение повреждений биополимеров посредством АФК в онкотрансформированных клетках простаты сигнализирует о разбалансировке систем электронно-транспортной цепи и антиоксидантных (ферментативных и неферментативных) систем на ранних стадиях онкотрансформации [68].

Исследования митохондриальной глицерофосфат дегидрогеназы (mGPDH) в линиях раковых клеток простаты (LNCaP, DU145, PC3 и CL1) показали, что по сравнению с нормальными клетками PNT1A гликолитическая активность раковых клеток была увеличена от 2 до 5 раз, а глицерофосфатзависимая генерация АФК была увеличена от 5 до 7 раз. В целом эти данные демонстрируют, что mGPDH вовлечена в поддержание высокого уровня гликолиза и является важным сайтом электронной утечки, приводящей к производству АФК в раковых клетках простаты [69].

Прогрессия раковой опухоли в стадию инвазивной карциномы простаты может стимулироваться множественными паракринными эффек-

тами микроокружения опухоли (паракринная передача сигналов – форма клеточной сигнализации, при которой клетка-мишень находится рядом с клеткой – источником сигнала). Для определения механизма паракринной онкотрансформации провели тотальный скрининг белков раковых линий клеток с последующей идентификацией дополнительных фракций, появившихся на стадии онкотрансформации и усиленного роста, методом Maldi-TOF масс-спектрометрии. Из шести дополнительно транскрибируемых белков два белка были идентифицированы как посттрансляционно-модифицированные формы энolahзы и фосфоглицераткиназы [70]. Таким образом, индукция ферментов гликолитического пути может быть ранним критическим событием в онкотрансформации клеток.

ИЗМЕНЕНИЯ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК И РАК ПРОСТАТЫ

В большинстве раковых новообразований найдены полиморфизмы одиночных нуклеотидов мтДНК (mtSNP). Однако информации о взаимосвязи вариаций мтДНК с возникновением РПЖ недостаточно. На основании масштабного скрининга семейных случаев РПЖ было проведено генотипирование 24 общепринятых mtSNP, которые определяют обычные этнические гаплогруппы мтДНК в кавказоидной популяции, параллельно с диагностикой наличия рака простаты традиционными методами ректальной экспертизы, измерением уровня PSA в сыворотке крови, трансректальным сонографическим сканированием и в некоторых случаях биопсией. Результаты скрининга не подтвердили корреляции этноспецифических вариаций мтДНК с риском возникновения РПЖ [71].

Делеции в митохондриальном геноме размером до 3,4 тпн (3.4mtD), идентифицированные методом PCR-амплификации, оказались высокоинформативными для молекулярно-генетической идентификации различных переходных форм рака предстательной железы. Для измерения уровней 3.4mtD в клинических образцах использовали также метод количественной PCR. Исследование 108 биоптатов опухолей показало выраженные различия между образцами гиперплазийных и злокачественных тканей по этому показателю (3.4mtD). При сравнении с гистопатологическими исследованиями гиперплазийных и злокачественных опухолей чувствительность и специфичность данного теста составила 80 и 71% соответственно. В валидационном анонимном исследовании чувствительность и специфич-

ность составили 83 и 79% соответственно. Таким образом, тест на наличие 3.4mtD может быть эффективен для определения злокачественных опухолей простаты [72].

При проведении поиска соматических мутаций мтДНК в гистологически охарактеризованных популяциях клеток РПЖ и его преагрессивных состояний был выявлен высокий уровень соматических мутаций (в 90% проб раковых опухолей) контрольного региона (D-петля) мтДНК. Массивная индукция связанных с онкотрансформацией мутаций вызывает активный митохондриальный мутагенез, особенно в области D-петли мтДНК [73]. D-петля мтДНК является не кодирующей (управляющей) областью, наличие мутаций в которой напрямую не затрагивает структурные гены мтДНК, но влияет на регуляцию всего митохондриального генома в целом и на взаимоотношения между ядерным и митохондриальным геномами.

Можно было бы ожидать, что в онкотрансформированных тканях, обладающих ярко выраженным гликолитическим обменом веществ (эффект Варбурга), количественное содержание мтДНК в клетке будет пониженным. Однако результаты некоторых исследований такое предположение опровергают. В связи с этим было изучено содержание мтДНК методом количественной Real-Time PCR в клетках из биоптатов, полученных методом лазерной микродиссекции тканей рака простаты и прилегающих нормальных тканей. Результаты исследования показали, что содержание мтДНК в пересчете на клетку в раковых клетках было повышено по сравнению с нормальными клетками. Содержание мтДНК было увеличено в семи из девяти образцов (78%) раковых образований простаты по сравнению с нормальными тканями простаты [74].

Была предложена альтернативная метаболическая модель ускоренных мДНК-мутаций, для того чтобы объяснить их роль в развитии и прогрессии рака простаты [75]. В этой модели метаболическое реле, приводящее к увеличению активности электронно-транспортной цепи, – раннее событие, которое происходит на начальных этапах в злокачественном преобразовании клеток простаты. Согласно общепринятому мнению, увеличение дыхательной активности вызывает каскад событий – увеличение генерации АФК и увеличение уровней мутаций в мДНК. Дальнейшее увеличение генерации АФК невозможно в силу цитотоксических и генотоксических эффектов, являющихся следствием интенсификации окислительного стресса (утечка электронов), который может

внести свой вклад в этиологию и патогенез рака простаты.

Причастность митохондрий к прогрессии РПЖ на андрогеннезависимой стадии рака показана в работе Higuchi и др. [76] на линиях клеток C4-2 и LNCaP. Экспрессия мтДНК в клетках андрогеннезависимой линии клеток C4-2 была в 8 раз ниже в сравнении с LNCaP, что коррелировало с накоплением больших делеций в мтДНК. Уменьшение количества митохондриальной ДНК в андрогензависимой линии LNCaP приводило к потере гормональной зависимости, которая восстанавливалась только после восстановления нормального уровня мтДНК у клона. В дальнейшем дефицитные по показателю митохондриальной ДНК клетки сформировали опухоли в кастрированных бестимусных мышцах, тогда как клетки линии LNCaP (андрогензависимая линия) опухолей не формировали. Таким образом, накопление больших делеций и уменьшение пула митохондриальной ДНК может играть существенную роль в развитии андроген-независимости и прогрессии раковых образований простаты.

Вышеприведенные данные наглядно демонстрируют, что при онкотрансформации тканей простаты наблюдаются не только эффекты хромосомной (CIN), но и митохондриальной нестабильности, а также нарушение взаимосвязанной регуляции работы ядерной и митохондриальной ДНК.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ И РПЖ

Компенсаторная индукция ферментов гликолитического пути (при эффекте Варбурга) может быть ранним критическим событием в онкотрансформации клеток. Поэтому выраженная индукция ферментов гликолиза может рассматриваться в качестве ключевого механизма или маркера ранней прогрессии РПЖ.

В Гарвардской медицинской школе (Harvard Medical School – HMS) был идентифицирован фермент, который предположительно является основной причиной эффекта Варбурга [77, 78]. Именно специфическая форма пируваткиназы, PKM2, ответственна за то, что раковые клетки начинают использовать глюкозу в больших количествах. Если «заставить» клетки переключиться на альтернативную форму пируваткиназы, ингибируя экспрессию PKM2, их рост будет контролируем, что и было продемонстрировано в опытах на лабораторных мышцах. Усиленная экспрессия PKM2 была идентифицирована

во всех раковых клетках и не обнаружена в здоровых тканях. Эти эксперименты являются основанием для возможной ранней диагностики эффекта Варбурга в онкотрансформированных тканях [79, 80].

Таким образом, в процессе онкотрансформации клеток, проявляющемся, в частности, эффектом Варбурга, мы наблюдаем комплекс функциональных нарушений в митохондриях и в митохондриальной ДНК. Функциональные изменения в митохондриях проявляются в угнетении окислительного фосфорилирования и в увеличении генерации АФК, оказывающих разрушительное воздействие на клеточные компоненты. Структурные изменения в митохондриальной ДНК в процессе онкотрансформации проявляются в увеличении количества крупных делеций и SNP's. В целом эти изменения митохондриального генома в раковых клетках можно охарактеризовать термином «митохондриальная нестабильность» (Mitochondrial Instability – MtIN).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе онкотрансформации происходят множественные нарушения функционирования генетического аппарата клетки, проявляющиеся в виде хромосомной (CIN) и митохондриальной нестабильности (MtIN), что в совокупности можно описать как комплекс геномных изменений в процессе онкотрансформации клетки, объединяемый термином «геномная нестабильность» (Genome Instability – GIN). Особенности различных молекулярно-генетических процессов и маркеры геномной нестабильности, позволяющие охарактеризовать эти процессы, могут быть использованы для эффективной диагностики раковых заболеваний. По всей видимости, это связано с тем, что приобретение повышенной теломеразной активности и дестабилизация работы всего генома являются заключительными этапами на пути к развитию рака. Геномная нестабильность приводит к апоптозу или к онкотрансформации и резкому увеличению продукции АФК в онкотрансформированных клетках. Увеличение генерации АФК также является следствием глобальной геномной нестабильности, что проявляется в дефектах электронно-транспортной цепи митохондрий (почти 90% митохондриального протеома кодируется в ядре) и в антиоксидантных системах защиты клетки.

Из возрастной концепции прогресса РПЖ, рассматриваемой в рамках данного обзора, следует, что только комплексное исследование теломерных участков хромосом и теломеразной

активности, маркеров геномной нестабильности (хромосомных и митохондриальных), экспрессии гликолитических ферментов и теломерного протеома может обеспечить новые возможности эффективной диагностики и своевременного лечения рака предстательной железы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Carter B.S., Bova G.S., Beaty T.H. et al. Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features // *J. Urol.* 1993. Vol. 150. P. 797–802.
2. Lichtenstein P., Holm N.V., Verkasalo P.K. et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland // *N. Engl. J. Med.* 2000. Vol. 343. P. 78–85.
3. Jemal A., Murray T., Samuels A. et al. Cancer statistics, 2003 // *CA-Cancer J. Clin.* 2003. Vol. 53. P. 5–26.
4. Visakorpi T. The molecular genetics of prostate cancer // *Urology.* 2003. Vol. 62. P. 3–10.
5. Абелев Г.И., Эрайзер Т.Л. На пути понимания природы рака // *Биохимия.* 2008. Т. 73. Вып. 5. С. 605–618.
6. Loeb L.A. Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis // *Cancer Res.* 1991. Vol. 51. P. 3075–3079.
7. Al-Maghrabi J., Vorobyova L., Chapman W. et al. p53 Alteration and chromosomal instability in prostatic high-grade intraepithelial neoplasia and concurrent carcinoma: analysis by immunohistochemistry, interphase in situ hybridization, and sequencing of laser-captured microdissected specimens // *Mod. Pathol.* 2001. Vol. 14. P. 1252–1262.
8. Lengauer C., Kinzler K.W., Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers // *Nature.* 1998. Vol. 396. P. 643–649.
9. Pihan G.A., Wallace J., Zhou Y., Doxsey S.J. Centrosome abnormalities and chromosome instability occur together in pre-invasive carcinomas // *Cancer Res.* 2003. Vol. 63. P. 1398–1404.
10. Moyzis R.K., Buckingham J.M., Cram L.S. et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988. Vol. 85. P. 6622–6626.
11. Lo A.W., Sabatier L., Fouladi B. et al. DNA amplification by breakage/fusion/bridge cycles initiated by spontaneous telomere loss in a human cancer cell line // *Neoplasia.* 2002. Vol. 4. P. 531–538.
12. von Zglinicki T., Pilger R., Sittler N. Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts // *Free Rad. Biol. Med.* 2000. Vol. 28. P. 64–74.
13. Reddel R.R., Bryan T.M., Colgin L.M., Perrem K.T., Yeager T.R. Alternative lengthening of telomeres in human cells // *Radiat. Res.* 2001. Vol. 155. P. 194–200.
14. Gisselsson D., Jonson T., Yu C. et al. Centrosomal abnormalities, multipolar mitoses, and chromosomal

- instability in head and neck tumours with dysfunctional telomeres // *Br. J. Cancer*. 2002. Vol. 87. P. 202–207.
15. *Koeneman K.S., Pan C.X., Jin J.K. et al.* Telomerase activity, telomere length, and DNA ploidy in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) // *J. Urol.* 1998. Vol. 160. P. 1533–1539.
 16. *Hiyama K., Ishioka S., Shirotani Y. et al.* Alterations in telomeric repeat length in lung cancer are associated with loss of heterozygosity in p53 and Rb // *Oncogene*. 1995. Vol. 10. P. 937–944.
 17. *Meeker A.K., Gage W.R., Hicks J.L. et al.* Telomere length assessment in human archival tissues: combined telomere fluorescence in situ hybridization and immunostaining // *Am. J. Pathol.* 2002. Vol. 160. P. 1259–1268.
 18. *Bostwick D.G., Pacelli A., Lopez-Beltran A.* Molecular biology of prostatic intraepithelial neoplasia // *Prostate*. 1996. Vol. 29. P. 117–134.
 19. *Meeker A.K., Hicks J.L., Platz E.A. et al.* Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis // *Cancer Res.* 2002. Vol. 62. P. 6405–6409.
 20. *Hermeking H.* The 14-3-3 cancer connection // *Nat. Rev. Cancer*. 2003. V. 3. P. 931–943.
 21. *Greider C.W., Blackburn E.H.* The telomere terminal transferase of tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity // *Cell*. 1987. Vol. 51. P. 887–898.
 22. *Weinrich S.L., Pruzan R., Ma L. et al.* Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit Htrt // *Nat. Genet.* 1997. Vol. 17. P. 498–502.
 23. *Weng N.P., Levine B.L., June C.H., Hodes R.J.* Regulated expression of telomerase activity in human T lymphocyte development and activation // *J. Exp. Med.* 1996. Vol. 183. P. 2471–2479.
 24. *Yasumoto S., Kunimura C., Kikuchi K. et al.* Telomerase activity in normal human epithelial cells // *Oncogene*. 1996. Vol. 13. P. 433–439.
 25. *Nakamura Y., Tahara E., Tahara H., Yasui W., Ide T.* Quantitative reevaluation of telomerase activity in cancerous and noncancerous gastrointestinal tissues // *Mol. Carcinog.* 1999. Vol. 26. P. 312–320.
 26. *Ulaner G.A., Hu J.F., Vu T.H., Oruganti H., Giudice L.C., Hoffman A.R.* Regulation of telomerase by alternate splicing of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) in normal and neoplastic ovary, endometrium and myometrium // *Int. J. Cancer*. 2000. Vol. 85. P. 330–335.
 27. *Kim N.W., Piatyszek M.A., Prowse K.R. et al.* Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer // *Science*. 1994. Vol. 266. P. 2011–2015.
 28. *Engelhardt M., Albanell J., Drullinsky P. et al.* Relative contribution of normal and neoplastic cells determines telomerase activity and telomere length in primary cancers of the prostate, colon, and sarcoma // *Clin. Cancer Res.* 1997. Vol. 3. P. 1849–1857.
 29. *Kamradt J., Drosse C., Kalkbrenner S. et al.* Telomerase activity and telomerase subunit gene expression – levels are not related in prostate cancer: a real-time quantification and in situ hybridization study // *Lab. Invest.* 2003. Vol. 83. P. 623–633.
 30. *Bettendorf O., Heine B., Kneif S. et al.* Expression patterns of the RNA component (hTR) and the catalytic subunit (hTERT) of human telomerase in nonneoplastic prostate tissue, prostatic intraepithelial neoplasia, and prostate cancer // *Prostate*. 2003. Vol. 55. P. 99–104.
 31. *Paradis V., Dargere D., Laurendeau I. et al.* Expression of the RNA component of human telomerase (hTR) in prostate cancer, prostatic intraepithelial neoplasia, and normal prostate tissue // *J. Pathol.* 1999. V. 189. P. 213–218.
 32. *Liu B.C., LaRose I., Weinstein L.J., Ahn M., Weinstein M.H., Richie J.P.* Expression of telomerase subunits in normal and neoplastic prostate epithelial cells isolated by laser capture microdissection // *Cancer*. 2001. Vol. 92. P. 1943–1948.
 33. *Iczkowski K.A., Pantazis C.G., McGregor D.H., Wu Y., Tawfik O.W.* Telomerase reverse transcriptase subunit immunoreactivity: a marker for high-grade prostate carcinoma // *Cancer*. 2002. Vol. 95. P. 2487–2493.
 34. *de Kok J.B., Verhaegh G.W., Roelofs R.W. et al.* DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors // *Cancer Res.* 2002. Vol. 62. P. 2695–2698.
 35. *Snijders P.J., van Duin M., Walboomers J.M. et al.* Telomerase activity exclusively in cervical carcinomas and a subset of cervical intraepithelial neoplasia grade III lesions: strong association with elevated messenger RNA levels of its catalytic subunit and high risk human papillomavirus DNA // *Cancer Res.* 1998. Vol. 58. P. 3812–3818.
 36. *Le S., Sternglanz R., Greider C.W.* Identification of two RNA-binding proteins associated with human telomerase RNA // *Mol. Biol. Cell.* 2000. Vol. 11. P. 999–1010.
 37. *Zhang W., Kapusta L.R., Slingerland J.M., Klotz L.H.* Telomerase activity in prostate cancer, prostatic intraepithelial neoplasia, and benign prostatic epithelium // *Cancer Res.* 1998. Vol. 58. P. 619–621.
 38. *Lin S.Y., Elledge S.J.* Multiple tumor suppressor pathways negatively regulate telomerase // *Cell*. 2003. Vol. 113. P. 881–889.
 39. *Latil A., Vidaud D., Valeri A. et al.* hTERT expression correlates with MYC over expression in human prostate cancer // *Int. J. Cancer*. 2000. Vol. 89. P. 172–176.
 40. *Yang Y., Chen Y., Zhang C., Huang H., Weissman S.M.* Nucleolar localization of hTERT protein is associated with telomerase function // *Exp. Cell. Res.* 2002. Vol. 277. P. 201–209.
 41. *Akalin A., Elmore L.W., Forsythe H.L. et al.* A novel mechanism for chaperone mediated telomerase regulation during prostate cancer progression // *Cancer Res.* 2001. Vol. 61. P. 4791–4796.
 42. *Hawkins G.A., Chang B.L., Zheng S.L. et al.* Mutational analysis of PINX1 in hereditary prostate cancer // *Prostate*. 2004. Vol. 60. P. 298–302.
 43. *Ford L.P., Shay J.W., Wright W.E.* The La antigen associates with the human telomerase ribonucleoprotein and

- influences telomere length in vivo // *RNA*. 2001. Vol. 7. P. 1068–1075.
44. Zhang J.X., Zhang Z.K., Sheng H.P., Tsao S.W., Loh T.T. Telomerase activity is not related to apoptosis in leukemic cell lines // *Life Sci*. 2000. Vol. 66. P. 1713–1723.
45. Sigala S., Faraoni I., Botticini D. et al. Suppression of telomerase, reexpression of KAI1, and abrogation of tumorigenicity by nerve growth factor in prostate cancer cell lines // *Clin. Cancer Res*. 1999. Vol. 5. P. 1211–1218.
46. Meeker A.K., Sommerfeld H.J., Coffey D.S. Telomerase is activated in the prostate and seminal-vesicles of the castrated rat // *Endocrinology*. 1996. Vol. 137. P. 5743–5746.
47. Ravindranath N., Ioffe S.L., Marshall G.R., Ramaswamy S., Plant T.M., Dym M. Androgen depletion activates telomerase in the prostate of the nonhuman primate, *Macaca mulatta* // *Prostate*. 2001. Vol. 49. P. 79–89.
48. Guo C., Armbruster B.N., Price D.T., Counter C.M. In vivo regulation of hTERT expression and telomerase activity by androgen // *J. Urol*. 2003. Vol. 170. P. 615–618.
49. Soda H., Raymond E., Sharma S. et al. Effects of androgens on telomerase activity in normal and malignant prostate cells in vitro // *Prostate*. 2000. Vol. 43. P. 161–168.
50. Bouchal J., Baumforth K.R., Svachova Z. et al. Microarray analysis of bicalutamide action on telomerase activity, p53 pathway and viability of prostate carcinoma cell lines // *J. Pharmacol*. 2005. Vol. 57. P. 83–92.
51. Silva I.S., Morsch D.M., Urnauer L., Spritzer P.M. Androgen-induced cell growth and c-myc expression in human non-transformed epithelial prostatic cells in primary culture // *Endocr. Res*. 2001. Vol. 27. P. 153–169.
52. Gil J., Bernard D., Martinez D., Beach D. Polycomb CBX7 has a unifying role in cellular lifespan // *Nat.-Cell Biol*. 2004. Vol. 6. P. 67–72.
53. Nanni S., Narducci M., Delia Pietra L. et al. Signaling through estrogen receptors modulates telomerase – activity in human prostate cancer // *J. Clin. Invest*. 2002. Vol. 110. P. 219–227.
54. Donaldson L., Fordyce C., Gilliland F. et al. Association between outcome and telomere DNA content in prostate cancer // *J. Urol*. 1999. Vol. 162. P. 1788–1792.
55. Fordyce C.A., Heaphy C.M., Joste N.E., Smith A.Y., Hunt W.C., Griffith J.K. Association between cancer-free survival and telomere DNA content in prostate tumors // *J. Urol*. 2005. Vol. 173. P. 610–614.
56. Bertaccini A., Chieco P., Giovannini C., Capra I., Martorana G. Biopsying prostate gland: telomerase evaluation // *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 1999. Vol. 2. P. 3–6.
57. Wang Z., Ramin S.A., Tsai C. et al. Telomerase activity in prostate sextant needle cores from radical prostatectomy specimens // *Urol. Oncol*. 2001. Vol. 6. P. 57–62.
58. Wang Z., Ramin S.A., Tsai C. et al. Detection of telomerase activity in prostatic fluid specimens // *Urol. Oncol*. 2000. Vol. 6. P. 4–9.
59. Vicentini C., Gravina G.L., Angelucci A. et al. Detection of telomerase activity in prostate massage samples – improves differentiating prostate cancer from benign prostatic hyperplasia // *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. 2004. Vol. 130. P. 217–221.
60. Meid F.H., Gygi C.M., Leisinger H.J., Bosman F.T., Benhattar J. The use of telomerase activity for detection of prostatic cancer cells after prostatic massage // *J. Urol*. 2001. Vol. 165. P. 1802–1805.
61. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome // *Nature*. 1981. Vol. 9. № 290 (5806). P. 457–465.
62. Malm J., Hellman J., Hogg P., Lilja H. Enzymatic action of prostate-specific antigen (PSA or hK3): substrate specificity and regulation by Zn⁽²⁺⁾, a tight-binding inhibitor // *Prostate*. 2000. Vol. 45. N 2. P. 132–139.
63. Feng P., Li T., Guan Z., Franklin R.B., Costello L.C. The involvement of Bax in Zinc-induced mitochondrial apoptosis in malignant prostate cells // *Mol. Cancer*. 2008. Vol. 7. P. 7–25.
64. Lee H-C., Wei Y.-H. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and apoptosis in aging // *Exp. Biol. and Med*. 2007. Vol. 232. P. 592–606.
65. Kim J.W., Dang C.V. Cancer's molecular sweet tooth and the Warburg effect // *Cancer Res*. 2006. Vol. 66. № 18. P. 8927–8930.
66. Warburg O. On the origin of cancer cells // *Science*. 1956. Vol. 123. P. 309–314.
67. Dakubo G.D., Parr R.L., Costello L.C., Franklin R.B., Thayer R.E. Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate cancer // *J. of Clin. Pathology*. 2006. Vol. 59. P. 10–16.
68. Водолажский Д.И. Биохимические аспекты ДНК-деструктивного действия повышенного давления кислорода: Дисс. ... канд. биол. наук. Ростов-на-Дону, 2002. 134 с.
69. Chowdhury S.K., Gemin A., Singh G. High activity of mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase and glycerophosphate-dependent ROS production in prostate cancer cell lines // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2005. Vol. 333. № 4. P. 1139–1145.
70. Dipaola R.S., Dvorzhinski D., Thalasila A., Thomas P.E., White E. Proteomic assessment in co-culture model implicates the Warburg effect as an initial event in prostate cancer growth // *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res*. 2004. Vol. 45.
71. Wang L., Hebring S.J., Zarfes K.E. et al. Role of mitochondrial genetic variations in prostate cancer // *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res*. 2006. Vol. 47.
72. Maki J., Robinson K., Reguly B. et al. Mitochondrial genome deletion aids in the identification of false- and true-negative prostate needle core biopsy specimens // *Am. J. Clin. Pathol*. 2008. Vol. 129. № 1. P. 57–66.
73. Chen J.Z., Gokden N., Greene G.F. et al. Extensive somatic mitochondrial mutations in primary prostate cancer using laser capture microdissection // *Cancer Res*. Vol. 62. P. 6470–6474.

74. Mizumachi T., Muskhelishvili L., Naito A. et al. Increased distributional variance of mitochondrial DNA content associated with prostate cancer cells as compared with normal prostate cells // *Prostate*. 2008. Vol. 68. № 4. P. 408–17.
75. Modica-Napolitano J.S., Kulawiec M., Singh K.K. Mitochondria and Human Cancer // *Curr. Mol. Med.* 2007. Vol. 7. № 1. P. 121–131.
76. Higuchi M., Kudo T., Evans T.T. et al. Mitochondrial DNA determines androgen sensitivity in prostate cancer cell lines // *Oncogene*. 2006. Vol. 25. № 10. P. 1437–1445.
77. Christofk H.R., Vander Heiden M.G., Harris M.H. et al. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth // *Nature*. 2008. Vol. 452. P. 230–233.
78. Pedersen P.L. Warburg, me and Hexokinase 2: Multiple discoveries of key molecular events underlying one of cancers' most common phenotypes, the "Warburg Effect", i.e., elevated glycolysis in the presence of oxygen // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2007. Vol. 39. P. 211–222.
79. Bonnet S., Archer S.L., Allalunis-Turner J. et al. A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth // *Cancer Cell*. 2007. Vol. 11. № 1. P. 37–51.
80. Pan J.G., Mak T.W. Metabolic targeting as an anti-cancer strategy: dawn of a new era? // *Sci. STKE*. 2007. Vol. 381. P. 14.

FACTORS OF AGE GENETIC INSTABILITY AND PROSTATE CANCER

D.I. Vodolazhsky, N.N. Timoshkina

The basic molecular-genetic occurrences that form the basis of the prostate cancer development are considered. The detailed analysis of molecular-genetic factors and markers of oncotransformation of a prostate from the point of view of conception of age-related changes of prostate's tissues is carried out. The conclusion on important role of telomeric areas of chromosomes, proteins of telomeric complex, and age-related changes in mitochondrial DNA during the development of the prostate cancer is given.

Key words: Prostate cancer, telomeres, telomerase; Chromosomal Instability (CIN), prostate-specific antigen (PSA), mitochondrial DNA (mtDNA).

REFERENCES

1. Carter B.S., Bova G.S., Beaty T.H. et al. 1993. Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features. *J. Urol.* 150: 797–802.
2. Lichtenstein P., Holm N.V., Verkasalo P.K. et al. 2000. Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N. Engl. J. Med.* 343: 78–85.
3. Jemal A., Murray T., Samuels A. et al. 2003. Cancer statistics, 2003. *CA-Cancer J. Clin.* 53: 5–26.
4. Visakorpi T. 2003. The molecular genetics of prostate cancer. *Urology.* 62: 3–10.
5. Abelev G.I., Erayzer T.L. 2008. [In the way of understanding the nature of cancer]. *Biokhimiya.* 73(5): 605–618. (In Russian).
6. Loeb L.A. 1991. Mutator phenotype may be required for multistage carcinogenesis. *Cancer Res.* 51: 3075–3079.
7. Al-Maghrabi J., Vorobyova L., Chapman W. et al. 2001. p53 Alteration and chromosomal instability in prostatic high-grade intraepithelial neoplasia and concurrent carcinoma: analysis by immunohistochemistry, interphase in situ hybridization, and sequencing of laser-captured microdissected specimens. *Mod. Pathol.* 14: 1252–1262.
8. Lengauer C., Kinzler K.W., Vogelstein B. 1998. Genetic instabilities in human cancers. *Nature.* 396: 643–649.
9. Pihan G.A., Wallace J., Zhou Y., Doxsey S.J. 2003. Centrosome abnormalities and chromosome instability occur together in pre-invasive carcinomas. *Cancer Res.* 63: 1398–1404.
10. Moyzis R.K., Buckingham J.M., Cram L.S. et al. 1988. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85: 6622–6626.
11. Lo A.W., Sabatier L., Fouladi B. et al. 2002. DNA amplification by breakage/fusion/bridge cycles initiated by spontaneous telomere loss in a human cancer cell line. *Neoplasia.* 4: 531–538.
12. von Zglinicki T., Pilger R., Sitte N. 2000. Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts. *Free Rad. Biol. Med.* 28: 64–74.
13. Reddel R.R., Bryan T.M., Colgin L.M., Perrem K.T., Yeager T.R. 2001. Alternative lengthening of telomeres in human cells. *Radiat. Res.* 155: 194–200.
14. Gisselsson D., Jonson T., Yu C. et al. 2002. Centrosomal abnormalities, multipolar mitoses, and chromosomal instability in head and neck tumours with dysfunctional telomeres. *Br. J. Cancer.* 87: 202–207.
15. Koeneman K.S., Pan C.X., Jin J.K. et al. 1998. Telomerase activity, telomere length, and DNA ploidy in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). *J. Urol.* 160: 1533–1539.
16. Hiyama K., Ishioka S., Shirotani Y. et al. 1995. Alterations in telomeric repeat length in lung cancer are associated with loss of heterozygosity in p53 and Rb. *Oncogene.* 10: 937–944.
17. Meeker A.K., Gage W.R., Hicks J.L. et al. 2002. Telomere length assessment in human archival tissues: combined telomere fluorescence in situ hybridization and immunostaining. *Am. J. Pathol.* 160: 1259–1268.
18. Bostwick D.G., Pacelli A., Lopez-Beltran A. 1996. Molecular biology of prostatic intraepithelial neoplasia. *Prostate.* 29: 117–134.
19. Meeker A.K., Hicks J.L., Platz E.A. et al. 2002. Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. *Cancer Res.* 62: 6405–6409.
20. Hermeking H. 2003. The 14-3-3 cancer connection. *Nat. Rev. Cancer.* 3: 931–943.
21. Greider C.W., Blackburn E.H. 1987. The telomere terminal transferase of tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity. *Cell.* 51: 887–898.
22. Weinrich S.L., Pruzan R., Ma L. et al. 1997. Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit Htrt. *Nat. Genet.* 17: 498–502.

23. Weng N.P., Levine B.L., June C.H., Hodes R.J. 1996. Regulated expression of telomerase activity in human T lymphocyte development and activation. *J. Exp. Med.* 183: 2471–2479.
24. Yasumoto S., Kunimura C., Kikuchi K. et al. 1996. Telomerase activity in normal human epithelial cells. *Oncogene*. 13: 433–439.
25. Nakamura Y., Tahara E., Tahara H., Yasui W., Ide T. 1999. Quantitative reevaluation of telomerase activity in cancerous and noncancerous gastrointestinal tissues. *Mol. Carcinog.* 26: 312–320.
26. Ulaner G.A., Hu J.F., Vu T.H., Oruganti H., Giudice L.C., Hoffman A.R. 2000. Regulation of telomerase by alternate splicing of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) in normal and neoplastic ovary, endometrium and myometrium. *Int. J. Cancer.* 85: 330–335.
27. Kim N.W., Piatyszek M.A., Prowse K.R. et al. 1994. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science.* 266: 2011–2015.
28. Engelhardt M., Albanell J., Drullinsky P. et al. 1997. Relative contribution of normal and neoplastic cells determines telomerase activity and telomere length in primary cancers of the prostate, colon, and sarcoma. *Clin. Cancer Res.* 3: 1849–1857.
29. Kamradt J., Drosse C., Kalkbrenner S. et al. 2003. Telomerase activity and telomerase subunit gene expression – levels are not related in prostate cancer: a real-time quantification and in situ hybridization study. *Lab. Invest.* 83: 623–633.
30. Bettendorf O., Heine B., Kneif S. et al. 2003. Expression-patterns of the RNA component (hTR) and the catalytic subunit (hTERT) of human telomerase in nonneoplastic prostate tissue, prostatic intraepithelial neoplasia, and prostate cancer. *Prostate.* 55: 99–104.
31. Paradis V., Dargere D., Laurendeau I. et al. 1999. Expression of the RNA component of human telomerase (hTR) in prostate cancer, prostatic intraepithelial neoplasia, and normal prostate tissue. *J. Pathol.* 189: 213–218.
32. Liu B.C., LaRose I., Weinstein L.J., Ahn M., Weinstein M.H., Richie J.P. 2001. Expression of telomerase subunits in normal and neoplastic prostate epithelial cells isolated by laser capture microdissection. *Cancer.* 92: 1943–1948.
33. Iczkowski K.A., Pantazis C.G., McGregor D.H., Wu Y., Tawfik O.W. 2002. Telomerase reverse transcriptase subunit immunoreactivity: a marker for high-grade prostate carcinoma. *Cancer.* 95: 2487–2493.
34. de Kok J.B., Verhaegh G.W., Roelofs R.W. et al. 2002. DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect-prostate tumors. *Cancer Res.* 62: 2695–2698.
35. Snijders P.J., van Duin M., Walboomers J.M. et al. 1998. Telomerase activity exclusively in cervical carcinomas and a subset of cervical intraepithelial neoplasia grade III lesions: strong association with elevated messenger RNA levels of its catalytic subunit and high risk human papillomavirus DNA. *Cancer Res.* 58: 3812–3818.
36. Le S., Sternglanz R., Greider C.W. 2000. Identification of two RNA-binding proteins associated with human telomerase RNA. *Mol. Biol. Cell.* 11: 999–1010.
37. Zhang W., Kapusta L.R., Slingerland J.M., Klotz L.H. 1998. Telomerase activity in prostate cancer, prostatic intraepithelial neoplasia, and benign prostatic epithelium. *Cancer Res.* 58: 619–621.
38. Lin S.Y., Elledge S.J. 2003. Multiple tumor suppressor pathways negatively regulate telomerase. *Cell.* 113: 881–889.
39. Latil A., Vidaud D., Valeri A. et al. 2000. hTERT expression correlates with MYC over expression in human prostate cancer. *Int. J. Cancer.* 89: 172–176.
40. Yang Y., Chen Y., Zhang C, Huang H., Weissman S.M. 2002. Nucleolar localization of hTERT protein is associated with telomerase function. *Exp. Cell. Res.* 277: 201–209.
41. Akalin A., Elmore L.W., Forsythe H.L. et al. 2001. A novel mechanism for chaperone mediated telomerase regulation during prostate cancer progression. *Cancer Res.* 61: 4791–4796.

42. Hawkins G.A., Chang B.L., Zheng S.L. et al. 2004. Mutational analysis of PINX1 in hereditary prostate cancer. *Prostate*. 60: 298–302.
43. Ford L.P., Shay J.W., Wright W.E. 2001. The La antigen associates with the human telomerase ribonucleoprotein and influences telomere length in vivo. *RNA*. 7: 1068–1075.
44. Zhang J.X., Zhang Z.K., Sheng H.P., Tsao S.W., Loh T.T. 2000. Telomerase activity is not related to apoptosis in leukemic cell lines. *Life Sci*. 66: 1713–1723.
45. Sigala S., Faraoni I., Botticini D. et al. 1999. Suppression of telomerase, reexpression of KAI1, and abrogation of tumorigenicity by nerve growth factor in prostate cancer cell lines. *Clin. Cancer Res*. 5: 1211–1218.
46. Meeker A.K., Sommerfeld H.J., Coffey D.S. 1996. Telomerase is activated in the prostate and seminal-vesicles of the castrated rat. *Endocrinology*. 137: 5743–5746.
47. Ravindranath N., Ioffe S.L., Marshall G.R., Ramaswamy S., Plant T.M., Dym M. 2001. Androgen depletion activates telomerase in the prostate of the nonhuman primate, *Macaca mulatta*. *Prostate*. 49: 79–89.
48. Guo C., Armbruster B. N., Price D.T., Counter C.M. 2003. In vivo regulation of hTERT expression and telomerase activity by androgen. *J. Urol*. 170: 615–618.
49. Soda H., Raymond E., Sharma S. et al. 2000. Effects of androgens on telomerase activity in normal and malignant prostate cells in vitro. *Prostate*. 43: 161–168.
50. Bouchal J., Baumforth K.R., Svachova Z. et al. 2005. Microarray analysis of bicalutamide action on telomerase activity, p53 pathway and viability of prostate carcinoma cell lines. *J. Pharmacol*. 57: 83–92.
51. Silva I.S., Morsch D.M., Urnauer L., Spritzer P.M. 2001. Androgen-induced cell growth and c-myc expression in human non-transformed epithelial prostatic cells in primary culture. *Endocr. Res*. 27: 153–169.
52. Gil J., Bernard D., Martinez D., Beach D. 2004. Polycomb CBX7 has a unifying role in cellular lifespan. *Nat.-Cell Biol*. 6: 67–72.
53. Nanni S., Narducci M., Delia Pietra L. et al. 2002. Signaling through estrogen receptors modulates telomerase – activity in human prostate cancer. *J. Clin. Invest*. 110: 219–227.
54. Donaldson L., Fordyce C., Gilliland F. et al. 1999. Association between outcome and telomere DNA content in prostate cancer. *J. Urol*. 162: 1788–1792.
55. Fordyce C.A., Heaphy C.M., Joste N.E., Smith A.Y., Hunt W.C., Griffith J.K. 2005. Association between cancer-free survival and telomere DNA content in prostate tumors. *J. Urol*. 173: 610–614.
56. Bertaccini A., Chieco P., Giovannini C., Capra I., Martorana G. 1999. Biopsying prostate gland: telomerase evaluation. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2: 3–6.
57. Wang Z., Ramin S.A., Tsai C. et al. 2001. Telomerase activity in prostate sextant needle cores from radical prostatectomy specimens. *Urol. Oncol*. 6: 57–62.
58. Wang Z., Ramin S.A., Tsai C. et al. 2000. Detection of telomerase activity in prostatic fluid specimens. *Urol. Oncol*. 6: 4–9.
59. Vicentini C., Gravina G.L., Angelucci A. et al. 2004. Detection of telomerase activity in prostate massage samples – improves differentiating prostate cancer from benign prostatic hyperplasia. *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. 130: 217–221.
60. Meid F.H., Gygi C.M., Leisinger H.J., Bosman F.T., Benhattar J. 2001. The use of telomerase activity for detection of prostatic cancer cells after prostatic massage. *J. Urol*. 165: 1802–1805.
61. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G. et al. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 9. № 290(5806): 457–465.
62. Malm J., Hellman J., Hogg P., Lilja H. 2000. Enzymatic action of prostate-specific antigen (PSA or hK3): substrate specificity and regulation by Zn(2+), a tight-binding inhibitor. *Prostate*. 45(2): 132–139.
63. Feng P., Li T., Guan Z., Franklin R.B., Costello L.C. 2008. The involvement of Bax in Zinc-induced mitochondrial apoptosis in malignant prostate cells. *Mol. Cancer*. 7: 7–25.

64. Lee H-C., Wei Y-H. 2007. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and apoptosis in aging. *Exp. Biol. and Med.* 232: 592–606.
65. Kim J.W., Dang C.V. 2006. Cancer's molecular sweet tooth and the Warburg effect. *Cancer Res.* 66(18): 8927–8930.
66. Warburg O. 1956. On the origin of cancer cells. *Science.* 123: 309–314.
67. Dakubo G.D., Parr R.L., Costello L.C., Franklin R.B., Thayer R.E. 2006. Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate cancer. *J. of Clin. Pathology.* 59: 10–16.
68. Vodolazhskiy D.I. 2002. *Biokhimicheskie aspekty DNK-destruktivnogo deystviya povyshennogo davleniya kisloroda. Dissertatsiya ... kandidata biologicheskikh nauk. [Biochemical aspects of DNA-destructive action of high pressure oxygen. PhD Thesis].* Rostov-on-Don: 134 p. (In Russian).
69. Chowdhury S.K., Gemin A., Singh G. 2005. High activity of mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase and glycerophosphate-dependent ROS production in prostate cancer cell lines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 333(4): 1139–1145.
70. Dipaola R.S., Dvorzhinski D., Thalasila A., Thomas P.E., White E. 2004. Proteomic assessment in co-culture model implicates the Warburg effect as an initial event in prostate cancer growth. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.* 45.
71. Wang L., Hebbring S.J., Zarfes K.E. et al. 2006. Role of mitochondrial genetic variations in prostate cancer. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.* 47.
72. Maki J., Robinson K., Reguly B. et al. 2008. Mitochondrial genome deletion aids in the identification of false- and true-negative prostate needle core biopsy specimens. *Am. J. Clin. Pathol.* 129(1): 57–66.
73. Chen J.Z., Gokden N., Greene G.F. et al. Extensive somatic mitochondrial mutations in primary prostate cancer using laser capture microdissection. *Cancer Res.* 62: 6470–6474.
74. Mizumachi T., Muskhelishvili L., Naito A. et al. 2008. Increased distributional variance of mitochondrial DNA content associated with prostate cancer cells as compared with normal prostate cells. *Prostate.* 68(4): 408–417.
75. Modica-Napolitano J.S., Kulawiec M., Singh K.K. 2007. Mitochondria and Human Cancer. *Curr. Mol. Med.* 7(1): 121–131.
76. Higuchi M., Kudo T., Evans T.T. et al. 2006. Mitochondrial DNA determines androgen sensitivity in prostate cancer cell lines. *Oncogene.* 25(10): 1437–1445.
77. Christofk H.R., Vander Heiden M.G., Harris M.H. et al. 2008. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth. *Nature.* 452: 230–233.
78. Pedersen P.L. 2007. Warburg, me and Hexokinase 2: Multiple discoveries of key molecular events underlying one of cancers' most common phenotypes, the “Warburg Effect”, i.e., elevated glycolysis in the presence of oxygen. *J. Bioenerg. Biomembr.* 39: 211–222.
79. Bonnet S., Archer S.L., Allalunis-Turner J. et al. 2007. A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth. *Cancer Cell.* 11(1): 37–51.
80. Pan J.G., Mak T.W. 2007. Metabolic targeting as an anticancer strategy: dawn of a new era? *Sci. STKE.* 381: 14.