

Протокол метаболической модуляции для защиты от ишемии и селективной противоопухолевой терапии: гипотеза

АВТОР:

Наконечная Ника Анатольевна

АФФИЛИАЦИЯ:

Независимый исследователь

АВТОР ДЛЯ СВЯЗИ:

Наконечная Ника Анатольевна

Электронная почта: nikanakonecnaa797@gmail.com

Почтовый адрес: Москва, Россия

ВАЖНОЕ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

ДАННАЯ РАБОТА ЯВЛЯЕТСЯ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ ГИПОТЕЗОЙ. ВСЕ ОПИСАННЫЕ РЕЖИМЫ ДОЗИРОВАНИЯ НЕ ПРИМЕНЯЛИСЬ НА ЛЮДЯХ И НЕ ЯВЛЯЮТСЯ КЛИНИЧЕСКИМИ РЕКОМЕНДАЦИЯМИ. АВТОР НЕ РЕКОМЕНДУЕТ ПРИМЕНЕНИЕ ОПИСАННЫХ ПОДХОДОВ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ БЕЗ ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫХ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОДОБРЕНИЯ ЭТИЧЕСКОГО КОМИТЕТА.

АННОТАЦИЯ

Остановка кровообращения приводит к необратимому повреждению мозга в течение 3–5 минут из-за отсутствия кислорода. Полный анаэробизм у человека недостижим с помощью существующих фармакологических средств. Однако направленная метаболическая модуляция может создать клинически значимое окно сниженной потребности в кислороде с одновременной индукцией опухоль-селективной метаболической катастрофы. Я предлагаю пятифазный протокол с использованием метформина для контролируемого частичного ингибирования комплекса I, бутионин-сульфоксимида для селективного истощения глутатиона в опухоли с помощью липосомальной доставки и 3-бромпирувата для ингибирования гексокиназы II, с терапевтическим окном, требующим валидации на животных моделях, и непрерывным многопараметрическим мониторингом безопасности. Протокол разработан как гипотетическая модель для пациентов с терминальными опухолями, экспрессирующими высокие уровни гексокиназы II. Основная цель — опухоль-селективная метаболическая катастрофа с сопутствующей нейропротекцией. Безопасность гипотетически обеспечивается липосомальной доставкой BSO, минимизирующей системное истощение GSH, строгим контролем pH, предотвращающим потенциацию 3-бромпирувата, непрерывным мониторингом

лактата, комплексной защитой печени и почек и заранее определёнными критериями прекращения. Эффективность максимальна за счёт синергического тройного воздействия на метаболизм опухоли. Данная гипотеза требует систематической доклинической валидации перед любым клиническим применением.

Ключевые слова: метаболическая модуляция, ингибирование комплекса I, истощение глутатиона, гексокиназа II, нейропротекция, липосомальная доставка

ВВЕДЕНИЕ

В современной медицине остановка кровообращения приводит к необратимой смерти мозга в течение 3–5 минут из-за отсутствия кислорода. Полный анаэробизм у человека недостижим с помощью существующих фармакологических средств. Однако направленная метаболическая модуляция может снизить потребность в кислороде и одновременно создать состояние синтетической летальности в опухолях, зависимых от гексокиназы II. Данная гипотеза предлагает протокол, объединяющий три синергических механизма: контролируемое частичное ингибирование митохондриального комплекса I, опухоль-направленное истощение внутриклеточного глутатиона с помощью липосомальной доставки и ингибирование гексокиназы II. Протокол предназначен как гипотетическая модель для пациентов с терминальными опухолями, экспрессирующими высокие уровни гексокиназы II, когда стандартная терапия неэффективна.

Глубокая гипотермическая остановка кровообращения при 18–20°C обеспечивает 30–60 минут церебральной защиты, но несёт риски коагулопатии, отёка и неврологических повреждений. Изолированная перфузия опухоли достигает высоких локальных концентраций препаратов, но не воздействует на системные метастазы. Предлагаемый протокол предлагает принципиально иной подход: системную метаболическую модуляцию, которая избирательно нарушает метаболизм опухолевых клеток, активно защищая здоровые ткани, с минимальным воздействием на здоровые органы за счёт опухоль-специфической доставки.

ОБОСНОВАНИЕ ГИПОТЕЗЫ

Стратегия основана на трёх валидированных биохимических механизмах, развёрнутых в синергическом каскаде с опухоль-направленной доставкой. Первый механизм — контролируемое частичное ингибирование митохондриального комплекса I метформином, которое предсказуемо переключает метаболизм на гликолиз и снижает системную потребность в кислороде. Второй механизм — опухоль-направленное истощение внутриклеточного глутатиона с помощью липосомального бутионин-сульфоксимида, которое избирательно сенситизирует опухолевые клетки к окислительному стрессу из-за их конститутивно повышенной продукции активных форм кислорода, при этом щадя здоровые ткани. Третий механизм — ингибирование гексокиназы II 3-бромпируватом, который гиперэкспрессируется во многих злокачественных опухолях и представляет собой опухоль-специфическую уязвимость. Критическими инновациями являются липосомальная опухоль-направленная доставка BSO, устраняющая опасения системного истощения GSH, и активное управление pH на протяжении всей процедуры, предотвращающее неселективную токсичность 3-бромпирувата.

Каскад механизма действия. Метформин частично ингибирует комплекс I, снижая митохондриальное дыхание и предсказуемо переключая метаболизм на гликолиз, тем самым снижая потребность в кислороде дозозависимым образом. Липосомальный бутионин-сульфоксмин накапливается преимущественно в опухолевой ткани за счёт эффекта повышенной проницаемости и удерживания, истощая внутриопухолевый глутатион, при этом в значительной степени сохраняя системные пулы GSH. 3-бромпируват ингибирует гексокиназу II, снижая гликолиз и истощая АТФ specifically в опухолевых клетках, зависимых от этого изофермента. Активное управление pH на уровне 7.35–7.45 на протяжении всей процедуры предотвращает потенциацию алкилирующей активности 3-бромпирувата, которая в противном случае вызвала бы неселективную токсичность. Комбинация создаёт состояние метаболического коллапса: опухолевые клетки не могут поддерживать гликолиз из-за ингибирования гексокиназы II, не могут защититься от окислительного стресса из-за внутриопухолевого истощения глутатиона и сталкиваются с метаболическим коллапсом, в то время как здоровые клетки выживают за счёт гликолиза, поддерживаемого метформинном, сохранённых системных пулов GSH и изначально более низкого уровня активных форм кислорода.

Терапевтическое окно возникает из схождения четырёх независимых опухолевых специфических уязвимостей: метаболической зависимости от гексокиназы II, повышенного базового окислительного стресса, зависимости от гликолиза для производства АТФ и преимущественного накопления липосомального BSO в опухолевой ткани за счёт «протекающих» сосудов. Здоровые клетки одновременно лишены всех четырёх уязвимостей, что создаёт многослойный механизм селективности, экспериментально проверяемый.

БИОХИМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ И ДОКАЗАТЕЛЬНАЯ БАЗА

Модуляция комплекса I метформинном. Метформин ингибирует митохондриальный комплекс I в концентрациях 1–10 мМ. В терапевтических дозах 500–2000 мг/сут перорально метформин снижает активность комплекса I на 10–20% и переключает метаболизм на гликолиз. В концентрациях 20–30 мг/кг/сут плазменные концентрации достигают 5–15 мкМ, что в 100–1000 раз ниже IC₅₀ в 1–5 мМ. Это частичное ингибирование является именно желаемым эффектом: достаточным для снижения потребности в кислороде и создания гликолитического сдвига, поддерживающего выживание здоровых клеток, но недостаточным для митохондриальной токсичности. Исследование OPTIMUM (NCT04945148) использует метформин 2000–3000 мг/сут со стандартной химиолучевой терапией, подтверждая, что высокие дозы метформина хорошо переносятся.

Экспериментальные агенты, не используемые в протоколе. IACS-010759 и BAY 87-2243 являются мощными ингибиторами комплекса I, которые были прекращены из-за нейротоксичности и гиперлактатемии. Эти агенты достигали почти полного ингибирования комплекса I, что не является ни необходимым, ни желательным. Предлагаемый подход использует частичное ингибирование метформинном как контролируемый метаболический сдвиг, а не полное отключение, принципиально избегая механизма токсичности, который прекратил те испытания.

Опухоль-направленное истощение глутатиона с липосомальным бутионин-

сульфоксимином. Бутионин-сульфоксимин необратимо ингибирует гамма-глутамилцистеинсинтетазу. Клинические испытания свободного BSO использовали дозы 1.5–17 г/м², достигая 50–80% истощения глутатиона в опухолях в течение 12–24 часов. При дозах ≥ 13 г/м² уровень GSH в опухоли составлял $\leq 20\%$ от исходных значений. Однако системное истощение GSH свободным BSO вызывает обоснованные опасения относительно уязвимости печени и почек. Данный протокол решает эту проблему с помощью липосомальной инкапсуляции BSO. Липосомы диаметром 100–200 нм накапливаются преимущественно в опухолевой ткани за счёт эффекта повышенной проницаемости и удерживания, достигая внутриопухолевых концентраций в 5–10 раз выше, чем в здоровых тканях. Эта опухоль-направленная доставка создаёт подлинное терапевтическое окно: эффективное истощение GSH в микроокружении опухоли при сохранении системных пулов GSH на уровне 60–80% от исходного. Короткий период полувыведения свободного BSO (1.4–1.9 часа) и плохое проникновение через гематоэнцефалический барьер обеспечивают дополнительные уровни безопасности: любой свободный BSO, высвободившийся из липосом, быстро выводится, а мозг защищён от истощения GSH.

Ингибирование гексокиназы II 3-бромпируватом. 3-бромпируват ингибирует гексокиназу II, которая гиперэкспрессируется во многих опухолях. Доклинические исследования демонстрируют селективную цитотоксичность в концентрациях 10–50 мкМ. Критическим физико-химическим свойством 3-бромпирувата является его pH-зависимая реактивность: алкилирующая активность увеличивается в кислых условиях. Клиническая трансляция ранее была ограничена гепатотоксичностью и нефротоксичностью при дозах выше 0.3 мг/кг, вероятно, усугубляемых неконтролируемыми pH-условиями. Данный протокол решает эту проблему с помощью трёх независимых механизмов безопасности: предлагаемая доза 0.05–0.1 мг/кг в клеточных экспериментах составляет от одной трети до одной шестой токсической дозы; активное управление pH на уровне 7.35–7.45 предотвращает потенциацию, вызванную закислением; сохранение системного GSH через липосомальную доставку BSO поддерживает детоксикационную способность печени и почек.

Нейропротекция. Протокол использует пятикомпонентную нейропротективную стратегию. Кетамин в дозе 0.5–1 мг/кг обеспечивает блокаду NMDA-рецепторов, предотвращая эксайтотоксичность. Сульфат магния в дозе 30 мг/кг обеспечивает дополнительную NMDA-антагонистическую и церебральную вазодилатацию. 3-гидроксипируват натрия и пируват натрия обеспечивают альтернативные метаболические субстраты, которые обходят комплекс I, непосредственно питая цикл Кребса и поддерживая продукцию АТФ в нейронах независимо от гликолиза. Лёгкая гипотермия до 32–33°C снижает церебральный метаболический rate на 30–40%. Плохое проникновение BSO через гематоэнцефалический барьер обеспечивает сохранность мозгового GSH. Вместе эти пять компонентов гипотетически расширяют терапевтическое окно до приблизительно 15 минут.

Расширение терапевтического окна. Исходный физиологический лимит в 3–5 минут применим к незащищённой мозговой ткани при нормотермии. Гипотермия до 32–33°C сама по себе расширяет это окно до приблизительно 8–10 минут. Добавление кетоновых тел и пирувата как альтернативных субстратов добавляет приблизительно

3–5 минут. Блокада NMDA кетаминотом и магнием добавляет приблизительно 2–3 минуты. Суммарный эффект даёт терапевтическое окно приблизительно 13–18 минут, консервативно оцениваемое в 15 минут, что требует валидации на животных моделях.

ЧЕЛОВЕЧЕСКАЯ ОСУЩЕСТВИМОСТЬ И ВНЕДРЕНИЕ

Доступность препаратов. Каждый компонент протокола доступен через стандартные цепочки клинических поставок или установленные механизмы клинических испытаний. Липосомальный BSO требует GMP-производства через специализированную аптеку. Метформин одобрен FDA, широко доступен и недорог. 3-бромпируват доступен через испытания фазы 1 (KAT/3BP для гепатоцеллюлярной карциномы). Кетамин, сульфат магния, гепарин, протамина сульфат, натрия бикарбонат, атропин и аскорбиновая кислота одобрены FDA и широко доступны. Никотинамидрибозид доступен как добавка; исследовательская формулировка доступна через аптеки клинических испытаний.

Готовность учреждения. Протокол требует отделения интенсивной терапии с непрерывным гемодинамическим мониторингом, инвазивным газовым анализом крови, непрерывным мониторингом лактата в реальном времени и возможностью активного управления pH. Наличие ЭКМО рекомендуется в качестве резервного варианта в центрах с такой возможностью. Эти возможности стандартны в крупных академических медицинских центрах с активными программами онкологии фазы 1.

Основные шаги для внедрения на человеке. Внедрение следует стандартному пути разработки препаратов: доклиническая валидация в моделях совместного культивирования и перфузии органов; микро-дозирование фазы 0 для подтверждения воздействия на мишень; испытания фазы 1 с эскалацией дозы на терминальных пациентах для установления безопасности; испытания фазы 2 по эффективности на популяциях, отобранных по биомаркерам; сравнительные исследования фазы 3 для подтверждения преимущества по сравнению с наилучшей поддерживающей терапией. Каждый шаг имеет определённые критерии успеха и точки принятия решений.

Этическая и логистическая осуществимость. Целевая популяция состоит из пациентов с терминальным раком, у которых нет вариантов лечения и ожидаемая продолжительность жизни менее 6 месяцев. Эта популяция этически приемлема для первого тестирования на людях новых комбинаций. Процедуры информированного согласия для этой популяции хорошо установлены. Пути подачи заявок IND существуют для каждого экспериментального компонента. Междисциплинарная команда, необходимая для проведения испытаний фазы 1, является стандартной в академических медицинских центрах.

Требования к ресурсам. Ориентировочная стоимость 50 000–100 000 долларов на пациента для первых 5–10 пациентов находится в типичном диапазоне для первых испытаний фазы 1 в онкологии.

Отбор пациентов. Соответствующие критериям пациенты имеют терминальные солидные опухоли (глиобластома, тройной негативный рак молочной железы, гепатоцеллюлярная карцинома) с подтверждённой высокой экспрессией гексокиназы II по данным ИНС или ПЭТ, ожидаемой продолжительностью жизни менее 6 месяцев и

неэффективностью всех стандартных терапий. Требуется адекватная функция органов: СКФ ≥ 45 мл/мин, функция печени в пределах 1.5 верхней границы нормы, фракция выброса левого желудочка $\geq 40\%$, отсутствие нескорректированной коагулопатии.

ПРОТОКОЛ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ МОДУЛЯЦИИ

Протокол состоит из пяти фаз и разработан для условий интенсивной терапии с непрерывным многопараметрическим мониторингом. Это экспериментальный протокол для пациентов с терминальными опухолями. Все агенты рассматриваются в концентрациях, которые в доклинических исследованиях не превышали установленные пороги токсичности. Однако безопасность комбинации на людях не исследована.

Фаза 1: Опухоль-направленное истощение глутатиона (за 24–48 часов до процедуры). Липосомальный бутионин-сульфоксимин в дозе, эквивалентной $1.5\text{--}5\text{ г/м}^2$ свободного BSO, внутривенно капельно в течение 2 часов. Липосомальная инкапсуляция обеспечивает преимущественное накопление в опухоли за счёт эффекта повышенной проницаемости и удерживания. Аскорбиновая кислота 2 г внутривенно вводится по завершении инфузии BSO для поддержки антиоксидантной способности здоровых тканей. Интервал в 24–48 часов необходим для достижения максимального истощения GSH в опухоли на основании клинических данных по свободному BSO.

Фаза 2: Нейропротекция и подготовка (за 30 минут до процедуры). Кетамин $0.5\text{--}1\text{ мг/кг}$ внутривенно и мидазолам $0.05\text{--}0.1\text{ мг/кг}$ внутривенно. Сульфат магния 30 мг/кг внутривенно. Инфузия 3-гидроксibuтирата натрия и пирувата натрия со скоростью 100 мл/час . Низкомолекулярный гепарин 50 анти-Xa ME/кг . Базовый pH документируется; целевой $7.35\text{--}7.45$. Устанавливается непрерывный ЭКГ-, артериальный и пульсоксиметрический мониторинг.

Фаза 3: Метаболическая модуляция (предположительно 15 минут). Метформин в концентрациях, соответствующих клеточным экспериментам ($1\text{--}10\text{ мМ}$), или перорально $500\text{--}1000\text{ мг}$ за 12 часов до процедуры (для гипотетического применения у человека). 3-бромпируват в концентрациях $10\text{--}50\text{ мкМ}$ в клеточных экспериментах. Активное управление pH с инфузией бикарбоната натрия для поддержания pH $7.35\text{--}7.45$. Индукция гипотермии до $32\text{--}33^\circ\text{C}$ с помощью наружного охлаждения и холодных внутривенных растворов.

Фаза 4: Восстановление и реперфузия (15–60 минут после процедуры). Постепенное управляемое согревание со скоростью 1°C в час до 35°C , затем 0.5°C в час до нормотермии. Высокопоточная оксигенация 100% кислородом. Аскорбиновая кислота 2 г внутривенно и никотинамидрибозид 500 мг внутривенно. Протамина сульфат $1\text{ мг на }100\text{ ME}$ гепарина для реверсии антикоагуляции. Продолжение управления pH до достижения стабильного спонтанного pH ≥ 7.35 .

Фаза 5: Постпроцедурный мониторинг (24–72 часа). Непрерывный мониторинг в отделении интенсивной терапии. Серийные измерения лактата каждые 30 минут в течение 6 часов, затем каждые 4 часа. Печёночные пробы каждые 6 часов в течение 48 часов. Мониторинг функции почек каждые 12 часов. NSE и S100B через 24, 48 и 72

часа.

Критерии экстренного прекращения. Процедура немедленно прекращается, если: уровень лактата превышает 8 ммоль/л и продолжает расти, несмотря на инфузию бикарбоната; pH падает ниже 7.25 и не поддаётся коррекции; сатурация венозной крови падает ниже 50%; возникает устойчивая желудочковая аритмия; развивается тяжёлая гипотония, не реагирующая на жидкости и вазопрессоры.

Архитектура безопасности. Протокол включает восемь независимых уровней безопасности: липосомальная доставка BSO; доза 3-бромпирувата от одной трети до одной шестой токсического порога; активное управление pH; пятикомпонентная нейропротекция; непрерывный мониторинг лактата в реальном времени; комплексный мониторинг печени и почек; заранее определённые критерии прекращения; протоколы управления осложнениями после прекращения.

РИСКИ ПРОТОКОЛА И СООТВЕТСТВУЮЩИЕ СТРАТЕГИИ СНИЖЕНИЯ

Лактат-ацидоз. Риск от ингибирования комплекса I метформином. Снижение: непрерывный мониторинг лактата в реальном времени; заранее определённое прекращение при росте лактата выше 8 ммоль/л; активное управление pH бикарбонатом; немедленно доступный гемодиализ. Системный GSH сохраняется через липосомальный BSO, поддерживая способность печени к клиренсу лактата.

Аритмии. Риск от гипотермии до 32–33°C. Снижение: управляемое согревание со скоростью 1°C/час; непрерывный ЭКГ-мониторинг; атропин 0.5–1 мг внутривенно как препарат первой линии при брадикардии; немедленно доступная чрескожная стимуляция.

Гепатотоксичность. Риск от 3-бромпирувата. Снижение: доза обеспечивает 3–6-кратный запас безопасности ниже токсического порога; липосомальный BSO сохраняет системный GSH; активное управление pH предотвращает потенциацию, вызванную закислением; строгое исключение пациентов с нарушениями функции печени; мониторинг печёночных проб каждые 6 часов в течение 48 часов; доступен протокол с N-ацетилцистеином.

Нефротоксичность. Риск от 3-бромпирувата. Снижение: доза в 3–6 раз ниже токсического порога; сохранённый системный GSH защищает клетки почечных канальцев; строгое исключение пациентов с нарушениями функции почек (требуется СКФ ≥ 45 мл/мин); мониторинг функции почек каждые 12 часов; доступна заместительная почечная терапия.

Нейротоксичность. Риск от ингибирования комплекса I. Снижение: метформин достигает только 10–20% ингибирования, что значительно ниже нейротоксического порога; BSO плохо проникает через ГЭБ, мозговой GSH сохраняется; пятикомпонентная нейропротекция активно защищает нейроны; постпроцедурный мониторинг NSE и S100B.

Неполное истощение GSH в опухолях. Риск от вариабельного накопления липосом. Снижение: отбор пациентов включает типы опухолей с документированной

«протекающей» сосудистой системой (глиобластома, ГЦК); предпроцедурная визуализация оценивает сосудистую проницаемость опухоли; внутриопухолевой GSH может быть измерен с помощью биопсии в исследованиях фазы 0; опухоли с плохим EPR-эффектом исключаются.

Резистентность опухоли. Риск от активации аутофагии или синтеза GSH. Снижение: хлорохин и пробенацид доступны как резервные агенты; тройной механизм воздействия делает недостаточным однопутевую резистентность; зависимость от гексокиназы II оценивается предпроцедурно.

Коагулопатия. Риск от гепарина плюс гипотермия. Снижение: низкомолекулярный гепарин обеспечивает контролируемую антикоагуляцию; протамина сульфат обеспечивает полную реверсию; строгое исключение пациентов с нескорректированной коагулопатией; параметры коагуляции мониторятся.

ОБСУЖДЕНИЕ

Предлагаемый протокол представляет собой отход от традиционной противораковой терапии. Вместо попытки напрямую убить опухолевые клетки цитотоксическими агентами он создаёт метаболическую среду, летальную для клеток с определёнными уязвимостями, защищая здоровые ткани. Этот подход стал возможен благодаря трём ключевым инновациям.

Во-первых, липосомальная доставка BSO обеспечивает опухоль-селективное истощение глутатиона при сохранении системной антиоксидантной способности. Это решает проблему токсичности, которая ограничивала более ранние клинические испытания BSO. Во-вторых, активное управление pH во время введения 3-бромпирувата предотвращает неселективное алкилирование, непосредственно решая механизм гепатотоксичности и нефротоксичности, наблюдаемый в предыдущих исследованиях. В-третьих, пятикомпонентная нейропротективная стратегия гипотетически расширяет терапевтическое окно до 15 минут, делая клинически значимые вмешательства осуществимыми.

Архитектура безопасности разработана как многоуровневая и избыточная. Каждый основной риск имеет по крайней мере две независимые стратегии снижения, а критерии прекращения обеспечивают чёткие точки принятия решений. Этот многоуровневый подход необходим для протокола, который индуцирует состояние, близкое к клинической смерти.

Селективность протокола основана на четырёх опухоль-специфических уязвимостях: зависимость от гексокиназы II, повышенный базовый уровень активных форм кислорода, зависимость от гликолиза и преимущественное накопление липосом через «протекающие» сосуды. Нормальные клетки одновременно лишены всех четырёх уязвимостей, что обеспечивает многослойный механизм селективности, который может быть экспериментально проверен.

Потенциальные применения за пределами онкологии. Хотя данная работа фокусируется на онкологии, протокол основан на универсальных механизмах клеточного выживания в гипоксических условиях. Те же метаболические принципы

могут быть адаптированы для других состояний, связанных с острой ишемией и метаболическим стрессом. Например, комбинация гипотермии, кетоновых тел и блокады NMDA потенциально может быть применена для нейропротекции при ишемическом инсульте, для сохранения миокарда во время инфаркта, для сохранения органов при трансплантации и для экстренной метаболической поддержки при тяжёлой травме с критической кровопотерей. Эти гипотетические применения остаются за рамками текущей работы, но указывают на более широкое значение принципов, введённых здесь. Каждое потенциальное применение потребовало бы независимой валидации и не является частью основного протокола.

Ограничения протокола включают отбор пациентов, ограниченный опухолями с высокой экспрессией гексокиназы II и адекватной сосудистой проницаемостью; метформин обеспечивает только 10–20% ингибирования; 15-минутное окно; и требование GMP-производства липосомального BSO. Кроме того, описанные дозировки для человека являются гипотетическими и требуют валидации в доклинических исследованиях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН

Клеточные линии. U-87 MG (глиобластома), MCF-7 (рак молочной железы), HepG2 (гепатоцеллюлярная карцинома). Здоровые контроли: фибробласты BJ, первичные астроциты человека, первичные гепатоциты человека.

Экспериментальные группы. Полный факторный дизайн для анализа синергии: необработанный контроль; метформин отдельно; свободный BSO отдельно; липосомальный BSO отдельно; 3-бромпириват отдельно; метформин + свободный BSO; метформин + липосомальный BSO; метформин + 3-бромпириват; свободный BSO + 3-бромпириват; липосомальный BSO + 3-бромпириват; метформин + свободный BSO + 3-бромпириват; метформин + липосомальный BSO + 3-бромпириват.

Концентрации. Метформин 1–10 мМ. Свободный BSO 0.5–2 мМ. Липосомальный BSO с эквивалентным содержанием BSO 0.5–2 мМ. 3-бромпириват 10–50 мкМ.

Условия культивирования. Нормоксия (21% O₂, 5% CO₂). Гипоксия при 1% O₂. Физиологическая нормоксия при 5% O₂ для здоровых клеток. pH-контролируемые условия при 7.4 и 6.8. Температура при 37°C и 32–33°C.

Конечные точки. Жизнеспособность клеток (MTT-тест, проточная цитометрия с аннексином V/PI). Уровни активных форм кислорода (DCFH-DA). Уровни GSH в опухолевых и здоровых клетках. Уровни АТФ. pH культуральной среды. Индекс селективности, рассчитанный как IC50(здоровые)/IC50(опухолевые). Оценка синергии по индексу комбинации Chou-Talalay.

9

Статистический анализ. Эксперименты выполняются в трёх повторностях, минимум три независимых повторения. Данные выражены как среднее ± SEM. Однофакторный дисперсионный анализ с пост-тестом Tukey. Двухфакторный дисперсионный анализ для эффектов pH и температуры. $p < 0.05$ с поправкой Бонферрони считается значимым.

БУДУЩИЕ НАПРАВЛЕНИЯ

Клиническое производство липосомального BSO с оптимизированным размером частиц. Разработка активно таргетированных липосомального BSO с использованием опухоль-специфических лигандов. Клиническая валидация КАТ/ЗБР как потенциально более безопасного ингибитора гексокиназы II. Идентификация прогностических биомаркеров (порог экспрессии HK2, базовый уровень активных форм кислорода, сосудистая проницаемость опухоли) для отбора пациентов. Расширение терапевтического окна через оптимизированную нейропротекцию, включая исследование ксенона или сероводорода. Исследования микро-дозирования фазы 0 с измерением внутриопухолевого GSH. Исследование альтернативных стратегий истощения GSH, включая опухоль-специфические пролекарства.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Опухоли должны иметь высокую экспрессию гексокиназы II и адекватную сосудистую проницаемость для накопления липосом. Метформин обеспечивает 10–20% ингибирования комплекса I, достаточно для метаболического сдвига, но недостаточно для полного анаэробноза. 15-минутное терапевтическое окно ограничивает возможные вмешательства. Липосомальный BSO требует GMP-производства и ещё не тестировался клинически. Тройная комбинация не тестировалась ни в одной экспериментальной системе. Протокол подходит только для терминальных пациентов, у которых исчерпаны стандартные варианты.

ЭТИЧЕСКИЕ СООБРАЖЕНИЯ

Данный протокол предназначен исключительно для пациентов с терминальными опухолями и отсутствием других терапевтических вариантов. Процесс информированного согласия должен явно разъяснять экспериментальный характер всех компонентов, неизвестный профиль риска тройной комбинации, реальную вероятность пользы и доступность паллиативной помощи как альтернативы. Обязательны одобрение институционального этического комитета и независимый мониторинг безопасности данных. Соотношение риск-польза оценивается индивидуально для каждого пациента на фоне терминального диагноза с ожидаемой продолжительностью жизни менее 6 месяцев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полный анаэробноз у человека недостижим с помощью существующих фармакологических средств и не является необходимым. Данный протокол предлагает управляемую частичную метаболическую модуляцию с опухоль-направленной доставкой препаратов как стратегию одновременного снижения потребности в кислороде и создания состояния синтетической летальности в опухолях, зависимых от гексокиназы II. Протокол решает критические ограничения более ранних разработок с помощью трёх ключевых инноваций: липосомальная доставка BSO, обеспечивающая опухоль-селективное истощение GSH при сохранении системной антиоксидантной способности; активное управление pH, предотвращающее неселективную потенциацию 3-бромпирувата; и комплексная восьмиуровневая архитектура безопасности, обеспечивающая специфическое, проверяемое снижение для каждого идентифицированного риска. Терапевтическое окно гипотетически расширено до 15 минут с помощью пятикомпонентной нейропротекции. Подход требует систематической доклинической валидации, начиная с экспериментов по

совместному культивированию для количественной оценки селективного преимущества липосомальной доставки BSO и терапевтического индекса полной комбинации. Основной вклад этой работы заключается в интеграции опухоли-направленной доставки препаратов с временной метаболической модуляцией для достижения подлинного, экспериментально проверяемого терапевтического окна и в определении комплексной исследовательской программы по метаболической модуляции в онкологии и интенсивной терапии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит исследователей, чьи работы по метаболическому репрограммированию, биологии глутатиона, липосомальной доставке, нейропротекции и митохондриальной биологии послужили основой для данной гипотезы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. O'Dwyer PJ, et al. Phase I trial of buthionine sulfoximine in combination with melphalan. *J Clin Oncol.* 1996;14(1):249–256.
2. Bailey HH, et al. Phase I trial of buthionine sulfoximine and melphalan in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol.* 1994;12(1):194–205.
3. OPTIMUM trial: Metformin plus radiotherapy/temozolomide in glioblastoma. NCT04945148.
4. Yap TA, et al. Complex I inhibitor of oxidative phosphorylation in advanced solid tumors: phase I trials. *Nat Med.* 2023.
5. Azevedo-Silva J, et al. 3-bromopyruvate as an anticancer agent: a review. *J Bioenerg Biomembr.* 2016.
6. Wu D, Cederbaum AI. Opposite action of S-adenosyl methionine and its metabolites on CYP2E1 in hepatocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006;290(2):G271-G280.
7. Griffith OW. Mechanism of action, metabolism, and toxicity of buthionine sulfoximine. *J Biol Chem.* 1982;257(22):13704–13712.
8. Allen TM, Cullis PR. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2013;65(1):36–48.
9. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* 1986;46(12 Pt 1):6387–6392.
10. Chou TC. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. *Cancer Res.* 2010;70(2):440–446.