

ОБЗОРЫ

УДК 615.357.631:577.611

©Фильченков

РЕАКТИВАТОРЫ АПОПТОЗА КАК ПРЕПАРАТЫ ЦЕЛЕВОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

А.А. Фильченков

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, ул. Васильковская, 45, 03022, Киев,
Украина; факс: (+38-044) 258-16-56; эл. почта: aroclub@i.ua

В обзоре проанализированы современные представления о молекулярных механизмах регуляции апоптоза. Особое внимание уделено ключевым компонентам рецепторного и митохондриального путей активации апоптотической гибели клеток. Рассматриваются нарушения механизмов апоптоза, позволяющие опухолевым клеткам выживать после проведения лекарственной или лучевой терапии. Охарактеризованы препараты, находящиеся на различных стадиях клинического испытания, которые способны избирательно реактивировать апоптоз в опухолевых клетках. Представлен краткий анализ современных методов неинвазивной визуализации апоптотических клеток *in vivo*.

Ключевые слова: апоптоз, целевая терапия, онкологические больные, клинические испытания, ОФЭКТ, ПЭТ, внеклеточные маркеры апоптоза.

ВВЕДЕНИЕ. Клеточный гомеостаз поддерживается за счёт динамического равновесия между пролиферацией и отмиранием клеток. Обеспечение подобного баланса необходимо как для нормального развития, так и для выживания любого многоклеточного организма. Согласно данным A.G. Renehan и соавт. [1], взрослый человек ежедневно теряет около 10 млрд. клеток. Если скорость их гибели в ткани или органе превышает скорость деления клеток, то развивается гипоплазия ткани. И, напротив, гиперплазия, которая часто предшествует процессам малигнизации тканей, возникает в тех случаях, когда скорость клеточного деления аномально превышает скорость их гибели, а также при обычном темпе деления клеток,

но если они начинают погибать с определённой задержкой. Открытие в 1972 году феномена апоптоза [2] показало, что отмирание клеток может происходить не только случайным образом, но и по чёткой программе. В дальнейших исследованиях было убедительно доказано, что аномальная устойчивость к апоптозу является одним из главных признаков злокачественной трансформации клеток. Более того, была установлена связь между формированием у опухолевых клеток резистентности к индукции апоптоза и утратой ими чувствительности к действию медикаментозных средств.

Последние достижения в раскрытии молекулярных механизмов, играющих ключевую роль в патогенезе онкологических заболеваний, стимулировали поиски и создание лекарственных препаратов для целевой, известной также под названием таргетной (от англ. “target” – “мишень”), терапии. Особое место среди них занимают препараты, основными мишенями действия которых служат гены, регулирующие функционирование различных звеньев апоптоза, а также продукты этих генов. Реактивация апоптоза в опухолевых клетках с помощью целевой терапии открывает новые возможности в лечении многих онкологических заболеваний, поскольку цитотоксическое действие таких препаратов является высокоизбирательным (не повреждаются клетки нормальных тканей) и эффективным даже в случае опухолей, резистентных к химиотерапии. Кроме того, реактиваторы апоптоза могут применяться в сочетании с широко используемыми противоопухолевыми средствами, существенно усиливая их цитотоксическое действие.

Со времени выхода нашей последней работы о препаратах, направленно модулирующих апоптоз [3], появилось много важных публикаций по указанной проблеме, что побудило автора к написанию данного обзора. Прежде, чем мы перейдем к непосредственному анализу известных реактиваторов апоптоза, целесообразно будет осветить вопросы, касающиеся механизмов внутриклеточной регуляции апоптоза в норме и их нарушений в опухолевых клетках. Это поможет читателю лучше понять основные принципы апоптоз-стимулирующего действия противоопухолевых препаратов для целевой терапии.

1. ОСНОВНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ АПОПТОЗА И ИЗМЕНЕНИЯ ИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ.

Процесс апоптоза состоит из ряда последовательных событий, которые можно условно разделить на три фазы. Во время *сигнальной* фазы клетка воспринимает сигнал, инициирующий апоптоз. Затем активируются эффекторные внутриклеточные механизмы гибели (*эффекторная* фаза), что неизбежно приводит к *деструктивной* фазе, когда происходят расщепление ДНК и другие необратимые изменения биополимеров цитоплазмы и ядра клетки. После инициации апоптоза в ответ на повреждение ДНК, гипоксию, ультрафиолетовое облучение, дефицит факторов роста, активацию “рецепторов смерти”, тепловой шок или действие других факторов, происходит выпячивание плазматической мембраны и сжатие клетки, а также утрата её контактов с окружающими клетками. Потом начинается агрегация хроматина, фрагментация ядра и конденсация цитоплазмы, а позже фрагментация клетки с образованием апоптотических телец. В условиях *in vivo* такие тельца, а также погибающие клетки подвергаются быстрому фагоцитозу.

1.1. “Рецепторы смерти”.

Различают механизмы опосредуемой рецепторами или независимой от рецепторов инициации апоптоза (рисунок). К первым относится активация так называемых рецепторов смерти и инертное состояние “рецепторов

зависимости” (dependence receptors). “Рецепторы смерти” представлены трансмембранными белками I типа, для которых характерно наличие в цитоплазматической части молекулы участка размером около 80 аминокислотных остатков, называемого “доменом смерти” (death domain, DD). Функция таких рецепторов заключается в распознавании внеклеточного “лиганда смерти” и активации в клетке эффекторных механизмов апоптоза. К “рецепторам смерти” относят рецептор фактора некроза опухоли (TNFR1), Fas (DR2, APO-1 или CD95), DR3 (APO-3, LARD или TRAMP), TRAILR-1 (DR4 или APO-2), TRAILR-2 (DR5, KILLER или TRICK2) и DR6.

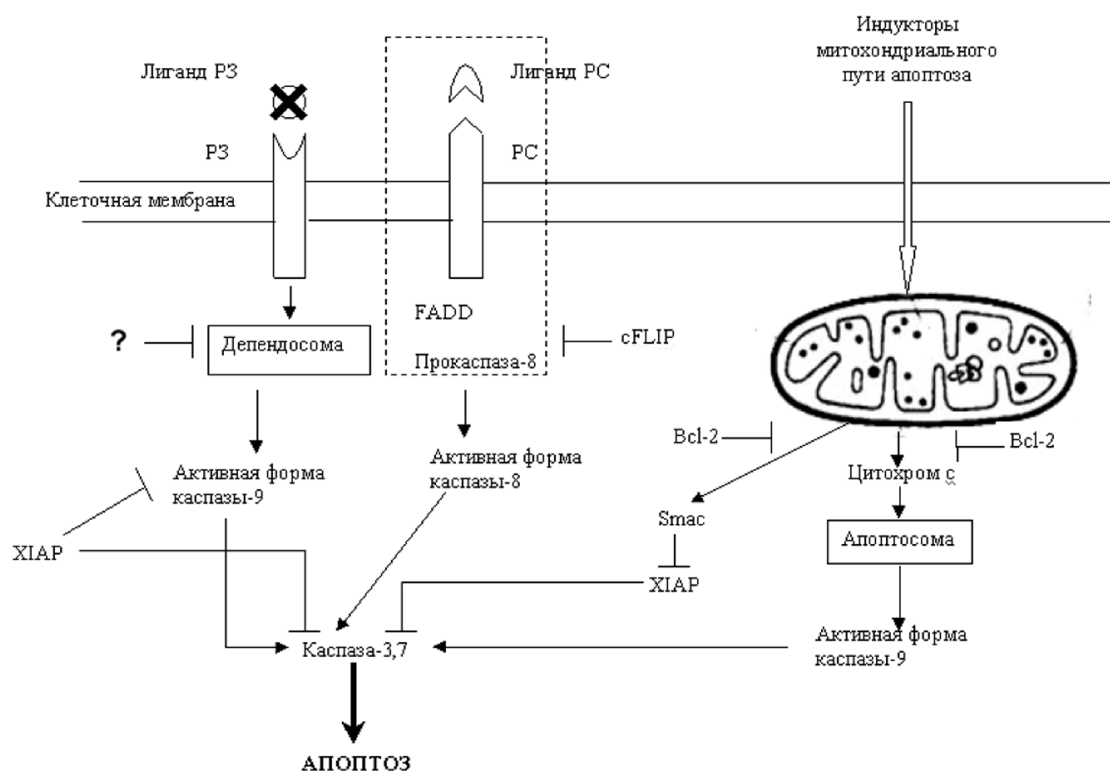


Рисунок.

Основные пути инициации и передачи апоптотического сигнала в клетке.

P3 – “рецептор зависимости”, PC – “рецептор смерти”. Пунктиром обозначен мультимерный белковый комплекс DISC. ? – эндогенный ингибитор деппендосомы пока не выявлен.

Другие пояснения см. в тексте.

Наиболее перспективными с точки зрения целевой терапии являются рецепторы “лиганда смерти” TRAIL, на которых мы остановимся более детально. Цитокин TRAIL представляет собой трансмембранный белок II типа, относится к семейству TNF и, подобно другим представителям этого семейства, формирует биологически активные гомотриммеры. Известно о существовании пяти рецепторов TRAIL: DR4 и DR5 участвуют в индукции апоптоза, тогда как TRAILR-3 (DcR1), TRAILR-4 (DcR2) и остеопротегерин выступают в роли рецепторов-“ловушек”, то есть нейтрализуют цитотоксическое действие TRAIL на клетки. В результате связывания TRAIL с DR4 или DR5 в клетке образуется особый белковый комплекс DISC (death-inducing signaling complex), инициирующий развитие

апоптоза [4]. С активированными рецепторами DR4 или DR5 связывается (через DD-DD-взаимодействие) адапторный белок FADD, который содержит также эффекторный домен смерти (death effector domain, DED). Этот домен участвует в связывании белка FADD (через DED-DED-взаимодействие) с неактивными проформами каспазы-8 или каспазы-10. Как известно, каспазы (от англ. *cysteiny aspartate-specific proteases*) представляют собой семейство цистеиновых протеаз, расщепляющих свои субстраты по пептидным связям, расположенным после остатков аспарагиновой кислоты. Непосредственное участие в инициации и реализации апоптоза принимают только 7 из 12 каспаз, идентифицированных у человека. В зависимости от функции их разделяют на два типа: инициаторные (каспазы-2 -8, -9, -10) и эффекторные (каспазы-3 -6, -7). Активация инициаторных каспаз происходит путём аутопротеолиза прокаспазных молекул после олигомеризации последних в составе сигнальных мультимерных белковых комплексов. Для активации эффекторных каспаз необходимо действие инициаторных каспаз (см обзор [5]). После того, как прокаспаза-8 (или прокаспаза-10 в условиях недостаточного содержания прокаспазы-8) становится частью комплекса DISC, происходит её олигомеризация с последующим аутопротеолизом и активацией. Затем каспаза-8/-10 активирует эффекторную каспазу-3, которая расщепляет многочисленные субстраты, отвечающие за поддержание жизнеспособности клетки.

В некоторых типах клеток для инициации апоптоза достаточно активации каспазы-8/-10, опосредуемой “рецептором смерти”, однако в клетках других типов для этого необходимо ещё участие так называемого митохондриального пути апоптоза. Он активируется после частичного протеолиза каспазой-8 белка Bid, который относится к семейству Bcl-2. Расщеплённая форма Bid (tBid) переходит в митохондрии, где вызывает (через связывание с проапоптотическими белками Bax и Bak) пермеабиллизацию наружной митохондриальной мембраны, способствуя тем самым выходу ряда апоптогенных факторов в цитоплазму. В частности, цитохром c, попав в цитозоль, связывается с адапторным белком Araf-1 и прокаспазой-9, что приводит к образованию сигнального комплекса, называемого апоптосомой. Активированная каспаза-9 затем расщепляет и активирует эффекторные каспазы-3 и -7. С учётом необходимости вовлечения митохондриального пути в развитие TRAIL-инициированного апоптоза, различают клетки I (независимого) и II (зависимого от выхода из митохондрий апоптогенных факторов) типов [6]. Блокирование митохондриального пути в клетках II типа в условиях сверхэкспрессии антиапоптотических белков Bcl-2 или Bcl-x_L предотвращает активацию TRAIL-индуцируемого апоптоза.

В опухолевых клетках передача регуляторных сигналов от активированных рецепторов TRAIL-R1 и TRAIL-R2 бывает нарушена на различных этапах. Прежде всего, уровень экспрессии рецептора на клеточной поверхности может быть снижен или белок может вовсе отсутствовать. В клетках опухолей различного генеза (включая рак лёгкого, толстой кишки, молочной железы, предстательной железы, печени, яичников, головы и шеи, а также при неходжкинских лимфомах) часто отмечается потеря короткого плеча 8-й хромосомы, на котором расположены гены рецепторов TRAIL-R1 и TRAIL-R2. Мутации генов *TRAIL-R1* или *TRAIL-R2*, приводящие к потере биологической активности кодируемых ими рецепторных молекул, были обнаружены у больных В-клеточной неходжкинской лимфомой, раком молочной железы, немелкоклеточным раком лёгкого, плоскоклеточным

раком головы и шеи, гепатоцеллюлярной карциномой, раком желудка или остеосаркомой [7]. Адекватному функционированию TRAIL-R1 и TRAIL-R2 могут также препятствовать эпигенетические изменения. Например, для клеток астроцитарной глиомы и рака молочной железы характерно гиперметилование промоторов генов *TRAIL-R1* или *TRAIL-R2* [8, 9]. Другой механизм, с помощью которого опухолевые клетки способны избегать апоптоза, вызываемого TRAIL, связан с аномальной экспрессией “рецепторов-ловушек”. В частности, сверхэкспрессия TRAIL-R3 была обнаружена в бластных клетках при остром миелолейкозе [10]. Кроме того, в опухолевых клетках может нарушаться функционирование каспазы-8 (с помощью генетических либо эпигенетических механизмов) или повышаться уровень антиапоптотического белка c-FLIP, что в конечном итоге приводит к блокированию активации рецептор-опосредуемого каспазного каскада.

1.2. “Рецепторы зависимости”.

В некоторых случаях апоптоз может быть инициирован вследствие того, что так называемые “рецепторы зависимости” не связываются со своими специфическими лигандами. К этой группе относят рецепторы: DCC, UNC5H1-4, RET, MET, неогенин, EphA4, *patched*, ALK, TrkA, TrkC, рецептор нейтрофина $p75^{NTR}$, рецептор андрогена, $\alpha_v\beta_3$ - и $\alpha_5\beta_1$ -интегрины [11]. “Рецепторы зависимости” имеют абсолютно разную структуру, но схожи функционально по способности вызывать апоптоз в условиях своего инертного состояния. Однако после взаимодействия с лигандами такие рецепторы могут блокировать развитие апоптоза.

“Рецепторы зависимости” (за исключением $p75^{NTR}$, TrkA и интегринов) являются типичными субстратами каспаз. Протеолиз “рецепторов зависимости” играет важную роль в реализации их апоптотической функции, поскольку мутации в сайтах расщепления рецепторных молекул препятствуют индукции апоптоза. В результате ферментативного гидролиза пептидных связей в “рецепторах зависимости” образуются пептиды, которые активируют каспазы (непосредственно или опосредствовано) и последующую гибель клеток. Интересно, что в состав рецепторов UNC5H и $p75^{NTR}$ входит DD-домен, хотя механизмы апоптоза, опосредованного “рецепторами зависимости” и “рецепторами смерти”, являются принципиально несхожими. F. Mille и соавт. [12] недавно открыли новый мультимерный белковый комплекс, который способствует активации каспазы-9 в условиях отсутствия лиганда рецептора “*patched*”. После взаимодействия рецепторной молекулы с адапторным белком DRAL/FHL2 к ним присоединяется другой адапторный белок – TUKAN, а также прокаспаза-9. Образование такого комплекса, который был назван депендосомой, приводит к активации каспазы-9. Пока остаётся неизвестным, активируются ли схожим образом каспазы в условиях отсутствия лигандов других “рецепторов зависимости”.

Согласно существующим представлениям, “рецепторы зависимости” могут служить негативными регуляторами опухолевого роста, поскольку в условиях ограниченного содержания своих лигандов “рецепторы зависимости” проявляют проапоптотическую активность. Однако в случае аутокринной продукции опухолевыми клетками лигандов этих рецепторов индукция апоптоза блокируется. Установлено, что для клеток рака молочной железы, рака лёгкого и нейробластомы характерно повышение экспрессии и аутокринная продукция нетрина-1 (цит. по [11]), который служит лигандом для рецепторов DCC и UNC5H. Клетки нейробластомы также активно продуцируют лиганд рецептора зависимости TrkC [11].

1.3. Белки семейства Bcl-2.

Инициация рецептор-независимого апоптоза чаще всего происходит при участии митохондрий, которые являются координаторами ранних этапов его развития. Апоптотические события, в которых участвуют митохондрии, могут быть вызваны различными факторами, включая химиотерапевтические препараты, ионизирующее излучение, активные формы кислорода, оксид азота, некоторые токсины, а также белки, которые кодируются вирусными генами. Все перечисленные факторы вызывают апоптоз независимо от активации других инициаторных апоптотических систем, в частности, связанных с “рецепторами смерти”.

Как известно, митохондрии состоят из матрикса, окружённого внутренней мембраной, внешней мембраны и межмембранного пространства. В межмембранном пространстве находятся апоптогенные молекулы (цитохром *c*, Smac, AIF, эндонуклеаза G и др.), которые после пермеабилзации внешней мембраны митохондрии попадают в цитоплазму. Выход цитохрома *c* из митохондрий способствует формированию апоптосомы (см. выше), активации инициаторной каспазы-9 и последующему развитию апоптоза. Процесс высвобождения апоптогенов из митохондрий регулируют представители семейства Bcl-2-подобных белков, которые можно разделить на три группы [13]. Для членов первой группы, таких как Bcl-2, Bcl-x_L, Bcl-w, A1 и Mcl-1, характерны антиапоптотические свойства и наличие четырёх ВН-доменов (ВН1, ВН2, ВН3 и ВН4). Эти белки также содержат трансмембранный участок, который позволяет им встраиваться во внешнюю мембрану митохондрий или эндоплазматического ретикулума. Представители второй группы (Bax, Bak и Bok) лишены домена ВН4 и проявляют проапоптотическую активность. Третья группа является наиболее многочисленной; её представители содержат только один ВН-домен (ВН3), с помощью которого они взаимодействуют с другими белками семейства Bcl-2. Эти молекулы чаще всего локализованы в цитоплазме, откуда в ответ на действие индукторов апоптоза они могут перемещаться к митохондриям. Третью группу составляют проапоптотические белки Bik, Bad, Bid, Bim, Bmf, Noxa и PUMA.

Про- и антиапоптотические белки семейства Bcl-2 могут связываться друг с другом, образуя сложную систему гомо- и гетеродимерных комплексов. Соотношение про- и антиапоптотических белков при формировании таких комплексов и определяет последующую реализацию или ингибирование апоптоза в клетках. Например, белки Bcl-2 и Bcl-x_L, встраиваясь во внешнюю мембрану митохондрий, подавляют апоптоз за счёт образования гетеродимерных комплексов с белком Bax, что препятствует формированию димеров Bax/Bax. Комплексы Bax/Bax или Bak/Bak формируют мембранные поры, через которые цитохром *c* и другие апоптогенные молекулы покидают митохондрии и попадают в цитоплазму с последующей активацией эффекторной фазы апоптоза. Схожая ситуация имеет место и в случае белка Bad. Его фосфорилированная форма локализуется в цитоплазме, но после инициации апоптоза происходит дефосфорилирование и переход этого белка к митохондриям, где образуются гетеродимеры Bad/Bcl-x_L; тем самым блокируется действие антиапоптотического белка Bcl-x_L. Bcl-2-подобные белки, которые содержат только ВН3-домен, вызывают гибель клеток путём взаимодействия с Bax или Bax во внешней мембране митохондрий.

В опухолевых клетках происходят существенные изменения в уровне экспрессии или функционирования белков семейства Bcl-2. Так, в клетках разных по гистогенезу злокачественных новообразований было обнаружено

увеличение соотношения уровней экспрессии антиапоптотических и проапоптотических Bcl-2-подобных белков, что сопровождается снижением чувствительности опухолевых клеток к действию лекарственных препаратов и ионизирующего излучения. Повышенный уровень экспрессии проапоптотических белков Bim и Puma в клетках опухолей толстой кишки у больных, получавших адъювантную химиотерапию, коррелирует с более благоприятными показателями безрецидивной и общей выживаемости [14]. Кроме того, в клетках ряда солидных опухолей и гемобластозов были обнаружены соматические мутации, которые приводят к инактивации проапоптотических генов семейства Bcl-2. К примеру, мутации гена Bax со сдвигом рамки считывания характерны для клеток рака толстой кишки и желудка с микросателлитной нестабильностью ДНК (так называемым мутаторным фенотипом) [15]. Более того, наличие таких мутаций коррелирует с более коротким периодом выживания указанных больных. Также сообщалось о мутациях или избыточном метилировании промотора гена проапоптотического белка Bim при В-клеточных лимфомах [16].

1.4. Белки семейства IAP

Другое семейство эндогенных регуляторов апоптоза объединяет IAP-подобные белки, которые впервые были обнаружены у бакуловирусов. У человека охарактеризовано 8 представителей этого семейства: XIAP, cIAP1, cIAP2, сурвивин, ливин (ML-IAP), NAIP, BRUCE и ILP-2. Для всех них характерно наличие по крайней мере одного участка размером около 70 аминокислотных остатков, называемого BIR-доменом, который обеспечивает взаимодействие с каспазами. Наиболее выраженной антиапоптотической активностью среди членов семейства IAP обладает белок XIAP. Он способен связываться с активированными каспазами-3 и -7, а также предотвращать активацию каспазы-9. При этом апоптогенный фактор Smac, который вместе с цитохромом *c* покидает пределы митохондрий, способен блокировать ингибирующее действие белка XIAP на эффекторные каспазы. Иной механизм антиапоптотического действия XIAP связан с его E3-лигазной активностью, благодаря которой происходит деградация в протеасомах разных апоптотических белков, в том числе каспаз [17]. Показано [18], что больные острым миелобластным лейкозом с низким уровнем экспрессии XIAP имеют большую медиану выживаемости с тенденцией к более продолжительной ремиссии по сравнению с больными с гиперэкспрессией белка XIAP (133 против 52,5 нед. и 87 против 52,5 нед. соответственно). Эти данные свидетельствуют о возможности использования белка XIAP в качестве маркера неблагоприятного прогноза у больных острым миелобластным лейкозом.

Ещё один интересный представитель семейства IAP – сурвивин – имеет в своём составе лишь один BIR-участок, но лишен других доменов, характерных для XIAP, и является значительно менее активным ингибитором каспазы-3 по сравнению с белком XIAP. Согласно данным Н. Marusawa и соавт. [19], сурвивин способен препятствовать функционированию апоптосомы путём образования комплекса с прокаспазой-9 и X-белком вируса гепатита В. Сурвивин обнаруживается в большинстве типов опухолей, но отсутствует в клетках нормальных тканей человека (см. обзор [20]). Кроме того, этот белок участвует в регуляции не только выживания, но и деления клеток. Всё это указывает на перспективность использования сурвивина в онкологической клинике в качестве мишени для терапевтического воздействия.

1.5. Белок p53.

Другой перспективной мишенью для реактивации апоптоза служит ядерный белок p53. Он постоянно синтезируется клетками, но очень быстро расщепляется (период его полураспада около 20 мин), и поэтому концентрация p53 в большинстве нормальных клеток и тканей очень низкая. В ответ на действие ДНК-повреждающих факторов содержание белка p53 резко возрастает, и происходит его олигомеризация (p53 активен лишь в тетрамерной форме). Активация p53 (как за счёт стабильного увеличения концентрации этого белка, так и его фосфорилирования), которая проходит уже через 30 мин после повреждения ДНК клетки, способствует подавлению процессов, связанных с делением клеток, либо инициации апоптоза. При незначительном повреждении структуры ДНК активированный p53 индуцирует транскрипцию генов *WAF1*, *GADD45*, *p53R2*, *14-3-3* и *Reprimo*, белковые продукты которых участвуют в остановке клеточного цикла. Такая “передышка” позволяет клетке восстановить (репарировать) поврежденную ДНК. В случае значительных повреждений ДНК белок p53 способствует индукции апоптоза. При этом чаще всего белок p53 активирует митохондриальный путь апоптоза, в частности стимулирует экспрессию апоптотических генов *BAX*, *BID*, *p53AIP1*, *NOXA* и *PUMA*, а также подавляет экспрессию антиапоптотических генов *BCL-2* и *MCL-1*. Кроме того, белок p53 способен стимулировать экспрессию генов “рецепторов смерти” *Fas*, *DR4* и *DR5*, что приводит к активации рецептор-опосредованного апоптоза.

Возможность p53-зависимой индукции апоптоза в присутствии ингибиторов синтеза РНК и белков свидетельствует о существовании таких механизмов инициации апоптоза, которые не связаны с транскрипционной активностью белка p53. Пока еще эти механизмы изучены недостаточно, хотя известно, что p53 индуцирует апоптоз после попадания в митохондрии, где он непосредственно взаимодействует с белками Bcl-x_L и Bcl-2 [21]. К другим функциям белка p53, направленным на подавление опухолевого роста и не связанным с его транскрипционной активностью, следует отнести непосредственное участие p53 в регуляции сигнальных путей, которые отвечают за репарацию поврежденной ДНК, а также в процессинге микроРНК.

Эндогенным ингибитором транскрипционной активности p53 является белок MDM2. Он блокирует трансактивационный домен белка p53 и способствует его экспорту из ядра в протеасомы, где p53 подвергается убиквитин-зависимой деградации. Вместе с тем, белок p53 связывается со специфическим сайтом в первом интроне гена *MDM2* и активирует его транскрипцию, что свидетельствует о наличии в клетке ауторегуляции уровня белка p53, осуществляемой по механизму отрицательной обратной связи.

Следует отметить, что мутации гена *p53* встречаются в клетках примерно половины всех злокачественных новообразований человека, причём 95% из них приходится на участок, кодирующий ДНК-связывающий домен p53 [22]. Мутации гена *p53* вызывают конформационные изменения белка p53, увеличивают период его полураспада (за счёт угнетения деградации убиквитиновым комплексом) и уменьшают как ДНК-специфическое связывание, так и транскрипционную активность p53. В результате этого у мутантной формы белка p53 значительно ослабляется способность инициировать апоптоз, что способствует выживанию опухолевых клеток и формированию у них устойчивости к действию цитотоксических препаратов и лучевой терапии.

2. РЕАКТИВАТОРЫ АПОПТОЗА КАК ПРЕПАРАТЫ ЦЕЛЕВОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ.

Для активации с терапевтической целью апоптоза, опосредованного TRAIL-рецепторами, используется три основных подхода: с помощью нативного лиганда TRAIL, агонистических антител против TRAIL-R1/-R2 или векторов, экспрессирующих ген *TRAIL*. Известно, что TRAIL характеризуется избирательностью апоптотического действия на опухолевые клетки и не вызывает гибели нормальных клеток. Кроме того, этот “лиганд смерти” связывается с обоими рецепторами TRAIL-R1 или TRAIL-R2 и индуцирует апоптоз независимо от митохондриального апоптотического пути (который чаще всего заблокирован в опухолевых клетках), а также независимо от гена-супрессора опухолевого роста *p53*. Высокая противоопухолевая активность TRAIL была продемонстрирована на перевиваемых линиях опухолевых клеток различного генеза и разнообразных моделях *in vivo* [23]. Способность TRAIL усиливать цитотоксические эффекты лекарственной и лучевой терапии также свидетельствует о перспективности его использования для подавления роста злокачественных новообразований. Начиная с 2006 г., активно проводятся клинические испытания препарата дуланермин (APO2L/TRAIL-PRO1762), который представляет собой оптимизированный гомотримерный рекомбинантный белок (участок внеклеточного домена TRAIL со 114 по 281 а.о.), связанный с Zn^{2+} . Фаза I клинических исследований показала, что дуланермин как в монорежиме, так и в комбинации с препаратами общепринятой химиотерапии или целевой терапии хорошо переносится больными. Максимальной переносимой дозы препарата установить не удалось [24, 25]. Наилучшая противоопухолевая активность дуланермина (в комбинации с паклитакселем, карбоплатиной и МКАТ бевацизумаб) отмечена у больных с немелкоклеточным раком лёгкого – в группе из 24 больных у одного был полный ответ, у 13 – частичный ответ, а у 9 – стабилизация заболевания [25]. Проводится II стадия испытаний комбинаций препарата у больных немелкоклеточным раком лёгкого и неходжкинскими злокачественными лимфомами. Несмотря на достаточно успешные результаты доклинических исследований, терапевтический эффект рекомбинантного TRAIL пока существенно ограничен коротким периодом полураспада препарата (30-60 мин) и его связыванием с рецепторами-“ловушками” TRAILR-3, TRAILR-4 и остеопротегерином.

Указанные недостатки препарата TRAIL удаётся отчасти преодолеть при активации апоптоза в опухолевых клетках под действием агонистических антител против рецепторов TRAIL, которые влияют на клетки-мишени подобно лиганду TRAIL. Период полураспада таких антител в крови человека составляет от 6 до 21 сут, а распознают они исключительно рецепторные молекулы TRAIL-R1 или TRAIL-R2. Кроме того, механизм действия МКАТ против рецепторов TRAIL (например, препарата мапатумумаб [26]) связан с развитием антитело-зависимой клеточной цитотоксичности и комплемент-зависимой цитотоксичности.

В настоящий момент на разных стадиях клинического исследования находится семь препаратов МКАТ, которые специфически связываются с внеклеточным доменом рецепторов TRAIL-R1 или TRAIL-R2 (таблица). Оценка переносимости и безопасности применения препарат мапатумумаб в режиме монотерапии подтвердила отсутствие существенных побочных эффектов [27, 28]. По результатам I фазы клинических испытаний [29–31],

РЕАКТИВАТОРЫ АПОПТОЗА В ОНКОЛОГИИ

препараты лексатумумаб, конатумумаб и дрозитумаб также отличаются низкой токсичностью. По данным II фазы испытаний, препарат мапатумумаб проявляет клиническую активность (чаще всего стабилизация заболевания) при монотерапии больных, страдающих немелкоклеточным раком лёгкого, колоректальным раком или неходжкинскими злокачественными лимфомами [32–34]. Учитывая тот факт, что ряд противоопухолевых препаратов способен влиять на уровень экспрессии как рецепторов TRAIL, так и внутриклеточных регуляторов апоптоза, логично предположить возможность синергизма апоптотического действия МКАТ против TRAIL-R1/-R2 и лекарственных препаратов, используемых в онкологической клинике. Проведено несколько клинических испытаний (фаза I) комбинаций мапатумумаба с гемцитабином и цисплатиной или с паклитакселем и карбоплатиной у больных с солидными опухолями [35, 36]. Отмечается не только хорошая переносимость указанных комбинаций препаратов и отсутствие их фармакокинетических взаимодействий, но и частичный ответ или стабилизация онкологического процесса более чем у половины больных. Следует отметить, что, в отличие от других препаратов для целевой терапии на основе МКАТ (например, герцептина), чувствительность к действию мапатумумаба напрямую не зависит от уровня экспрессии TRAIL-R1 в опухолевых клетках [34–36]. Для отбора больных, чувствительных к цитотоксическому действию МКАТ против TRAIL-R либо рекомбинантного препарата TRAIL, предложено использовать иммуноцитохимический анализ в опухолевой ткани уровня ферментов GALNT14 и FUT3/6, O-гликозилирующих белки TRAIL-R1/-R2 [37]. Чем ниже уровень указанных ферментов, тем выше вероятность нечувствительности больного к целевой терапии с использованием активаторов TRAIL-рецепторов.

Таблица. Реактиваторы апоптоза опухолевых клеток, которые проходят клинические испытания.

Препарат	Стадия клинического испытания	Тип новообразования	Комбинации с другими препаратами	Молекулярная мишень	Класс препарата	Фирма-производитель
<i>Препараты, активирующие TRAIL-R1/2</i>						
HGS-ETR1 (мапатумумаб)	I	Солитарные опухоли		TRAIL-R1	МКАТ	Human Genome Sciences, Inc. (CHIA)
	I	Солитарные опухоли	Гемцитабин/цисплатин			
	I	Солитарные опухоли	Паклитаксел/карбоплатин			
	I/II	РПМ	Цисплатин/ЛТ			
	II	ГЦР	Сорафениб			
	II	НМКРЛ				
	II	НМКРЛ	Паклитаксел/карбоплатин			
	II	ММ	Бортезомиб			
	II	НЗЛ				
HGS-ETR2 (лексатумумаб)	I	Солитарные опухоли		TRAIL-R2	МКАТ	Human Genome Sciences, Inc.

Таблица. Продолжение.

Препарат	Стадия клинического испытания	Тип новообразования	Комбинации с другими препаратами	Молекулярная мишень	Класс препарата	Фирма-производитель
AMG-655 (кинатуумаб)	I	Солитарные опухоли		TRAIL-R2	MKAT	Amgen Inc. (США)
	I/II	Солитарные опухоли	AMG-479			
	I/II	НМКРЛ	Паклитаксел/ карбоплатин			
	I/II	РПЖ	Гемцитабин			
	I/II	CMT	Доксорубин			
	I/II	KPP	Панитумумаб			
	I/II	KPP	Схема mFOLFOX6/ бевацизумаб			
	II	KPP	Схема FOLFIRI			
PRO95780 (дрозитумаб)	I	Солитарные опухоли		TRAIL-R2	MKAT	Genentech (США)
	II	НМКРЛ	Паклитаксел/ карбоплатин/ бевацизумаб			
	II	НЗЛ	Ритуксимаб			
LBV135	I/II	Солитарные опухоли		TRAIL-R2	MKAT	Novartis Pharmaceuticals (США)
	I/II	Солитарные опухоли	Капецитабин			
TRA-8/CS-1008 (пигалузумаб)	I	Солитарные опухоли, лимфомы		TRAIL-R2	MKAT	Daiichi Sankyo Inc. (Япония)
	I	KPP	Схема FOLFIRI			
	II	НМКРЛ	Паклитаксел/ карбоплатин			
	II	KPP	Иринотекан			
	II	PЯ	Паклитаксел/ карбоплатин			
	II	РПЖ	Гемцитабин			
	II	ГЦР	Сорафениб			
HGS-TR2J	I	Солитарные опухоли		TRAIL-R2	MKAT	Human Genome Sciences, Inc.
APO2L/TRAIL-PRO1762 (дулинерумаб)	I	Солитарные опухоли		TRAIL-R1, TRAIL-R2	РБЧ	Genentech/ Amgen Inc.
	I	KPP	Иринотекан/ цетуксимаб или схема FOLFIRI ± бевацизумаб			
	I/II	НЗЛ	Ритуксимаб			
	II	НМКРЛ	Паклитаксел/ карбоплатин ± бевацизумаб			
Ad5-TRAIL	I	РПЖ		TRAIL-R1, TRAIL-R2	ABB	Genentech/ Amgen Inc.

РЕАКТИВАТОРЫ АПОПТОЗА В ОНКОЛОГИИ

Таблица. Продолжение.

Препарат	Стадия клинического испытания	Тип новообразования	Комбинации с другими препаратами	Молекулярная мишень	Класс препарата	Фирма-производитель
<i>Препараты, ингибирующие антиапоптозные белки/гены семейства Bcl-2</i>						
G3139 (обинамерсен)	I	Солитарные опухоли		<i>Bcl-2</i>	ACON	Genta (США)
	I	Солитарные опухоли	Паклитаксел/карбоплатин			
	I	Солитарные опухоли, лимфомы	Гемцитабин			
	I	МК	Абраксан/темпозомид			
	I	ДВКЖ	Схема CHOP/ригуксимаб			
	I/II	Солитарные опухоли	Доцетаксел			
	I/II	МКРЛ	Паклитаксел			
	I/II	РМЖ	Доксорубин/доцетаксел			
	I/II	РП, РЖ	Цисплатин/5-фторурацил			
	I/II	KPP	Схема mFOLFOLX6			
	I/II	KPP	Иринотекан			
	I/II	XIII				
	I/II	XIII	Флуudaraбин/ригуксимаб			
	I/II	МГВ				
	II	УМ	Паклитаксел/карбоплатин			
	II	РКМ				
	II	МКРЛ	Карбоплатин/этаносид			
	II	РП	Интерферон-γ			
	II	РПРЖ	Доцетаксел			
	II	ГЦР	Доксорубин			
	II	ОМЛ	Гемтузумаб			
	II	ХМЛ	Иматиниб			
	II	НЗЛ	Ригуксимаб			
	II/III	НМКРЛ	Доцетаксел			
	III	МК	Даксрбазин			
	III	XIII	Флуudaraбин/циклофосфамид			
	III	ОМЛ	Даунорубин/цитарабин			
	III	ММ	Тамидомид/дексаметазон			
SPC2996	I/II	XIII		<i>Bcl-2</i>	ACON	Santaris Pharma A/S (Дания)

Таблица. Продолжение.

Препарат	Стадия клинического испытания	Тип новообразования	Комбинации с другими препаратами	Молекулярная мишень	Класс препарата	Фирма-производитель
AT-101 (госсиния)	I	МКРЛ	Цисплатин/ этипозид	Bcl-2, Bcl-x _L , Mcl-1, Bcl-w	НМИ	Ascenta Therapeutics, Inc. (США)
	I	МГ	Темозоломид ± ЛП			
	I/II	РП	Доцетаксел/ 5-фторурацил/ ЛП			
	I/II	МКРЛ	Топотекан			
	II	НМКРЛ	Доцетаксел			
	II	НМКРЛ	Эрипоинб			
	II	РПРЖ	Доцетаксел/ преднизолон			
	II	РПРЖ	НГТ			
	II	МГ				
	II	МКРЛ				
	II	РКН				
	II	РГП	Доцетаксел			
	II	НЗЛ	Ритуксимаб			
	II	ХЛЛ	Ритуксимаб			
GX15-070MS (обатинокс)	I	Гемобластозы		Bcl-2, Bcl-x _L , Mcl-1, Bcl-w	НМИ	Gemin X Pharmaceuticals, Inc. (США)
	I	ХЛЛ	Флударабин/ ритуксимаб			
	I/II	МКРЛ	Топотекан			
	I/II	МКРЛ	Карбоплатин/ этипозид			
	I/II	НМКРЛ	Доцетаксел			
	I/II	ММ	Бортезомиб			
	I/II	ЛГМ, НЗЛ	Бортезомиб			
	I/II	НЗЛ	Ритуксимаб/ бендамустина			
	I/II	ЛМЗ	Бортезомиб			
	II	ОМЛ				
	II	ФЛ	Ритуксимаб			
	II	МДС				
	II	ЛГМ				
ABT-263 (називатокс)	I	Солитарные опухоли	Доцетаксел	Bcl-2, Bcl-x _L , Bcl-w	НМИ	Abbott Laboratories (США)
	I	Солитарные опухоли	Цисплатин/ этипозид			
	I	Солитарные опухоли	Гемифтабин			
	I	Солитарные опухоли	Паклитаксел			
	I	ХЛЛ				
	I/II	МКРЛ				

РЕАКТИВАТОРЫ АПОПТОЗА В ОНКОЛОГИИ

Таблица. Продолжение.

Препарат	Стадия клинического испытания	Тип новообразования	Комбинации с другими препаратами	Молекулярная мишень	Класс препарата	Фирма-производитель
<i>Препараты, ингибирующие активность семейства IAP</i>						
LY2181308	II	ОМЛ		Суринамин	ACON	Eli Lilly & Company (США)
	II	РПРЖ	Доцетаксел			
	II	НМКРЛ	Доцетаксел			
YM-155	I/II	РПРЖ	Доцетаксел/ преднизолон	Суринамин	НМИ	Astellas Pharma, Inc. (Япония)
	II	РМЖ	Доцетаксел			
	II	РПРЖ				
	II	НМКРЛ				
	II	МК				
AEG35156/ GEM640	I	Солитарные опухоли	Доцетаксел	XIAP	ACON	Aegera Therapeutics (Канада)
	I/II	ГЦР	Сорафениб			
	I/II	РПЖ	Гемцитабин			
	I/II	ОМЛ	Цитарабин/ даунорубин			
NV-06 (фениксодина)	I	Солитарные опухоли		XIAP	НМИ	Novogen Ltd. (Австралия)
	I/II	РЯ	Присплатин/ паклитаксел			
	I/II	РЯ	Доцетаксел			
	II	РПРЖ				
HGS1029	I	Солитарные опухоли, лимфомы		cIAP1, cIAP2, XIAP, лиганды	Smac- миметик	Human Genome Sciences, Inc.
GDC-0152	I	Солитарные опухоли		XIAP, cIAP1, cIAP2	Smac- миметик	Genentech
SM-406/AT-406	I	Солитарные опухоли, лимфомы		XIAP, cIAP1, cIAP2	Smac- миметик	Ascenta Therapeutics, Inc.
	I/II	ОМЛ	Даунорубин/ цитарабин			
LCL161	I	Солитарные опухоли		XIAP, cIAP1, cIAP2	Smac- миметик	Novartis Pharmaceuticals
	I	Солитарные опухоли	Паклитаксел			
TL32711	I	Солитарные опухоли, лимфомы		XIAP, cIAP1, cIAP2	Smac- миметик	TetraLogic Pharmaceuticals (США)
	I	Солитарные опухоли	Гемцитабин			
	I/II	ОМЛ				

Таблица. Продолжение.

Препарат	Стадия клинического испытания	Тип новообразования	Комбинация с другими препаратами	Молекулярная мишень	Класс препарата	Фирма-производитель
<i>Препараты, активирующие p53</i>						
INGN201 (адексин)	I	РЯ, ГЦР		p53	АВВ	Introgen Therapeutics, Inc. (США)
	II	РМЖ	Доксорубин/дидефаксен			
	III	РГШ				
APR-246 (PRIMA-1)	I/II	РПРЖ, гемо-бластозы		Мутантная форма p53	НМА	Aprica AB (Швеция)
RG7112 (RO5045337)	I	Солитарные опухоли, гемо-бластозы		MDM2	НМИ	Hoffmann-La Roche, Inc.
	I	СМТ	Доксорубин			
	I	ОМЛ	Цитарабин			
JNJ-26854165 (сердечетан)	I	Солитарные опухоли		MDM2	НМИ	Johnson & Johnson (США)

Примечание: AMG-479 – МКАТ против IGF-1R, АВВ – аденовирусный вектор, АСОН – антисмысловые олигонуклеотиды, ГЦР – гепатоцеллюлярный рак, ДВККЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома, КРР – колоректальный рак, ЛГМ – лимфогранулематоз, ЛМЗ – лимфома мантийной зоны, ЛТ – лучевая терапия, МГВ – макроглобулинемия Вальденстрема, МГ – многоформная глиобластома, МДС – миелодиспластические синдромы, МКАТ – моноклональное антитело, МК – меланома кожи, МКРЛ – мелкоклеточный рак лёгкого, ММ – множественная миелома, НГТ – неoadъювантная гормональная терапия, НЗЛ – неходжкинские злокачественные лимфомы, НМА – низкомолекулярный активатор, НМИ – низкомолекулярный ингибитор, НМКРЛ – немелкоклеточный рак лёгкого, ОМЛ – острый миелоидный лейкоз, РБЧ – рекомбинантный белок человека, РГШ – рак головы и шеи, РЖ – рак желудка, РКМ – рак из клеток Меркеля, РКН – рак коры надпочечника, РМЖ – рак молочной железы, РПЖ – рак поджелудочной железы, РПо – рак почки, РП – рак пищевода, РПРЖ – рак предстательной железы, РШМ – рак шейки матки, РЯ – рак яичников, СМТ – саркома мягких тканей, схема FOLFIRI – 5-фторурацил + лейковорин + иринотекан, схема CNOP – циклофосфамид + доксорубин + преднизолон, схема mFOLFOX6 – оксалиплатин + лейковорин + 5-фторурацил, УМ – увеальная меланома, ФЛ – фолликулярная лимфома, ХЛЛ – хронический лимфоцитарный лейкоз, ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз.

Говоря о препаратах, активирующих рецепторы TRAIL-R1/-R2 в опухолевых клетках, следует упомянуть о таком направлении, как генная терапия. На сегодняшний день наиболее эффективной системой переноса рекомбинантной ДНК в клетки являются вирусные векторы. С этой целью применяют ДНК- или РНК-содержащие вирусы, не способные к репликации в инфицированных клетках. Из ДНК-содержащих векторов в генной терапии чаще всего используют аденовирусные векторы, поскольку они стабильны

в условиях *in vivo*, не встраиваются в геном хозяина и инфицируют как активно пролиферирующие, так и медленно делящиеся клетки. Благодаря размерам генома аденовируса, в такие векторы можно встраивать более крупные генетические конструкции, чем в случае векторов, основанных на РНК-содержащих вирусах. В 2001 г. был создан рекомбинантный дефектный по репликации аденовирусный вектор, экспрессирующий ген *TRAIL* человека (Ad5-TRAIL) [38]. Использование этого препарата имеет ряд преимуществ по сравнению с рекомбинантным TRAIL. Прежде всего, Ad5-TRAIL вызывает гибель опухолевых клеток с такой же эффективностью, как и экзогенный лиганд TRAIL, но при этом не требуются частые повторные введения препарата. В отличие от рекомбинантного TRAIL, большая часть которого выводится из организма уже через 5 ч после инъекции [39], высокий уровень экспрессии TRAIL после введения в опухоль препарата Ad5-TRAIL поддерживается до 7 суток [38]. После инъекции в предстательную железу Ad5-TRAIL гибель отмечается только среди опухолевых клеток, тогда как у нормальных клеток сохраняется жизнеспособность. Попадание Ad5-TRAIL в нормальные клетки эпителия предстательной железы может быть полезным с терапевтической точки зрения, поскольку TRAIL, продуцируемый резистентными к его повреждающему действию нормальными клетками, может оказывать цитотоксическое действие на близлежащие опухолевые клетки. Предварительные результаты, полученные в фазе I клинических испытаний, указывают на хорошую переносимость препарата Ad5-TRAIL больными с локально ограниченным раком предстательной железы [40]. Кроме того, после инъекции препарата Ad5-TRAIL не отмечалось никаких осложнений для проведения последующей простатэктомии.

Эффективность использования аденовирусных векторов в значительной степени зависит от уровня экспрессии рецептора CAR, отвечающего за распознавание аденовирусов и их попадание внутрь клетки. Поскольку для многих опухолевых клеток характерен низкий уровень рецептора CAR, то предложено использовать комбинации Ad5-TRAIL с ингибиторами гистондиацетилазы, которые способствуют повышению экспрессии рецептора CAR [40]. Препарат Ad5-TRAIL вводится внутрь опухоли (при системном введении большая часть вирусных частиц элиминируется клетками иммунной системы) и его клинический эффект не распространяется на метастатические опухолевые очаги. Поэтому целесообразно было бы сочетать препарат Ad5-TRAIL с рекомбинантным TRAIL, который вводится системно.

Другой перспективной мишенью для препаратов противоопухолевой терапии является группа антиапоптотических белков семейства Bcl-2. Для подавления антиапоптотической активности Bcl-2 в опухолевых клетках предложено использование коротких синтетических фрагментов генов – антисмысловых олигонуклеотидов (АСОН). После проникновения АСОН в клетку в результате их взаимодействия с мРНК блокируется продвижение последней по рибосоме и, в итоге, синтез белка. На стадии клинических испытаний находятся два препарата АСОН, направленные против гена *Bcl-2* (см. таблицу), в частности, препарат облимерсен (G3139), созданный на основе АСОН, комплементарных к первым 6-ти кодонам открытой рамки считывания *Bcl-2*. Препарат проходит заключительные клинические испытания в сочетании с химио- и биотерапевтическими препаратами у больных с меланомой кожи, немелкоклеточным раком лёгкого, острым и хроническим миелоидным лейкозом, а также с неходжкинскими злокачественными лимфомами. Кроме того, испытания препарата G3139 проводятся у больных

со стромальными опухолями желудка и тонкой кишки, раком предстательной железы, карциномой клеток Меркеля, раком почки, множественной миеломой и другими злокачественными новообразованиями. В общей сложности в рандомизированных и нерандомизированных исследованиях облимерсена приняло участие более 2500 пациентов. В одном из последних рандомизированных исследований III фазы сравнивали частоту объективных ответов больных хроническим лимфолейкозом, которые получали облимерсен и химиотерапию (флударабин/циклофосфамид) или только курс лекарственной терапии [41]. Статистически достоверное улучшение показателя средней 5-летней выживаемости в группе с комбинацией облимерсена и химиотерапии позволило производителю препарата обратиться в Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration (FDA), США) за получением разрешения на клиническое применение облимерсена.

За последнее десятилетие было выявлены или получены соединения небелковой природы с небольшой молекулярной массой, которые способны специфически ингибировать антиапоптотические белки семейства Bcl-2. Существенное место среди них занимают вещества природного происхождения, такие как, например, ингибитор дыхательной цепи митохондрий антимицин, растительный алкалоид хелеритрин или полифенол госсипол, выделенный из семян хлопчатника. Поскольку на начальных этапах клинических испытаний была выявлена высокая токсичность госсипола, то был разработан его полусинтетический вариант – препарат AT-101. По данным клинических испытаний этот низкомолекулярный универсальный ингибитор белков семейства Bcl-2 пригоден для перорального применения при хроническом лимфоцитарном лейкозе, неходжкинских лимфомах и раке предстательной железы. Результаты испытаний I–II фаз показали наличие побочных явлений со стороны желудочно-кишечного тракта после введения AT-101 больным раком предстательной железы, что привело к снижению оптимальной дозы препарата [42]. Начата II фаза клинических исследований препарата AT-101 в сочетании с доцетакселом (гормоно-резистентный рак предстательной железы, немелкоклеточный рак лёгкого) или с ритуксимабом (неходжкинские злокачественные лимфомы, хронический лимфоцитарный лейкоз). Рандомизированные клинические исследования II фазы, сравнивающие эффективность комбинации препарата AT-101 с доцетакселом с таковой доцетаксела + плацебо у больных метастатическим немелкоклеточным раком лёгкого, не выявили различий ни по общей эффективности, ни по продолжительности жизни больных без прогрессирования опухоли, хотя средняя общая выживаемость оказалась выше в группе AT-101 + доцетаксел (7,8 и 5,9 мес., соответственно) [43].

Ещё одно направление целевой противоопухолевой терапии связано с разработкой препаратов, направленных на подавление функции белков семейства IAP, в частности сурвивина и XIAP. Препараты LY2181308 и AEG35156, специфически распознающие соответственно гены сурвивина или XIAP, представляют собой АСОН второго поколения [44, 45]. В доклинических исследованиях была показана способность LY2181308 ингибировать экспрессию гена сурвивина и кодируемого им белка в клетках перевиваемых линий опухолей человека (рак легкого, толстой кишки, поджелудочной железы, печени, молочной железы, предстательной железы и др.) с остановкой клеточного цикла в фазе G₂/M, активацией каспазы-3 и последующей гибелью клеток [46]. В опытах на животных была выявлена противоопухолевая

активность этого препарата, а также продемонстрировано усиление цитотоксического действия гемцитабина, паклитаксела и доцетаксела. При анализе непосредственных результатов лечения LY2181308 токсичности препарата при его внутривенном введении в дозе 750 мг не наблюдали. Отмечено накопление АСОН LY2181308 в опухолевой ткани и достаточно продолжительный период полураспада препарата (около 31 сут.) [44]. Продолжаются испытания (фаза II) LY2181308 в сочетании с доцетакселом у больных раком предстательной железы. Кроме того, весьма перспективным может оказаться использование АСОН LY2181308 в качестве радиосенсибилизатора при лучевой терапии больных колоректальным раком [47].

На стадии клинических испытаний находятся также несколько низкомолекулярных антагонистов белков семейства IAP. Получен ряд веществ, которые связываются с BIR3-доменом XIAP, тем самым имитируя эффекты белка Smac. Препараты этой группы, которые называют Smac-миметиками [48], способны инициировать апоптоз опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo*, а также повышать их чувствительность к действию противоопухолевых химио- и биотерапевтических препаратов. Начато клиническое изучение 5 препаратов этой группы (таблица). Интересно отметить, что Smac-миметики были обнаружены и среди веществ природного происхождения (например, эмбелин – активный компонент плодов растения *Embelia ribes*).

Феноксодиол представляет собой синтетический аналог изофлавона генистеина и одной из мишеней его противоопухолевого действия является антиапоптотический белок XIAP [49]. Феноксодиол способен повышать чувствительность клеток рака яичников к таксанам, гемцитабину и топотекану [50]. Проведено рандомизированное исследование II фазы с целью оценки безопасности, переносимости и терапевтической эффективности препарата феноксодиола, применяемого для лечения больных раком яичников, резистентных к препаратам платины или таксанам [51]. Показано, что стабилизация процесса при еженедельных внутривенных введениях феноксодиола по 3 мг/кг в комбинации с цисплатином или паклитакселом отмечается соответственно у 56 и 53% пациенток (при общей эффективности 19 и 20%).

Для восстановления функции поврежденных генов, которые отвечают за активацию апоптоза в опухолевых клетках, предложено использовать препараты генонаправленного действия. В частности, разработан препарат адвексин (INGN-201; Ad5CMVp53) – аденовирусный вектор, который несёт функциональную (т.е. немутированную) форму гена *p53* человека под контролем цитомегаловирусного промотора. Как свидетельствуют результаты доклинических и клинических исследований, в ответ на действие адвексина значительно возрастает количество апоптотических клеток солидных опухолей разной локализации (немелкоклеточный рак лёгкого, рак молочной железы, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, рак предстательной железы). Отмечающиеся у больных побочные эффекты незначительны и включают перемежающуюся лихорадку, болезненность в месте инъекции и астению. Интересно, что согласно результатам II фазы испытаний у больных с плоскоклеточной карциномой головы и шеи, клинический эффект адвексина не зависит от статуса эндогенного *p53* [52]. Другими словами, больные, у которых ген *p53* не имеет мутаций, также могут отвечать на терапевтическое действие этого вектора. Вместе с тем, у больных с благоприятным профилем *p53* (немутированная форма *p53* при условии

гиперэкспрессии эндогенных ингибиторов p53 MDM2 и MDM4 либо низкий уровень мутированной формы p53) отмечается достоверное повышение выживаемости (7,2 мес. против 2,7 мес.) по сравнению с больными, имеющими неблагоприятный профиль p53.

Достаточно перспективным может оказаться применение INGN-201 в сочетании с лучевой терапией. Показано, что при комбинированном использовании адвексина и лучевой терапии у 12 из 19 больных немелкоклеточным раком лёгкого отмечается регрессия опухолевых узлов [53].

Альтернативным подходом к внутриопухолевому введению вектора Ad5CMV-p53 являются его инъекции в участки непоражённой ткани вокруг зоны иссечения опухоли, сделанные непосредственно после проведения оперативного вмешательства (так называемое периоперативное введение препарата). Обнадёживающие результаты были получены в нерандомизированном многоцентровом исследовании, в котором применялся комбинированный метод лечения, включающий резекцию опухоли с периоперативным введением вектора Ad5CMV-p53 и последующую химиолучевую терапию [54]. В исследование были включены 13 больных операбельным плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта, ротоглотки, гортани и гортаноглотки с запущенными стадиями (III-IV) процесса. При анализе полученных данных отмечено, что 12-месячная безрецидивная выживаемость достигала 92%. Хотя эти результаты следует интерпретировать с осторожностью, учитывая малую выборку больных.

Активация p53 с терапевтической целью возможна не только с помощью препаратов генонаправленного действия. Для этого предложено несколько альтернативных подходов. Во-первых, это реактивация функциональной активности мутантной формы белка p53. Одним из препаратов, избирательно возобновляющих в повреждённом p53 способность к индукции апоптоза (в том числе, за счёт адекватной укладки белка p53 в третичную структуру), является низкомолекулярное вещество PRIMA-1. Установлено, что внутривенные инфузии препарата APR-246 (аналог PRIMA-1) больным с рефрактерными гемобластозами или раком предстательной железы не вызывают существенных побочных эффектов. Во-вторых, активации p53 (немутантная форма) можно достичь путём избирательного ингибирования его взаимодействия с белком MDM2. С этой целью предложено использовать низкомолекулярные антагонисты MDM2, действие которых приводит к высвобождению p53 из-под негативного контроля со стороны MDM2, активации p53-зависимого регуляторного пути, остановке клеточного цикла с последующей индукцией апоптоза опухолевых клеток. На стадии клинических испытаний находятся два низкомолекулярных ингибитора MDM2 – JNJ-26854165 и RG7112. Первый из них является производным триптамина, а второй – аналогом нутлина-3 из группы *цис*-имидазолинов. Оба препарата пригодны для перорального приёма. Исследование переносимости и безопасности использования JNJ-26854165 и RG7112 в режиме монотерапии при солидных опухолях (а препарата RG7112 и при гемобластозах) продолжается. Следует отметить целесообразность комбинированного использования указанных препаратов с APR-246/PRIMA-1, что может существенно усилить терапевтический эффект последнего за счёт предотвращения MDM2-опосредуемой ингибиции активированной мутантной формы p53.

Весьма перспективным, на наш взгляд, представляется новое направление медикаментозного лечения онкологических больных, называемое

циклотерапией [55]. Оно основано на использовании препаратов, целенаправленно активирующих белок p53, что вызывает обратимую остановку митотического цикла в клетках нормальных тканей (но не в опухолевых клетках с мутациями гена *p53*), предотвращая тем самым неблагоприятное побочное действие противоопухолевых лекарственных средств.

3. МЕТОДЫ ВИЗУАЛИЗАЦИИ АПОПТОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК *IN VIVO*.

Для выявления и изучения клеток, находящихся в состоянии апоптоза, разработано множество разнообразных методов и их модификаций. Принимая во внимание тему нашего обзора, мы ограничимся анализом лишь тех методик, которые могут быть использованы в клинической практике для визуального контроля эффективности применения реактиваторов апоптоза непосредственно в организме больного. Прижизненную неинвазивную визуализацию апоптотических клеток можно осуществить с помощью томографических, спектроскопических и ультразвуковых технологий (см. [56]). Хотя пока что в онкологической клинике с этой целью не используется ни одна из указанных методик, по нашему мнению, наибольшие шансы завершения клинических испытаний и массового применения имеют однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронная эмиссионная томография (ПЭТ).

Метод ОФЭКТ позволяет получать трёхмерное изображение распределения γ -излучающих изотопов ^{133}Xe , ^{123}I или $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Выявление апоптотических клеток с помощью ОФЭКТ основано на визуализации молекул анионного липида фосфатидилсерина (которые экспонированы на поверхности апоптотических, но не интактных клеток) с помощью радиофармпрепарата, содержащего белок аннексин V. В 1998 г. были получены первые аннексиновые зонды, меченные $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [57]. Результаты клинических испытаний указанных радиофармпрепаратов свидетельствуют о хорошей переносимости процедуры их внутривенного введения и отсутствии побочных эффектов [58, 59]. Период полувыведения из организма $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -аннексина V составляет 62 ± 13 ч. Проведена вторая фаза клинических испытаний $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -НУНИС-аннексина V с целью визуализации апоптоза у 16 больных немелкоклеточным раком лёгкого после начала лечения комбинацией цисплатины и гемцитабина [60]. У 5 больных, которые оказались чувствительными к проведённой терапии (у одного наблюдался полный ответ, а у 4 – частичный), отмечено накопление меченого аннексина V в опухолевой ткани через 2 сут. после начала лечения. Вместе с тем, поглощения радиофармпрепарата клетками опухоли не отмечалось у 2 больных с прогрессированием заболевания. При проведении аналогичного исследования у 38 больных (лимфомы – у 31, немелкоклеточный рак лёгкого – у 4 и плоскоклеточный рак головы и шеи – у 3 больных) этими же авторами была установлена достоверная ($p < 0,0001$) корреляция между накоплением опухолевыми клетками $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -НУНИС-аннексина V и эффективностью проводимого лечения [61]. Важно отметить, что радиофармпрепарат накапливается в опухоли уже через 2 сут. после начала терапевтического воздействия, тогда как уменьшение размеров опухоли регистрируется значительно позже (4-8 нед.). Сведения о связывании аннексина V с клетками, погибающими путём некроза или аутофагии, свидетельствуют о том, что с помощью ОФЭКТ-технологии можно проводить комплексную оценку эффективности лекарственной или лучевой терапии, а не только определять уровень апоптоза в опухоли.

С помощью метода ПЭТ получают изображения анатомических структур на основе их физиологических или функциональных параметров. Это достигается путём внутривенного или ингаляционного введения позитрон-излучающих радиофармпрепаратов, которые включаются в биологические процессы. Наиболее часто в качестве метки используют изотоп фтора (^{18}F), для которого характерна стабильная эмиссия позитронов в период затухания, необходимая для получения чёткого изображения. Разработка новых молекулярных зондов для ПЭТ, в том числе низкомолекулярных амфипатических соединений, способных проникать через плазматическую мембрану апоптотических (но не интактных) клеток, позволяет использовать эту технологию для оценки индукции апоптоза у онкологических больных после проведения терапии. Например, методом ПЭТ с помощью радиофармпрепарата ^{18}F -ML-10 удалось зарегистрировать его накопление в метастазах головного мозга после проведения лучевой терапии. Причем такой эффект коррелирует с уменьшением размеров метастатических узлов, установленным спустя 2 мес. после проведения сцинтиграфии [62].

Наконец, для прогнозирования, оценки эффективности и мониторинга проводимой противоопухолевой терапии может быть успешно использован анализ показателей внеклеточных маркеров апоптоза. Наиболее распространёнными среди них считаются циркулирующие в кровотоке секретируемая форма рецептора Fas, цитохром c, фрагментированная нуклеосомная ДНК, цитокератин-18 после расщепления каспазами и ряд других биомолекул [63]. Концентрацию указанных внеклеточных маркеров апоптоза в сыворотке или плазме крови чаще всего определяют с помощью иммуноферментного анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Обобщая приведённый в обзоре материал, следует отметить, что одной из характерных черт опухолевых клеток является подавление апоптоза (как спонтанного, так и индуцированного), которое способствует прогрессии злокачественного процесса, а также развитию резистентности к противоопухолевой терапии. В последние годы были выявлены многочисленные дефекты на разных звеньях инициации и передачи апоптотического сигнала в опухолевых клетках. Существенный прогресс в раскрытии ключевых молекулярных механизмов потери чувствительности к апоптозу имеет немалый потенциал для практической онкологии. В частности, апоптоз-ассоциированные молекулы (интактные или такие, которые были повреждены) могут служить мишенями для новых терапевтических средств. Идея реактивации апоптоза в опухолевых клетках с помощью фармакологических препаратов (активаторов проапоптотических и ингибиторов антиапоптотических белков) и/или препаратов генонаправленного действия уже находит воплощение в разработке новых подходов к лечению больных с солидными опухолями или гемобластомами. Наиболее перспективными среди них считаются разнообразные комбинации реактиваторов апоптоза с традиционными противоопухолевыми препаратами и лучевой терапией. Есть надежда, что уже в ближайшее время следует ожидать появления в клинике не только принципиально новых схем противоопухолевой терапии, но и новых возможностей для неинвазивной объективной оценки эффективности такого лечения, что важно для индивидуализации противоопухолевой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Renahan A.G., Booth C., Potten C.S.* (2001) *Br. Med. J.*, **322**, 1536-1538.
2. *Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R.* (1972) *Br. J. Cancer*, **26**, 239-257.
3. *Фильченков А.А.* (2003) *Биомед. химия*, **49**, 333-359.
4. *Walczak H., Haas T.L.* (2008) *Methods Mol. Biol.*, **414**, 221-239.
5. *Philchenkov A.* (2004) *J. Cell. Mol. Med.*, **8**, 432-444.
6. *Özören N., El-Deiry W.S.* (2002) *Neoplasia*, **4**, 551-557.
7. *Pennarun B., Meijer A., de Vries E.G., Kleibeuker J.H., Kruijt F., de Jong S.* (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, **1805**, 123-140.
8. *Elias A., Siegelin M.D., Steinmüller A., von Deimling A., Lass U., Korn B., Müller W.* (2009) *Clin. Cancer Res.*, **15**, 5457-5465.
9. *Pal R., Srivastava N., Chopra R., Gochhait S., Gupta P., Prakash N., Agarwal G., Bamezai R.N.* (2010) *Mol. Cancer*, **9**, 303.
10. *Chamuleau M.E., Ossenkoppele G.J., van Rhenen A., van Dreunen L., Jirka S.M., Zevenbergen A., Schuurhuis G.J., van de Loosdrecht A.A.* (2011) *Leuk. Res.*, **35**, 741-749.
11. *Tauszig-Delamasure S., Bouzas-Rodriguez J.* (2011) *Expert Opin. Ther. Targets*, **15**, 847-858.
12. *Mille F., Thibert C., Fombonne J., Rama N., Guix C., Hayashi H., Corset V., Reed J.C., Mehlen P.* (2009) *Nat. Cell Biol.*, **11**, 739-746.
13. *Chipuk J.E., Moldoveanu T., Llambi F., Parsons M.J., Green D.R.* (2010) *Mol. Cell*, **37**, 299-310.
14. *Sinicrope F.A., Rego R.L., Okumura K., Foster N.R., O'Connell M.J., Sargent D.J., Windschitl H.E.* (2008) *Clin. Cancer Res.*, **14**, 5810-5818.
15. *Ionov Y., Yamamoto H., Krajewski S., Reed J.C., Perucho M.* (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 10872-10877.
16. *Mestre-Escorihuela C., Rubio-Moscardo F., Richter J.A., Siebert R., Climent J., Fresquet V., Beltran E., Agirre X., Marugan I., Marín M., Rosenwald A., Sugimoto K.J., Wheat L.M., Karran E.L., García J.F., Sanchez L., Prosper F., Staudt L.M., Pinkel D., Dyer M.J., Martinez-Climent J.A.* (2007) *Blood*, **109**, 271-280.
17. *Schile A.J., García-Fernández M., Steller H.* (2008) *Genes Dev.*, **22**, 2256-2266.
18. *Tamm I., Kornblau S.M., Segall H., Krajewski S., Welsh K., Kitada S., Scudiero D.A., Tudor G., Qui Y.H., Monks A., Andreeff M., Reed J.C.* (2000) *Clin. Cancer Res.*, **6**, 1796-1803.
19. *Marusawa H., Matsuzawa S., Welsh K., Zou H., Armstrong R., Tamm I., Reed J.C.* (2003) *EMBO J.*, **22**, 2729-2740.
20. *Kelly R.J., Lopez-Chavez A., Citrin D., Janik J.E., Morris J.C.* (2011) *Mol. Cancer*, **10**, 35.
21. *Mihara M., Erster S., Zaika A., Petrenko O., Chittenden T., Pancoska P., Moll U.M.* (2003) *Mol. Cell.*, **11**, 577-590.
22. *Hollstein M., Hergenhahn M., Yang Q., Bartsch H., Wang Z.Q., Hainaut P.* (1999) *Mutat. Res.*, **431**, 199-209.
23. *Ashkenazi A., Holland P., Eckhardt S.G.* (2008) *J. Clin. Oncol.*, **26**, 3621-3630.
24. *Herbst R.S., Eckhardt S.G., Kurzrock R., Ebbinghaus S., O'Dwyer P.J., Gordon M.S., Novotny W., Goldwasser M.A., Tohnya T.M., Lum B.L., Ashkenazi A., Jubb A.M., Mendelson D.S.* (2010) *J. Clin. Oncol.*, **28**, 2839-2846.
25. *Soria J.C., Smit E., Khayat D., Besse B., Yang X., Hsu C.P., Reese D., Wiezorek J., Blackhall F.* (2010) *J. Clin. Oncol.*, **28**, 1527-1533.

26. Maddipatla S., Hernandez-Ilizaliturri F.J., Knight J., Czuczman M.S. (2010) Clin. Cancer Res., **13**, 4556-4564.
27. Tolcher A.W., Mita M., Meropol N.J., von Mehren M., Patnaik A., Padavic K., Hill M., Mays T., McCoy T., Fox N.L., Halpern W., Corey A., Cohen R.B. (2007) J. Clin. Oncol., **25**, 1390-1395.
28. Hotte S.J., Hirte H.W., Chen E.X., Siu L.L., Le L.H., Corey A., Iacobucci A., MacLean M., Lo L., Fox N.L., Oza A.M. (2008) Clin. Cancer Res., **14**, 3450-3455.
29. Wakelee H.A., Patnaik A., Sikic B.I., Mita M., Fox N.L., Miceli R., Ullrich S.J., Fisher G.A., Tolcher A.W. (2010) Ann. Oncol., **21**, 376-381.
30. Herbst R.S., Kurzrock R., Hong D.S., Valdivieso M., Hsu C.P., Goyal L., Juan G., Hwang Y.C., Wong S., Hill J.S., Friberg G., LoRusso P.M. (2010) Clin. Cancer Res., **16**, 5883-5891.
31. Camidge D.R., Herbst R.S., Gordon M.S., Eckhardt S.G., Kurzrock R., Durbin B., Ing J., Tohny T.M., Sager J., Ashkenazi A., Bray G., Mendelson D. (2010) Clin. Cancer Res., **16**, 1256-1263.
32. Greco F.A., Bonomi P., Crawford J., Kelly K., Oh Y., Halpern W., Lo L., Gallant G., Klein J. (2008) Lung Cancer, **61**, 82-90.
33. Trarbach T., Moehler M., Heinemann V., Köhne C.H., Przyborek M., Schulz C., Sneller V., Gallant G., Kanzler S. (2010) Br. J. Cancer, **102**, 506-512.
34. Younes A., Vose J.M., Zelenetz A.D., Smith M.R., Burris H.A., Ansell S.M., Klein J., Halpern W., Miceli R., Kumm E., Fox N.L., Czuczman M.S. (2010) Br. J. Cancer, **103**, 1783-1787.
35. Mom C.H., Verweij J., Oldenhuis C.N., Gietema J.A., Fox N.L., Miceli R., Eskens F.A., Loos W.J., de Vries E.G., Sleijfer S. (2009) Clin. Cancer Res., **15**, 5584-5590.
36. Leong S., Cohen R.B., Gustafson D.L., Langer C.J., Camidge D.R., Padavic K., Gore L., Smith M., Chow L.Q., von Mehren M., O'Bryant C., Hariharan S., Diab S., Fox N.L., Miceli R., Eckhardt S.G. (2009) J. Clin. Oncol., **27**, 4413-4421.
37. Stern H.M., Padilla M., Wagner K., Amler L., Ashkenazi A. (2010) Clin. Cancer Res., **16**, 1587-1596.
38. Walczak H., Miller R.E., Ariail K., Gliniak B., Griffith T.S., Kubin M., Chin W., Jones J., Woodward A., Le T., Smith C., Smolak P., Goodwin R.G., Rauch C.T., Schuh J.C., Lynch D.H. (1999) Nat. Med., **5**, 157-163.
39. Griffith T.S., Broghammer E.L. (2001) Mol. Ther., **4**, 257-266.
40. Griffith T.S., Stokes B., Kucaba T.A., Earel J.K., Jr., VanOosten R.L., Brincks E.L., Norian L.A. (2009) Curr. Gene Ther., **9**, 9-19.
41. O'Brien S., Moore J.O., Boyd T.E., Larratt L.M., Skotnicki A.B., Koziner B., Chanan-Khan A.A., Seymour J.F., Gribben J., Itri L.M., Rai K.R. (2009) J. Clin. Oncol., **27**, 5208-5212.
42. Liu G., Kelly W.K., Wilding G., Leopold L., Brill K., Somer B. (2009) Clin. Cancer Res., **15**, 3172-3176.
43. Ready N., Karaseva N.A., Orlov S.V., Luft A.V., Popovych O., Holmlund J.T., Wood B.A., Leopold L. (2011) J. Thorac. Oncol., **6**, 781-785.
44. Talbot D.C., Ranson M., Davies J., Lahn M., Callies S., André V., Kadam S., Burgess M., Slapak C., Olsen A.L., McHugh P.J., de Bono J.S., Matthews J., Saleem A., Price P. (2010) Clin. Cancer Res., **16**, 6150-6158.
45. Dean E., Jodrell D., Connolly K., Danson S., Jolivet J., Durkin J., Morris S., Jowle D., Ward T., Cummings J., Dickinson G., Aarons L., Lacasse E., Robson L., Dive C., Ranson M. (2009) J. Clin. Oncol., **27**, 1660-1666.

46. Carrasco R.A., Stamm N.B., Marcusson E., Sandusky G., Iversen P., Patel B.K. (2011) *Mol. Cancer Ther.*, **10**, 221-232.
47. Rödel F., Frey B., Leitmann W., Capalbo G., Weiss C., Rödel C. (2008) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **71**, 247-255.
48. Flygare J.A., Fairbrother W.J. (2010) *Expert Opin. Ther. Patents*, **20**, 251-267.
49. Kluger H.M., McCarthy M.M., Alvero A.B., Sznol M., Ariyan S., Camp R.L., Rimm D.L., Mor G. (2007) *J. Transl. Med.*, **5**, 6.
50. Silasi D.A., Alvero A.B., Rutherford T.J., Brown D., Mor G. (2009) *Expert Opin. Pharmacother.*, **10**, 1059-1067.
51. Kelly M.G., Mor G., Husband A., O'Malley D.M., Baker L., Azodi M., Schwartz P.E., Rutherford T.J. (2011) *Int. J. Gynecol. Cancer* **21**, 633-639.
52. Nemunaitis J., Clayman G., Agarwala S.S., Hrushesky W., Wells J.R., Moore C., Hamm J., Yoo G., Baselga J., Murphy B.A., Menander K.A., Licato L.L., Chada S., Gibbons R.D., Olivier M., Hainaut P., Roth J.A., Sobol R.E., Goodwin W.J. (2009) *Clin. Cancer Res.*, **15**, 7719-7725.
53. Swisher S.G., Roth J.A., Komaki R. et al. (2003) *Clin. Cancer Res.*, **9**, 93-101.
54. Yoo G.H., Moon J., Leblanc M., Lonardo F., Urba S., Kim H., Hanna E., Tsue T., Valentino J., Ensley J., Wolf G. (2009) *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, **135**, 869-874.
55. Blagosklonny M.V., Darzynkiewicz Z. (2002) *Cell Cycle*, **1**, 375-382.
56. Фильченков А.А., Залесский В.Н. (2003) *Медицинская визуализация*, №3, 126-132.
57. Blankenberg F.G., Katsikis P.D., Tait J.F., Davis R.E., Naumovski L., Ohtsuki K., Kapiwoda S., Abrams M.J., Darkes M., Robbins R.C., Maecker H.T., Strauss H.W. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 6349-6354.
58. Kemerink G.J., Liem I.H., Hofstra L., Boersma H.H., Buijs W.C., Reutelingsperger C.P., Heidendal G.A. (2001) *J. Nucl. Med.*, **42**, 382-387.
59. Belhocine T., Steinmetz N., Hustinx R., Bartsch P., Jerusalem G., Seidel L., Rigo P., Green A. (2002) *Clin. Cancer Res.*, **8**, 2766-2774.
60. Kartachova M., van Zandwijk N., Burgers S., van Tinteren H., Verheij M., Valdés Olmos R.A. (2007) *J. Clin. Oncol.*, **25**, 2534-2539.
61. Kartachova M.S., Valdés Olmos R.A., Haas R.L., Hoebbers F.J., van Herk M., Verheij M. (2008) *Nucl. Med. Commun.*, **29**, 39-44.
62. Reshef A., Shirvan A., Akselrod-Ballin A., Wall A., Ziv I. (2010) *J. Nucl. Med.*, **51**, 837-840.
63. Beachy S.H., Repasky E.A. (2008) *Cancer Immunol. Immunother.*, **57**, 759-775.

Поступила: 31. 08. 2011.

APOPTOSIS-REACTIVATING AGENTS FOR TARGETED ANTICANCER THERAPY

A.A. Philchenkov

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, ul. Vasyl'kivska, 45, Kyiv, 03022 Ukraine;
fax: (+38-044) 258-16-56; e-mail: apoclub@i.ua

The current knowledge on molecular mechanisms of apoptosis is presented focusing on the key elements of the extrinsic death receptor pathway as well as the intrinsic mitochondrial pathway. Disregulation of apoptotic pathways is considered as a key factor in the survival of cancer cells in response to conventional chemotherapeutic drugs or radiation therapy. Substances that selectively reactivate apoptosis in malignant cells are the promising candidate anticancer drugs, which have now entered various phases of clinical trials. The up-to-date techniques allowing for non-invasive *in vivo* visualization of apoptotic cells with special reference to therapy-induced cell death are briefly surveyed.

Key words: apoptosis, targeted therapy, cancer patients, clinical trials, single photon emission computed tomography, positron emission tomography, extracellular markers of apoptosis.