

УДК 547.426.2.057
©Коллектив авторов

АЛКИЛЬНЫЕ ГЛИЦЕРОЛИПИДЫ – МОДУЛЯТОРЫ ГИБЕЛИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

С.Г. Романова^{1}, В.Г. Романов¹, Г.А. Серебrenникова¹, А.А. Штиль²*

¹Московская государственная академия тонкой химической технологии
им. М.В. Ломоносова, 117571, Москва, просп. Вернадского, 86;
эл. почта: gomfill@mail.ru

²ГУ Российский Онкологический Научный Центр им. Н.Н. Блохина РАМН,
115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Обзор посвящен современному состоянию исследований биологической активности и поиску противоопухолевого механизма действия в ряду глицеролипидов с простой эфирной связью. На основании экспериментальных статей, опубликованных в последнее десятилетие, в обзоре рассматриваются вопросы, касающиеся селективной способности фосфоросодержащих алкильных глицеролипидов в отношении неопластических клеток, на примере известного препарата эдельфозина и его аналогов. Обзор содержит совокупность сведений, известных на сегодняшний день из литературы, о возможном механизме цитотоксического действия таких соединений.

Ключевые слова: алкильные глицеролипиды, эдельфозин, противоопухолевая активность, апоптоз.

ВВЕДЕНИЕ. Клеточный гомеостаз в тканях и органах любого многоклеточного организма поддерживается за счет динамического равновесия между процессами пролиферации, дифференцировки, старения и отмирания клеток. Долгое время гибель отдельной клетки рассматривалась лишь как результат ее старения или случайного повреждения. Однако в последние годы было установлено, что деструктивные процессы, не совместимые с жизнедеятельностью клеток, могут развиваться не только при их пассивной смерти (некрозе), но и при физиологической гибели, когда активация специальных внутриклеточных механизмов приводит к самостоятельной ликвидации клеток. Открытие феномена самоликвидации клеток животных и человека стало поистине революционным и позволило пересмотреть представления не только о механизмах регуляции клеточного гомеостаза в различные периоды онтогенеза, но и значение их нарушений при развитии широкого круга заболеваний, включая злокачественные новообразования [1].

Принятые сокращения: Эдельфозин - (1-О-октадецил-2-О-метил-*rac*-глицеро-3-фосфохолин, Edelfosine, ET-18-OMe); TNF - фактор некроза опухоли; FADD - (Fas-ассоциированный, содержащий домен клеточной гибели протеин сигнального комплекса, индуцирующего апоптоз (DISC); рецепторы смерти (death receptors, DR), такие как CD95 непосредственно индуцируют активацию каспазы-8 внутри олигомерного сигнального комплекса DISC (death inducing signaling complex), состоящего из кластеризованных рецепторов, молекулярного адаптора FADD (Fas-associated death domain); PDL – peripheral blood leukocytes.

* - адресат для переписки

Недостаток селективности существующих антипролиферативных противоопухолевых агентов сказывался на величине терапевтического индекса, (соотношении максимальной допустимой дозы к минимальной эффективной дозе), что выражалось на практике существованием недостаточно эффективных лекарственных препаратов. В области природной и синтетической химии непрерывно ведутся работы, связанные с получением и исследованием более новых, соответствующих современным требованиям, терапевтических агентов для химиотерапии.

Эра химиотерапии наступила с началом использования многофункциональных агентов алкилирования в начале 1940-х годов [2]. С тех пор, широкий спектр противоопухолевых агентов стал доступным, причём большинство новых соединений способно влиять не только на клеточный рост, но и на процессы деления клеток, оказывая цитостатическое и цитотоксическое действие [3]. Многие из применяемых препаратов, приобрели свойства селективности по отношению к раковым клеткам, не затрагивая практически при этом нормальные клетки тканей. Эффективность лекарственных средств во многом зависит и от самих опухолевых клеток, их типа, это означает, что морфологические особенности клеток также важно учитывать при использовании тех или иных препаратов.

Действие большинства химиотерапевтических агентов построено на индукции процессов апоптоза в клетке. Активными инициаторами апоптотической гибели опухолевых клеток являются алкильные глицеролипиды, в частности известный препарат эдельфозин и его фосфорсодержащие и бесфосфорные аналоги. Эти соединения оказывают цитостатическое и цитотоксическое действие на ряд раковых клеток, однако, несмотря на интенсивные исследования в этой области и на выявление ключевых моментов запуска апоптоза, сам механизм их действия до сих пор до конца не ясен.

1. МЕХАНИЗМЫ ЗАПУСКА АПОПТОЗА.

Выявлено, что под воздействием рассматриваемого класса веществ, обладающих биологической активностью, в ряде случаев при обработке клеток соответствующими концентрациями соединений в них могут индуцироваться процессы, приводящие к клеточной гибели, апоптозу или некрозу. Для эдельфозина (1-О-октадецил-2-О-метил-*rac*-глицеро-3-фосфохолин, Edelfosine, ET-18-OMe) (рис. 1) и ему подобных соединений гибель клеток сводится к апоптозу [3, 4].

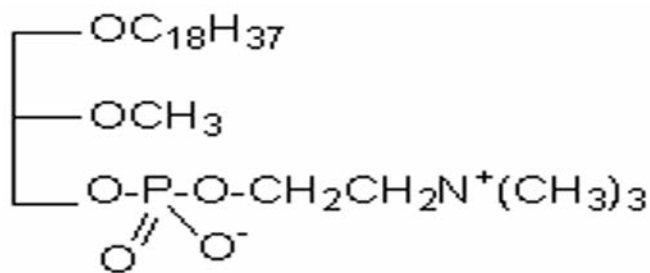


Рисунок 1.

Структурная формула Эдельфозина, Et-18-OMe.

На молекулярном уровне апоптоз представляет собой сложный каскад реакций, связанных с экспрессией определённых генов и белков, участием протеаз, протеинкиназ и эндонуклеаз; конечным результатом такого процесса является дезинтеграция клетки с образованием апоптотических телец. Путь передачи сигнала запрограммированной клеточной смерти схематически можно изобразить цепочкой событий: индукторы → рецепторы → адапторы → иницирующие каспазы (каспазы первого эшелона) → регуляторы → эффекторные каспазы (каспазы второго эшелона) (рис. 2).



Рисунок 2.

Схема индукции апоптоза в опухолевых клетках.

Канцеротоксические свойства многих химических препаратов основаны на способности повреждать клеточный геном, приводя к накоплению мутаций в определенных генах, однако, известно, что природа действия эдельфозина и его структурных аналогов – бесфосфорных катионных глицеролипидов носит немутагенный характер [5].

В противостоянии внешним воздействиям клетка имеет особые защитные механизмы, то есть характеризуется наличием апоптотического порога. По сути, он является порогом чувствительности или порогом восприятия внешних изменений для клетки. Опухолевые клетки в некоторых случаях могут противостоять процессам, приводящим к клеточной гибели или же, наоборот, могут способствовать молекулярным процессам, которые приводят к их собственной смерти. Блокируя определённые типы клеточных рецепторов и инактивируя/активируя определённые сигнальные молекулы клеток можно добиться снижения порога их чувствительности или, наоборот, усилить их резистентность к тому или иному препарату, выработав у клеток множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) [6].

1.1. Клеточный захват препаратов.

Необходимым условием для выявления какой-либо биологической активности является первоочередной процесс клеточного захвата [2]. Существуют многочисленные доказательства в пользу того, что апоптоз может инициироваться под действием как внутриклеточных, так и внеклеточных факторов. Инициация внутриклеточных механизмов апоптоза происходит в результате связывания определенных лигандов (“лиганды смерти”) со своими специфическими рецепторами, либо когда вследствие дефицита экзогенных лигандов (факторы выживания клеток, компоненты внеклеточного матрикса и др.) не происходит активации рецепторов, ответственных за передачу сигналов, необходимых для выживания клеток. Наиболее распространённым и, следовательно, изученным механизмом рецепторопосредованной инициации апоптоза является связывание “лигандов смерти” семейства фактора некроза опухоли (TNF) или других семейств (TRAIL, FAS) с рецепторами плазматической мембраны.

ГЛИЦЕРОЛИПИДЫ - МОДУЛЯТОРЫ ГИБЕЛИ РАКОВЫХ КЛЕТОК

В случае эдельфозина – яркого представителя класса алкильных глицеролипидов было доказано, что активация рецепторов происходит по классическому пути связывания лигандов с рецепторами, здесь в роли лигандов выступает сам биологически активный липид (рис. 3). Причём, как оказалось, эдельфозин является одним из немногих препаратов, способных активно снижать порог чувствительности опухолевых клеток, при этом он обладает избирательностью действия (не затрагивает нормальные клетки повреждённых тканей, рис. 4) [2, 7] и характеризуется высокой степенью клеточной аккомодации в опухолевых тканях.

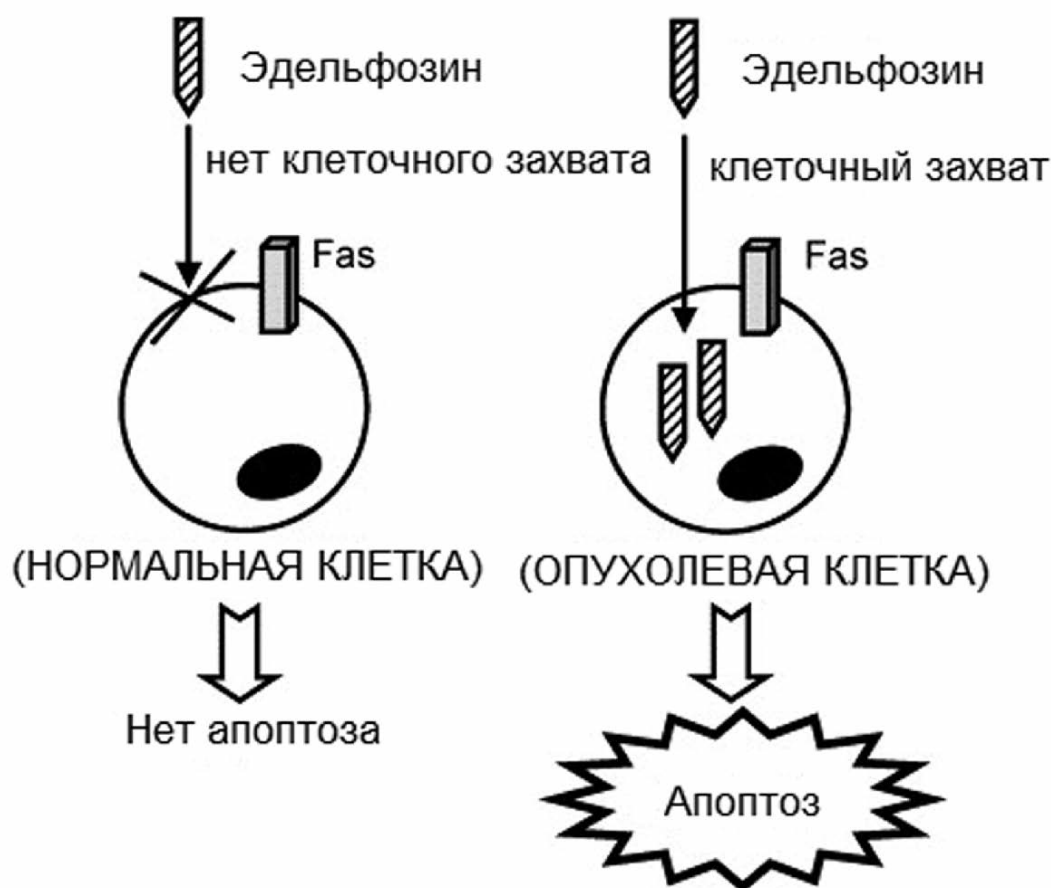


Рисунок 3.

Картина селективного клеточного захвата препарата эдельфозина опухолевыми клетками.

Рисунок адаптирован из работы авторов [2].

От величины клеточного захвата зависят в общей сложности цитотоксические показатели потенциального противоопухолевого агента. Так, исследовав некоторые клеточные линии опухолевых клеток (при инкубации с эдельфозином, 3 мкг/мл), было замечено, что способность к индукции апоптоза у них различная и, что она коррелирует с величиной клеточного захвата.

Наиболее выраженный клеточный захват эдельфозина был отмечен для культуры А-431. В случае нормальных клеток крови человека (PBL) внутриклеточный захват оказался минимальным и способность индуцировать апоптоз практически полностью отсутствовала, что подтверждает сведения о селективности препарата, рисунок 4. Данные по нормальным клеткам человека и опухолевым клеткам различных линий нашло подтверждение в работах F. Mollinedo и др., рисунок 5 [7, 12].

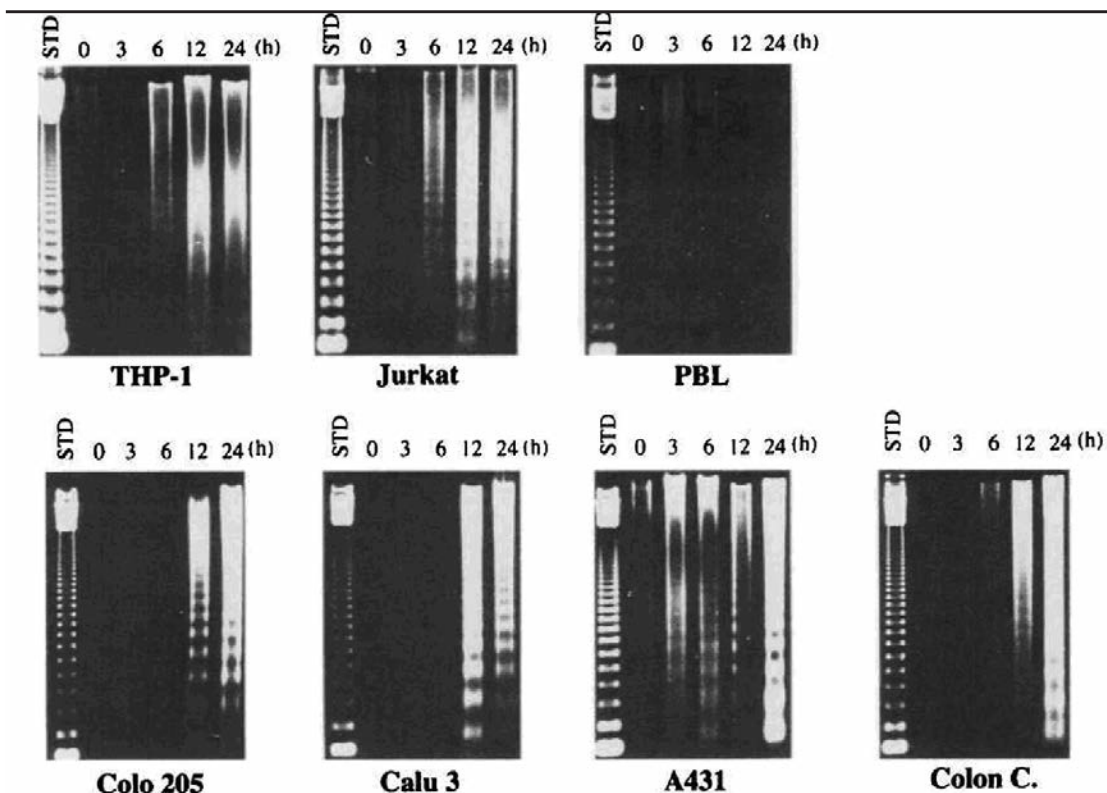


Рисунок 4.

Влияние эдельфозина в концентрации 3 мг/мл на индукцию апоптоза в клетках. В эксперименте представлены нормальные клетки человека (PBL) и различные линии опухолевых клеток.

Линии клеток аденокарциномы легких (Calu 3) и рака толстой кишки (Colo 205) в меньшей степени подвержены эффекту апоптоза, в то же время цитотоксическое действие эдельфазина для клеток PBL зафиксировано не было. Эксперимент подтверждает селективные свойства препарата.

Рисунок адаптирован из работы [7]. THP-1 клетки острой моноцитной лейкемии человека;

Jurkat T-клетки острой человеческой лейкемии; Colo-205 и Colon C раковые клетки толстой кишки человека; Calu-3 клетки аденокарциномы лёгких человека; A-431 раковые эпидермальные клетки человека; PBL лимфоциты крови человека.

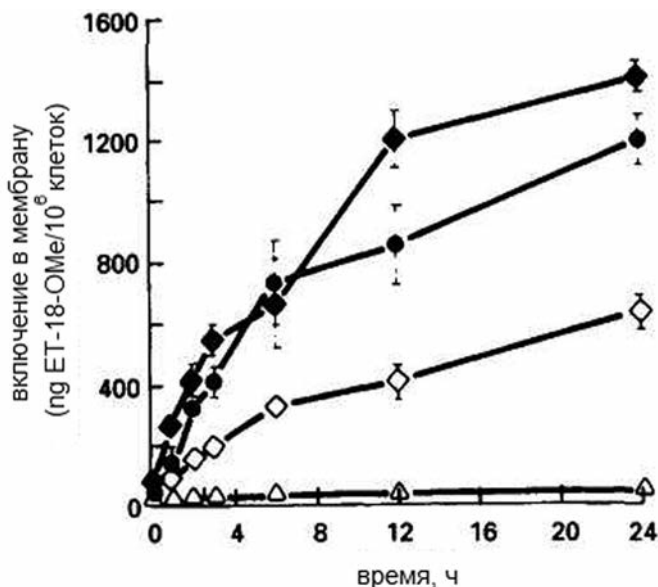


Рисунок 5.

Проникновение ET-18-ОСНЗ в различные лейкемические клетки человека, а также в PBL клетки.

Обозначения: (◆) клетки миелоидной лейкемии человека U937; (●) клетки HL60; (◇) клетки лимфоидной лейкемии Jurkat; (△) клетки PBLs. Клеточные культуры инкубировали в течение 6 ч при концентрации эдельфозина 3 мг/мл. Рисунок адаптирован из работ [7, 12].

1.2. Порог чувствительности клеток.

Эксперименты показывают, что цитотоксическое действие липидов с простой эфирной связью очень специфично для разных опухолевых клеток, также как и внутриклеточный захват липидов. Оба этих фактора зависят от состояния клетки, от степени перерождения нормальной клетки в злокачественную и, конечно, от структуры и свойств применяемого химического агента.

Наглядным примером изучения порога чувствительности может служить клеточная линия опухолевых клеток 3T3 (фибробластоидные клетки), известная своей резистентностью к действию многих препаратов, в том числе и к эдельфозину. На рисунке 6а показан внутриклеточный захват препарата и видно, что его величина ничтожно мала.

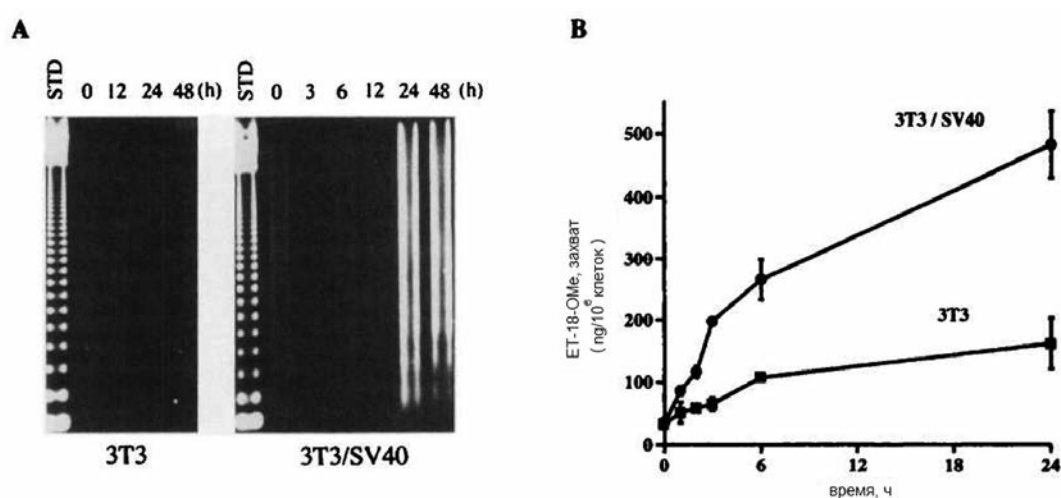


Рисунок 6.

Динамика клеточного захвата препарата эдельфозина. В эксперименте использовались клетки мышинных фибробластов 3T3 и их трансформированная линия 3T3/SV40. Рисунок и комментарии адаптированы из работы [7].

STD - стандарт (картина фрагментированной ДНК A-123-bp в виде лестницы); фибробласты линии 3T3 обладали резистентными свойствами к действию эдельфозина и величина клеточного захвата была незначительной даже при длительном инкубировании клеток с липидом, в то же время чувствительность трансформированных клеток оказалась значительно высокой и величина клеточного захвата весьма существенной даже после 3-х часовой инкубации.

Экспериментальные данные свидетельствуют о специфичности действия препарата.

При трансформации клеток с вирусом SV 40, чувствительность клеток к эдельфозину резко возросла, о чём свидетельствуют данные, представленные на рисунке 6б. Наличие SV 40 способствует связыванию препарата с Fas-рецепторами на поверхности 3T3 клеток.

Различного рода мутации опухолевых клеток повышают порог их чувствительности к внешним воздействиям, обеспечивая иммунитет и высокую способность к выживанию в неблагоприятных условиях, в то время как действие многих синтетических соединений построено на том, что они, обладая селективными цитотоксическими свойствами способны преодолеть необходимые барьеры и вызвать апоптоз раковых клеток [8, 9].

2. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ПРОЦЕССЫ АКТИВАЦИИ.

Эдельфозин и другие представители класса алкиллизофосфолипидов и их бесфосфорных производных отличаются от классических химиотерапевтических агентов по их первичной цели действия, которой является плазматическая мембрана, а не ДНК. Особенности химического строения липидов позволяет им легко встраиваться в плазматическую мембрану, вызывая (за счёт определённых процессов) лизис клетки [10].

Многие глицеролипиды оказывают селективное ингибирующее действие на пролиферацию опухолевых клеток различных твёрдых опухолей и лейкоemий [11]. Однако, из-за того, что терапевтическая концентрация этих соединений обычно довольно близка к критической концентрации мицеллообразования (10^{-6} М), довольно трудно различить специфические цитотоксические эффекты от неспецифических взаимодействий, таких, например, как литическое разрушение клеточной мембраны. Это ограничение было разрешено благодаря стойкому проапоптотическому эффекту, который наблюдался на опухолевых клетках под воздействием эдельфозина – прототипа синтетических противоопухолевых липидов с простой эфирной связью [3]. Селективность действия препарата объясняется особенностью неопластических клеток, предрасположенных к акту клеточного захвата в большей степени, чем это характерно для обычных клеток [12]. Однако, молекулярные механизмы, включённые в эти процессы, также как и антинеопластическое действие и антипаразитарная активность многих известных соединений пока нуждаются в разьяснении.

В случае эдельфозина установлено, что процесс проникновения препарата в клетку происходит за счёт рецептор-опосредованного эндоцитоза, а сам механизм начинается с активации специфических рецепторов (FAS), расположенных на поверхности плазматической мембраны клеток [13].

2.1 Рецепторы и лиганды клеточной гибели.

“Рецепторы клеточной гибели”, расположенные на поверхности клетки, представляют собой подсемейство в составе 26-членного семейства рецепторов TNF (фактора некроза опухоли), для активации апоптоза необходим цитоплазматический домен. Это семейство у млекопитающих включает рецептор-1 TNF-альфа (TNFR1), p75-нейротрофин-рецептор (p75 NTR), Fas, рецептор TNF-альфа-связанного апоптоз-индуцирующего лиганда (DR4), рецептор клеточной гибели-3 (DR3), - 5(DR5), -6 (DR6). В большинстве случаев активация рецепторов клеточной гибели с помощью их лигандов вызывает тримеризацию рецептора и образование на цитоплазматической поверхности клеточной мембраны сигнального комплекса, индуцирующего апоптоз (DISC). Затем домены тримеризованного рецептора координируют взаимодействие цитоплазматического участка каждого рецептора с адаптором FADD (Fas-ассоциированный, содержащий домен клеточной гибели протеин, Fas-associated death domain). Fas часто вовлекает зимогенную форму проапоптотической цистеиновой протеазы – каспазы-8, для дополнения DISC. Автопроцессинг прокаспазы-8 в её активную форму приводит к быстрому иницированию клеточной гибели.

Рецепторы смерти (death receptors, DR), такие как CD95, непосредственно индуцируют активацию каспазы-8 внутри олигомерного сигнального комплекса DISC (death inducing signaling complex), состоящего из кластеризованных рецепторов, молекулярного адаптора FADD и прокаспазы-8 [14]. Во многих случаях при помощи протеолитического расщепления клеточная каспаза-8 активирует каскад эффекторных каспаз, начиная с каспазы-3. Однако, в клетках с низким исходным уровнем активированной каспазы-8 может происходить параллельный процесс, связанный с расщеплением проапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-X_L. Данные белки замедляют процесс наступления апоптоза за счёт формирования апотосом и, каскад эффекторных каспаз запускается позже, в результате наблюдается явление позднего апоптоза.

2.2. FAS рецепторы.

При попытке раскрыть специфику механизма клеточной гибели под воздействием фосфохолиновых препаратов, в частности эдельфозина, было показано, что инициация апоптоза происходит из-за селективного процесса аккумуляции препарата в липидных рафтах опухолевых клеток, что сопровождается их соагрегацией с DR различных семейств: TRAIL и TNF – при некрозе и FAS (известных также под названием APO-1, или CD95) – при апоптозе. В последнем случае соагрегация вызывает активный транспорт апоптотических сигнальных молекул в сторону формирующихся рафтов, обогащённых FAS-рецепторами [15] (рис. 7).

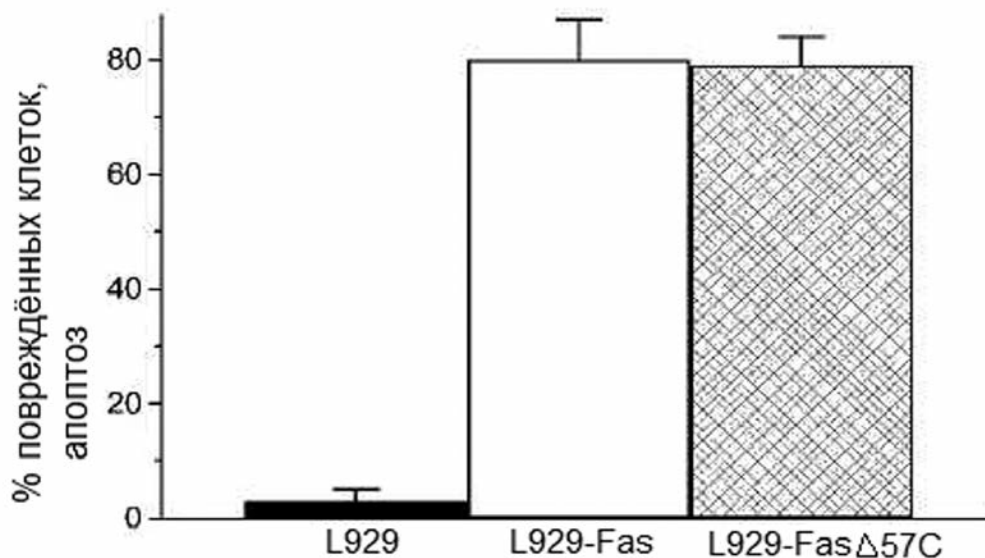


Рисунок 7.

Высокая экспрессия рецепторов Fas отмечалась для клеток L929-Fas и L929-FasΔ57C и почти полностью она отсутствовала для клеток L929-дикого типа. Рисунок адаптирован из работы [8].

Для установления роли в эдельфозин-индуцируемой клеточной гибели рецепторов других семейств (например, TRAIL и TNF, расположенных также на поверхности цитоплазматической мембраны) был проведён показательный эксперимент на клеточной линии фибросаркомы мыши L929 [8, 16].

Сами клетки L929 характеризуются дефицитом Fas-рецепторов на своей поверхности, однако, при их трансфицировании геном pKEX-2-XR линия L929-Fas приобретает способность к сверхэкспрессии Fas. Промежуточной формой между клеточными линиями L929-дикого типа и L929-Fas, характеризующимися противоположными свойствами, стала модифицированная линия клеток L929 с частичной способностью к экспрессии Fas (L929-FasΔ57C), это клетки, у которых Fas белок лишён 57-ой COOH-концевой аминокислоты (усечённая экспрессия) (рис. 7).

Все три клеточные линии L929, L929-Fas, L929-FasΔ57C были одинаково чувствительны к рецепторам смерти других групп: TNF и TRAIL (рис. 8).

Наличие или отсутствие способности к экспрессии именно FAS рецепторов для тестируемых линий по-разному сказывалось на их апоптотическом ответе при введении токсического препарата. Так, было показано, что при обработке клеток эдельфозином (рабочая концентрация - 10 ммоль/л) апоптоз наблюдался лишь для клеток L929-Fas (зелёная окраска апоптотических ядер, рис. 8). Исследования проводили методом конфокальной микроскопии с предварительной фиксацией и прокрашиванием клеточной субстанции родамин-меченным декстраном (красная флуоресцирующая окраска). В то же время было показано, что линия L929 и трансфицированные клетки L929-FasΔ57C оставались резистентными к действию препарата (рис. 9).

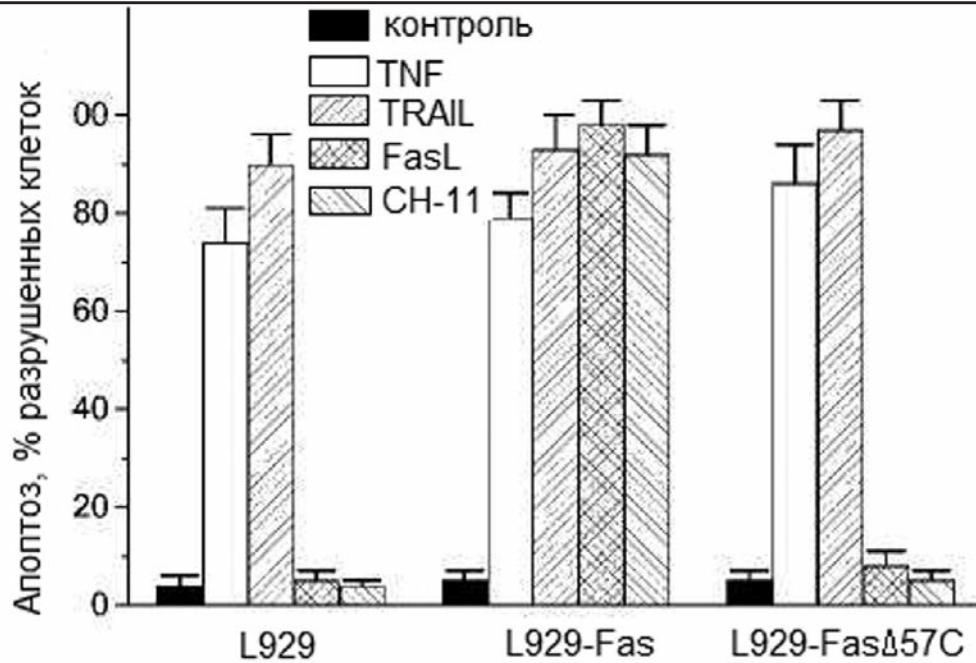


Рисунок 8.

Чувствительность клеточных линий L929, L929-Fas и L929-FasΔ57C к некоторым типам рецепторов плазматической мембраны. Рисунок адаптирован из работы [8].

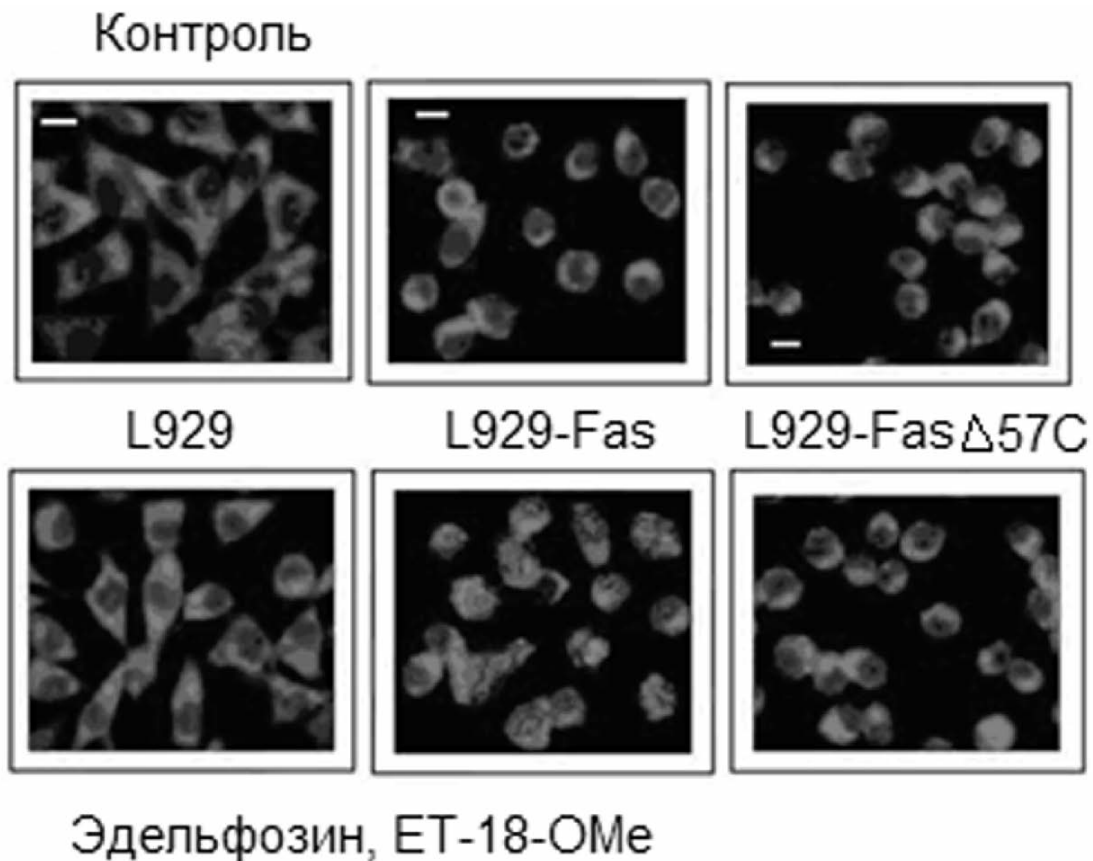


Рисунок 9.

Конфокальная микроскопия культуры клеток L929*. Контроль и клетки обработанные эдельфозином (10 ммоль; 24 часа, 37°C) [8]. L929 - крысиные фибробласты; L929-Fas - крысиные фибробласты с дефицитом Fas-рецепторов на своей поверхности; L929-FasΔ57C - клетки с частичной способностью к экспрессии Fas.

Полученные данные свидетельствуют о том, что FAS-рецепторы являются специфическими для действия эдельфозина, им отводится ключевая роль в активации апоптотического процесса в клетках.

Таким образом, было установлено, что клеточный захват липидов осуществляется избирательно, за счёт рецептор-опосредуемого эндоцитоза, при участии FAS-рецепторов в отсутствии конкуренции связывания. Обобщая эти и другие исследовательские данные, были сформулированы некоторые этапы внутриклеточного механизма действия:

(1) селективное проникновение препарата в липидные рафты клетки, приводящее к их кластеризации; (2) внутриклеточная активация FAS; (3) миграция сигнальных молекул в область скопления рецепторов FAS (в липидные рафты, обогащённые специфическими рецепторами) с образованием кластеров [17].

Этот уникальный способ действия липидов с простой эфирной связью иллюстрирует первое использование рафт-зависимой внутриклеточной активации механизма смерти раковых клеток в химиотерапии рака, что представляет интерес в качестве нового подхода к созданию противоопухолевых агентов. Очевидно, что для внутриклеточной активации FAS-рецепторов должны быть учтены следующие моменты:

(а) эдельфозин или его аналог должен быть внедрён внутрь клетки посредством встраивания в каркас плазматической мембраны для того, чтобы активизировать FAS и вызывать апоптоз;

(б) частичное удаление внутриклеточной области FAS блокирует эдельфозин-опосредуемый апоптоз;

(с) клетки, чувствительные к эдельфозину, приобретают по отношению к нему резистентные свойства при отсутствии FAS.

2.3. Липидные рафты.

В 1997 году появилась теория о существовании “липидных, или мембранных рафтов”. Липидная мембрана, согласно этой теории, представлялась не однородной и не инертной, а динамичной, постоянно изменяющейся средой, чутко реагирующей на все события, происходящие внутри и вокруг клетки [18]. Теория, просуществовавшая несколько лет, нашла своё практическое подтверждение.

Так, на сегодняшний день достоверно известно, что плазматическая мембрана состоит из микродоменов (динамических ансамблей холестерина и сфинголипидов) называемых мембранными рафтами [19]. Важным свойством мембранных рафтов является то, что они способны к интеграции и дезинтеграции белковых молекул различной величины. Мембранные рафты также служат центрами активации и мобилизации процесса передачи сигналов специальными сигнальными молекулами клетки – так они участвуют в механизме запуска различных молекулярных процессов.

Для эдельфозина (также как и для аплидина, рис. 10) было показано, что апоптотическая реакция клетки в ответ на действие препарата наступает при внутриклеточной активации Fas/CD95 рецептора смерти, независимо от его лиганда FasL [18, 20]. Для молекулярной медицины рафты стали недостающим звеном в понимании механизма многих внутриклеточных процессов.

2.4. Сигнальные молекулы и каскады событий.

С момента активации внешних клеточных рецепторов в общий механизм действия включаются различные сигнальные молекулы, возбуждая передачу импульса (рис. 11).

При воздействии на опухолевые клетки цитотоксического препарата возможно следующее: (А) индукция синтеза Fas-лигандов, связывание лигандов с рецепторами, уничтожение опухолевых клеток по аутокринному и/или паракринному механизму. (В) индукция процесса Fas-кластеризации в липидных рафтах, инициация активного транспорта сигнальных молекул; (С) индукция процесса кластеризации Fas и Fas-лигандов в липидных рафтах, активация транспорта сигнальных молекул; взаимодействие соответствующих пар: рецептор-лиганд между соседними опухолевыми клетками; апоптоз [10, 21].

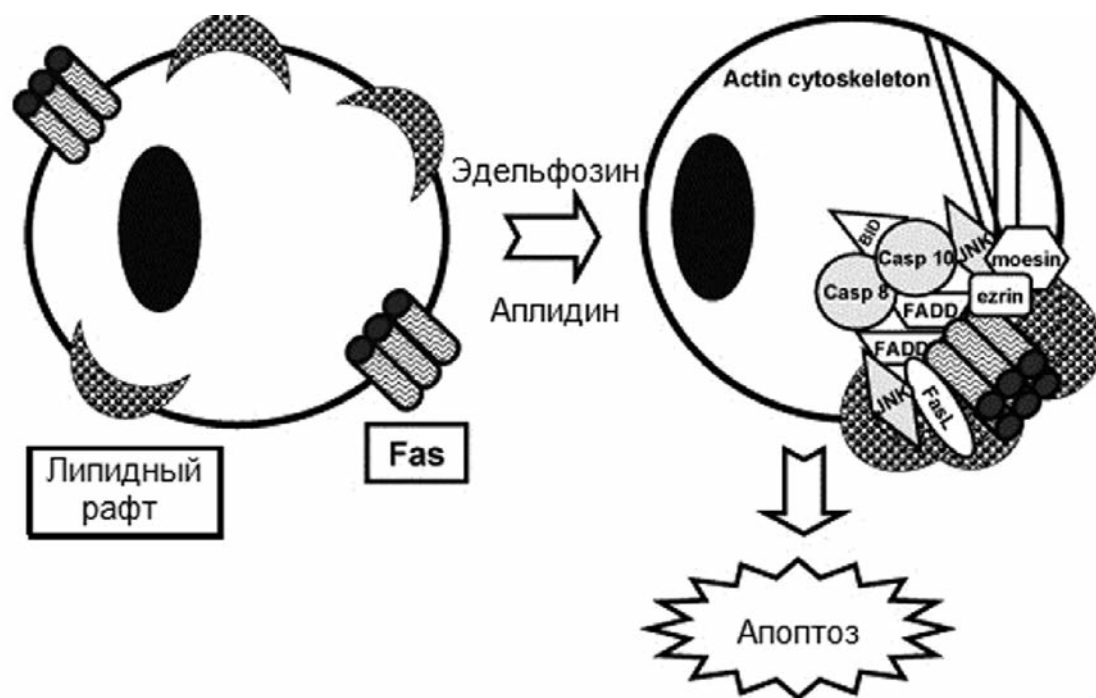


Рисунок 10.

Схема внутриклеточной активации апоптоза под воздействием интегрированного в мембранные рафты эдельфозина. Рисунок адаптирован из работы [18].

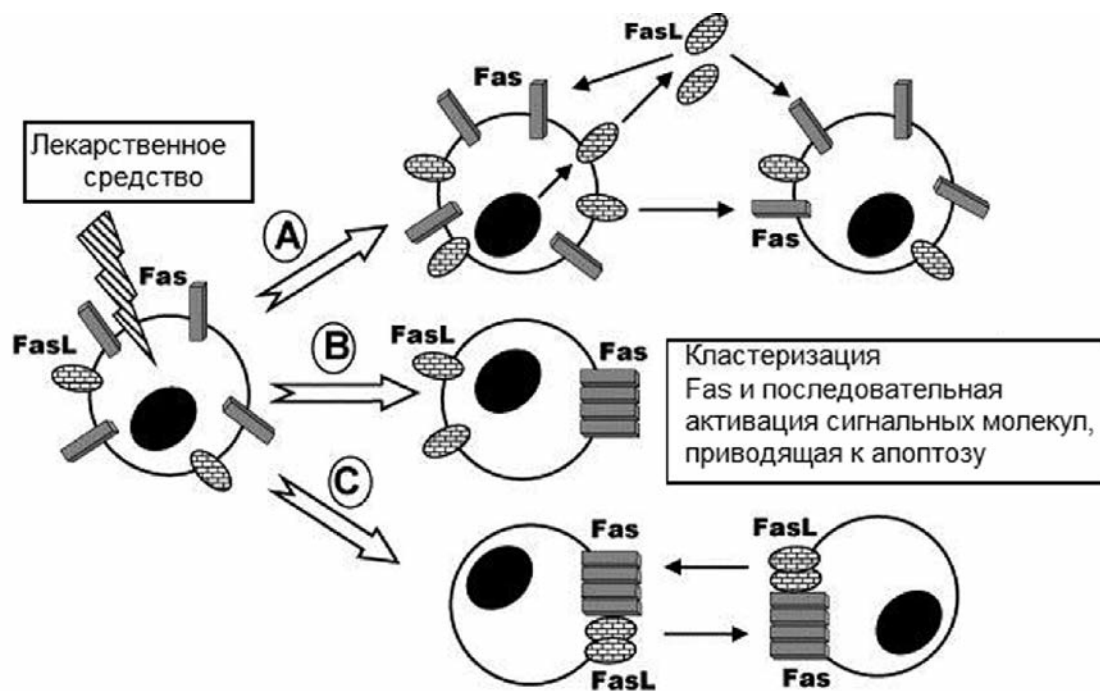


Рисунок 11.

Схема участия сигнальных молекул в механизме вызова апоптоза, инициированного через рецептор-опосредованный (Fas/FasL) эндоцитоз. Рисунок адаптирован из работы [10].

ГЛИЦЕРОЛИПИДЫ - МОДУЛЯТОРЫ ГИБЕЛИ РАКОВЫХ КЛЕТОК

Внутри самой клетки есть сайты как возбуждения, так и торможения сигнала. Общая схема инициации апоптоза, представленная на рисунке 12, начинается с рассмотрения процесса активации Fas-рецепторов.

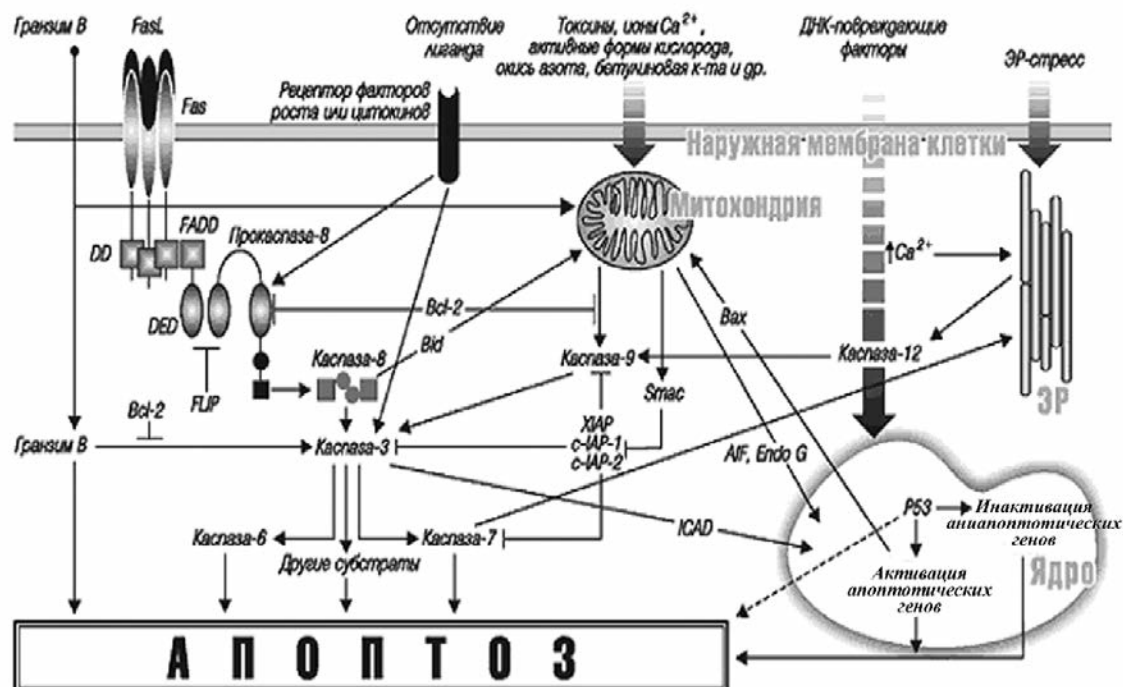


Рисунок 12.

Внутриклеточные механизмы активации и блокирования апоптоза.

Рисунок адаптирован из работы [16]. AIF - апоптозиндуцирующий фактор; Bid - проапоптотический белок семейства Bcl-2; cIAP-1 и cIAP-2 - ингибиторы апоптоза IAP-семейства;

DD - "домен смерти"; DED - "эффекторный домен смерти"; Endo G - эндонуклеаза G;

FADD - Fas-ассоциированный белок; FLIP - FLICE-ингибиторный белок; ICAD - ингибитор каспазо-активированной ДНКазы CAD; Smac - ингибитор IAP-белков; XIAP - ингибитор апоптоза семейства IAP; ЭР - эндоплазматический ретикулум. Пунктирной стрелкой обозначен механизм действия белка p-53, не связанный с его транскрипционной активностью.

Цитоплазматический участок молекулы Fas включает в себя домен, имеющий существенное значение для передачи проапоптотического сигнала и потому получивший название "домен смерти" (DD, death domain) [22]. Индукция Fas-зависимого апоптоза происходит путем кластеризации рецепторов Fas после специфического связывания тримеров лиганда Fas (FasL) или в результате действия моноклональных антител (МКАТ) к Fas [23].

Активация тримеров рецептора Fas обуславливает образование белкового комплекса DISC, играющего особую роль в инициации апоптоза [16, 24]. Адапторный белок Fadd (Fas-associating protein with death domain), благодаря наличию в его структуре DD-участков, способен связываться с цитоплазматическим доменом Fas [24, 25]. Fadd также содержит эффекторный домен смерти (DED, death effector domain), который отвечает за дальнейшую передачу проапоптотического сигнала.

2.5. Каспазный каскад.

Каспазы представляют собой семейство цистеиновых протеаз. Эти энзимы расщепляют свои субстраты в участках, следующих за остатком аспарагиновой кислоты. Уже описано 14 разновидностей каспаз [25], их нумерация

соответствует хронологическому порядку открытия. Во время апоптоза белки-предшественники каспаз активируются в результате протеолиза или образования олигомерных комплексов. Согласно функциям, выполняемым каспазами, выделяют две основные группы: инициаторы и эффекторы. Каспазы первой группы (каспазы-2, -8, -9, -10 и, возможно, -11) активируют каспазы второй группы (каспазы-3, -6, -7 и -14). Последние уже в свою очередь непосредственно гидролизуют внутриклеточные субстраты. Инициаторные каспазы в определенных случаях также могут выступать в роли эффекторных каспаз [26].

При изучении механизма передачи проапоптотического сигнала от адаптера Fadd был выявлен ферментный белок, первоначально названный FLICE (Fadd-like IL-1b-converting enzyme), а теперь – каспаза-8 [27]. Каспаза-8, непосредственно входящая в состав Fas-ассоциированного комплекса DISC, имеет на NH₂-конце своей молекулы два DED-участка, с помощью которых она связывается с белком Fadd [16, 22-27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. При попытке установить последовательность внутриклеточных активаций, инициируемых под воздействием алкильных глицеролипидов, в частности эдельфозина и его производных, был синтезирован широкий арсенал новых соединений, отличающихся структурными модификациями и была проверена биологическая активность каждого из них. Так, на сегодняшний день известны требования, выдвигаемые к соединениям этого класса для того, чтобы они обладали потенциальными противоопухолевыми свойствами. Установлены основные концентрационные пределы их цитотоксического и цитостатического действия, изучена гемолитическая активность, а также скорость их поглощения неопластическими клетками. Однако, в настоящее время механизм противоракового действия таких соединений обозначен ещё не ясно. Дальнейшее изучение селективного цитотоксического эффекта соединений продолжается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Munder P.G., Westphal O. (1990) J. Chem Immunol., **49**, 206-235.
2. Gajate C., Mollinedo F. (2002) Curr. Drug Metab., **3**, 491–525.
3. Berdel W.E., Andereesen R., Murder P.G. (1989) Phospholipids and Cellular Regulation., 42-73.
4. Vogler W.R., Olson A.C., Hajdu J., Shoji M., Raynor R., Kuo J.F. (1993) Lipids, **28**(6), 511-514.
5. Andereesen R. (1998) Progress in Biochemical Pharmacology, **22**, 118-131.
6. Seewold M.J., Olsen R.A., Sehgal I., Melder D.C., Modest E.J., Powis G. (1990) Cancer Res., **50**, 4458-4462.
7. Mollinedo F., Fernandez-Luna J.L., Gajate C., Martin-Martin B., Benito A., Martinez-Dalmau R., Modolell M. (1997) Cancer Res., **57**, 1320–1328.
8. Gajate C., Esther del Canto-Jañez, Ulises Acuca A., Amat-Guerri F., Geijo E., Santos-Beneit A.M., Veldman R. J., Mollinedo F. (2004) J. Exp. Med., **3**, 353-365.
9. van der Luit A.H., Budde M., Ruurs P., Verheij M., van Blitterswijk W.J. (2002) J. Biol. Chem., **277**, 39541–39547.
10. Zaremborg V., Gajate C., Cacharro L.M., Mollinedo F. (2005) J. Biol. Chem., **280**, 38047–38058.
11. Siegel R.M., Frederiksen J.K., Zacharias D.A., Chan F.K., Johnson M., Lynch D., Tsien R.Y., Lenardo M.J. (2000) Curr. Med. Chem., **6**, 2354–2357.
12. Mollinedo F., Gajate C., Martin-Santamaria S., Gago F. (2004) Curr. Med. Chem., **11**, 3163–3184.
13. Tourneur L., Buzyn A., Chiocchia G. (2005) Med. Immunol., **4**, 1–9.
14. Gajate C., Mollinedo F. (2001) Blood, **88**, 3860–3863.
15. Yagita H., Takeda K., Hayakawa Y., Smyth M.J., Okumura K. (2004) Cancer Sci., **95**, 777–783.

ГЛИЦЕРОЛИПИДЫ - МОДУЛЯТОРЫ ГИБЕЛИ РАКОВЫХ КЛЕТОК

16. *Pinchuk A.N., Rampy M.A., Longino M.A., Skinner S.* (2006) *Med. Chem.*, **49**, 2155-2165.
17. *Fulda S., Sieverts H., Friesen C., Herr I., Debatin K.M.* (1997) *Cancer Res.*, **57**, 3823-3829.
18. *Gajate C., Mollinedo F.* (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 11641-11647.
19. *Gajate C., Fonteriz R.I., Cabaner C., Alvarez-Noves G., Alvarez-Rodriguez Y., Modolell M., Mollinedo F.* (2000) *Int. J. Cancer*, **85**, 674-682.
20. *Micheau O., Solary E., Hammann A., Dimanche-Boitrel M.T.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 7987-7992.
21. *Simons K., Toomre D.* (2000) *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **1**, 31-39.
22. *Jakulj L., Trip M.D., Sudhop T., von Bergmann K., Kastelein J.J., Vissers M.N.* (2005) *J. Lipid Res.*, **46**(12), 2692-2698.
23. *Ashkenazi A., Dixit V.M.* (1998) *Science*, **281**, 1305-1308.
24. *Gajate C., Santos-Beneit A., Modolell M., Mollinedo F.* (1998) *Mol. Pharmacol.*, **53**, 602-612.
25. *Goncalves A., Braguer D., Carles G., Andre N., Prevot C., Briand C.* (2000) *Biochem. Pharmacol.*, **60**, 1579-1584.
26. *Gajate C., Santos-Beneit A.M., Macho A.* (2000) *Int. J. Cancer*, **86**, 208-218.
27. *Mandal D., Mazumder A., Das P., Kundu M., Basu J.* (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**(47), 39460-39467.

Поступила: 20. 02. 2009.

GLYCEROLIPIDS OF ALKYL TYPE - MODULATORS OF TUMORAL CELLS DESTRUCTION

S.G. Romanova¹, V.G. Romanov¹, G.A. Serebrennikova¹, A.A. Shtil²

¹Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo, 86, Moscow, 119571 Russia; e-mail: romfill@mail.ru

²Blokhin Oncological Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Kashirskoe sh., 24, Moscow, 115478 Russia

The review summarizes current information on biological activity and search of the antineoplastic mechanism of action of alkyl glycerolipids. Special attention is paid to following problems: selective ability phosphorus alkyl glycerolipids, antineoplastic activity, cytostatic and cytotoxic effects of edelfosine and its analogues. The review contains set of the data known for today from the literature, on the possible mechanism cytotoxic actions of such connections.

Key words: alkyl glycerolipids, edelfosine, anticancer activity, apoptosis.