

Новые данные о молекулярных мишениях тамоксифена, отличных от рецепторов эстрогенов, и их клиническая значимость

Т. А. БОГУШ¹, Б. Б. ПОЛЕЖАЕВ², Е. А. ДУДКО¹, Е. А. БОГУШ¹, В. Ю. КИРСАНОВ¹,
Б. Е. ПОЛОЦКИЙ¹, С. А. ТЮЛЯНДИН¹, М. И. ДАВЫДОВ¹

¹ Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина Минздрава России, Москва

² Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва

New Data on Molecular Targets of Tamoxifen Besides Estrogen Receptors, Their Clinical Significance

T. A. BOGUSH¹, B. B. POLEZHAEV², E. A. DUDKO¹, E. A. BOGUSH¹,
V. YU. KIRSANOV¹, B. E. POLOTSKY¹, S. A. TJULJANDIN¹, M. I. DAVYDOV¹

¹ N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow

² Faculty of Fundamental Medicine, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

Тамоксифен — первый таргетный препарат, который по-прежнему занимает лидирующую позицию в лечении рака молочной железы. Экспериментальные работы последних лет раскрывают всё новые и новые биологические эффекты при воздействии тамоксифена на опухолевые клетки. Данная публикация является продолжением опубликованного в 2012 г. обзора данных литературы, демонстрирующих многообразие эффектов тамоксифена, не связанных с его взаимодействием с рецепторами эстрогенов. Так, выявлен обширный спектр мишений препарата, которые являются ключевыми точками сигнальных каскадов, активирующих пролиферацию клеток, определяют агрессивность течения опухолевого процесса и чувствительность к химиотерапии. Описаны клинические исследования применения тамоксифена, основанием для которых явилось воздействие препарата на мишени, отличные от рецепторов эстрогенов. Кроме того, в обзор включены данные о противовирусной, противобактериальной, противогрибковой и противопаразитарной активности тамоксифена.

Ключевые слова: тамоксифен, протеинкиназа C, апоптоз, антиangiогенное действие, метастазирование, лекарственная устойчивость, противоопухолевое действие.

Tamoxifen is the first target agent with a high-end position in breast cancer therapy till now. In recent years experimental researches revealed new biological effects of tamoxifen on tumor cells. The present study continues the theme of the review published in 2012, where a plenty of tamoxifen effects besides interaction with estrogen receptors was discussed. Thus, there is described a wide range of the drug targets which are the key points of signal cascades activating the cell proliferation and determining the course of the growth of the cancer and its sensitivity to chemotherapy. Also clinical trials of tamoxifen based on existing of targets besides the estrogen receptors are reviewed. Furthermore, the data on the antiviral, antibacterial, antifungal and antiparasitic activities of tamoxifen are indicated.

Key words: tamoxifen, protein kinase C, apoptosis, antiangiogenic action, metastasis, drug resistance, anticancer action.

Введение

Несмотря на развитие гормональной противопухолевой терапии и связанное с этим появление новых лекарств, тамоксифен является одним из наиболее ярких и неизменно эффективных «долгожителей» среди лекарственных препаратов, которые используются при лечении злокачественных новообразований. Это — первый таргетный препарат, который по-прежнему занимает лидирующую позицию в лечении рака молочной железы, и многолетний золотой стандарт в адьювантном лечении рака молочной железы с положительным статусом рецепторов эстрогенов.

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: E-mail: bogush@orc.ru

Экспериментальные работы последних лет раскрывают всё новые и новые биологические эффекты воздействия тамоксифена на опухолевые клетки. Выявлен обширный спектр мишений препарата, отличных от рецепторов эстрогенов, которые являются ключевыми точками сигнальных каскадов, активирующих пролиферацию клеток, определяют агрессивность течения опухолевого процесса и чувствительность к химиотерапии.

Появляется всё больше и больше доказательств того, что антиэстрогенный эффект препарата является лишь «верхушкой айсберга», и механизм воздействия тамоксифена гораздо шире. В совокупности эти данные позволяют по-новому взглянуть на эффективность препарата при лечении рака молочной железы, а также стимулируют поиск новых показаний к его назначению для

лекарственной терапии опухолей других локализаций, в том числе и в комбинации с современными таргетными препаратами. Более того, появились интересные данные об эффективности тамоксифена и в случае неонкологических заболеваний, и не только у человека.

В обзоре 2012 г. мы обобщили известные на тот момент данные относительно эффектов тамоксифена, не связанных с его взаимодействием с рецепторами эстрогенов [1]. Задача настоящей публикации состоит в оценке того, насколько этот аспект действия антиэстрогена продолжает вызывать интерес исследователей и насколько пополнились и расширились знания в рамках этого вопроса. Кроме того, в обзор включены ранее не обсуждавшиеся данные о противовирусной, противобактериальной, противогрибковой и противопаразитарной активности тамоксифена, а также сообщения об эффективности применения антиэстрогена у онкологических больных.

1. Тамоксифен как ингибитор протеинкиназы С (РКС): экспериментальные факты и клинические наблюдения

Обширные сведения об ингибирующем воздействии тамоксифена на РКС в последние годы существенно пополнились новыми данными.

В культуре клеток глиобластомы при воздействии тамоксифена продемонстрировано усиление цитотоксичности противоопухолевого препарата темозоламида, при этом отмечены остановка клеточного цикла преимущественно в фазах S, G2 и M, увеличение количества апоптозов и снижение уровня фосфорилированной РКС разных типов [2]. В другом исследовании также на культуре клеток глиомы выявлен радиосенсибилизирующий эффект тамоксифена, при воздействии которого отмечено замедление репарации повреждений ДНК, вызванных облучением, остановка клеточного цикла в фазах G2/M и увеличение количества апоптозов. Эти эффекты были связаны с ингибированием РКС- ι — атипичного варианта РКС, гиперэкспрессия которой обнаружена в глиобластоме и других злокачественных опухолях. Установлено, что РКС- ι активирует циклин-зависимую киназу Cdk7 и пропапптический белок Bad, способствуя опухолевому росту [3].

В свете этих и рассмотренных ранее многочисленных данных об ингибировании тамоксифеном разных типов РКС, которая играет одну из ключевых ролей в патогенезе злокачественных новообразований головного мозга [4], интересны некоторые клинические работы. В частности, в исследовании с привлечением 32 пациентов с рецидивом анапластической астроцитомы и муль-

тиформной глиомы средняя продолжительность жизни от начала терапии тамоксифеном составила 16,0 и 7,2 мес. соответственно. Более трети больных пережили 3,5 года, из них 2 пациента прожили более 4 лет [4]. В исследовании, включавшем 24 больных с рецидивом анапластической астроцитомы, при монотерапии тамоксифеном средняя продолжительность жизни достигла 17,5 мес.; 1 год пережили 9 больных, а 2 года — 5 пациентов [5].

При применении тамоксифена в комбинации с карбоплатином и радиотерапией у 40 больных с низкодифференцированной глиомой продолжительность безрецидивного периода составила 10 мес., а в группе без тамоксифена — только 4 мес. Соответственно одногодичная выживаемость составила 62 и 30%, а двухгодичная — 40% в группе с тамоксифеном. В группе, не получавшей тамоксифен, 2 года не пережил ни один больной [6]. При лечении карбоплатином в комбинации с тамоксифеном 27 больных с рецидивом смешанной, мультиформной глиомы или злокачественной астроцитомы медиана продолжительности жизни составила 14 мес., а два пациента прожили почти по 7 лет [7]. При терапии темозоламидом в комбинации с тамоксифеном 32 пациентов с рецидивом глиобластомы средняя продолжительность жизни составила 17,5 мес. [8].

Возвращаясь к фундаментальным исследованиям, показано, что метаболит тамоксифена 4-дегидрокситамоксифен вызывает РКС-опосредованную индукцию аутофагии в культуре клеток шванномы, глиомы, колоректального рака, рака поджелудочной и молочной железы. Ингибирование РКС приводило к деградации рецептора эпидермального фактора роста EGFR и ГТФазы KRas с последующим подавлением активности белков MAP-киназного сигнального каскада JNK и Erk1/2 и как результат — к накоплению в клетках аутофаголизосом и активации аутофагии [9].

В культуре клеток рака поджелудочной железы исследовано взаимодействие тамоксифена с кантиридином — противоопухолевый препарат растительного происхождения, ингибирующий протеинфосфатазу 2A (PP2A). Участие этого фермента в процессе канцерогенеза активно изучается. В частности, ингибирование PP2A при воздействии кантиридина приводит к подавлению опухолевого роста, однако активация РКС и других белков при этом индуцирует лекарственную резистентность. При воздействии тамоксифена, в том числе и в комбинации с кантиридином, показано снижение концентрации в клетках фосфорилированной РКС α , что указывает на перспективность этой комбинации для противоопухолевой терапии [10].

В этой связи интересны клинические данные об эффективности тамоксифена при терапии ра-

ка поджелудочной железы. В частности, в работе J.J. Keating et al с привлечением 108 пациентов с неоперабельной или метастатической стадией заболевания описано увеличение продолжительности жизни в группе, получавшей тамоксифен, до 5,2 против 3,0 мес. в группе без лечения [11].

Выраженный противоопухолевый эффект тамоксифена у пациентов с неоперабельным раком поджелудочной железы описан и в других работах. Так, продолжительность жизни при применении тамоксифена в сравнении с группой без лечения составила 8,5 vs 2,5 мес. [12], 7 vs 3 мес. [13] и 7,8 vs 4,3 мес. [14]. Более того, в литературе описан клинический случай полного регресса очага в поджелудочной железе и метастаза в печени с последующим отсутствием прогрессирования в течение 50 мес. на фоне монотерапии тамоксифеном [15].

Повышение эффективности терапии описано и при комбинации тамоксифена с октреотидом — аналогом соматостатина, который широко используется в терапии рака поджелудочной железы: продолжительность жизни увеличилась в сравнении с историческим контролем до 7 vs. 3,5 мес [16] и до 12 vs. 3 мес [17].

Поскольку РКС участвует не только в канцерогенезе, но и в реализации других патологических процессов, интересны исследования эффективности тамоксифена при лечении неонкологических заболеваний.

Например, в экспериментах на мышах изучено влияние тамоксифена на развитие гипертрофической кардиомиопатии [18]. В клетках миокарда РКС ответственна за развитие гипертрофии и фиброза, а также за угнетение активности Na⁺, K-АТФазы, что приводит к сердечной недостаточности. Использование тамоксифена у мышей с индуцированной гипертрофией миокарда приводило к уменьшению сердечной недостаточности и улучшению гемодинамических показателей, к повышению активности Na⁺, K-АТФаз и снижению уровня лактатдегидрогеназы, которая является маркёром повреждения миокарда.

Другим интересным эффектом тамоксифена, реализующимся с участием РКС, является антиманакальное действие препарата. В нервной ткани РКС отвечает за многие процессы: за возбудимость нейронов, экспрессию различных генов, высвобождение нейромедиаторов, работу ионных каналов и т.д. В экспериментах *in vitro* показано, что тамоксифен, ингибируя РКС, снижает высвобождение глутамата в возбужденных нервных окончаниях [19]. При этом в опытах на животных с индуцированными маниакальными состояниями тамоксифен продемонстрировал антиманиакальное действие, сходное с действием других ингибиторов РКС [20]. В клиническом плацебо-контролируемом исследовании с привлечением 66

пациентов с маниакальной стадией биполярного аффективного расстройства антиманиакальный эффект тамоксифена был подтвержден [21].

Ещё одной перспективой применения тамоксифена, реализуемой через протеинкиназу нейронов центральной нервной системы, является уменьшение побочных эффектов леводопы у больных с болезнью Паркинсона. Известно, что при длительном применении леводопы развиваются двигательные нарушения, причиной которых является, в частности, повышение активности РКС-ε и -λ. [22]. В экспериментах на грызунах и приматах выявлена способность тамоксифена уменьшать вызванные леводопой дискинезии, что при изучении нервной ткани полосатого тела соответствовало снижению экспрессии РКС-ε и -λ. Таким образом, представляется реальной перспектива применения тамоксифена для предупреждения и лечения побочных эффектов, связанных с современной противопаркинсонической терапией.

Заключая, следует отметить данные о разнонаправленном воздействии тамоксифена на разные типы РКС в опухолевых клетках с разными молекулярными характеристиками [23]. В частности, в исследовании на культуре клеток рака молочной железы установлено, что в клетках, экспрессирующих рецепторы эстрогенов, тамоксифен активирует РКС-δ, ингибирует РКС-α и подавляет клеточную пролиферацию. В то же время в клетках, не экспрессирующих рецепторов эстрогенов, эффект тамоксифена был иным: замедление пролиферации клеток отмечено при активации РКС-α и подавлении РКС-δ. Механизм этого феномена не понятен, но он, безусловно, интересен и заслуживает дальнейшего изучения.

2. Механизмы антиангигенного действия тамоксифена

Наличие у тамоксифена антиангигенного эффекта, который относится к одной из важнейших характеристик препарата, не связанных с рецепторами эстрогенов, не вызывает сомнения [1], но механизмы его реализации продолжают исследоваться.

Так, на культуре эндотелиоцитов пупочной вены установлено, что при воздействии тамоксифена в клетках происходит инактивация белков NPC 1 и 2 типа и связанное с этим накопление холестерина в эндотелиосомах в перинуклеарном пространстве эндотелиоцитов [24]. Это приводит к нарушению работы пролиферативного киназного пути mTOR, к перераспределению в клетке рецепторов фактора роста эндотелия сосудов VEGFR2, к нарушению их терминального гликоилирования, что необходимо для фосфорилирования и активации рецепторов. В результате — нарушается VEGF-индукционная пролифера-

ция эндотелиоцитов. Более того, при воздействии тамоксифена отмечено снижение гликозилирования рецепторов факторов роста тромбоцитов PDGFR β и фибробластов FGFR. Точный механизм этих эффектов до конца не ясен. Предположительно тамоксифен, являясь липофильным соединением, накапливается в эндосомах и повышает в них pH, что приводит к нарушению работы белков NPC и накоплению холестерина.

В культуре клеток рака молочной железы линии MCF-7 с экспрессией рецепторов эстрогенов описан ещё один возможный механизм антиангиогенного эффекта тамоксифена. Показано, что инкубация с антиэстрогеном приводит к повышению концентрации растворимых рецепторов VEGFR2 (sVEGFR2), которые связываясь с рецепторами фактора роста эндотелия сосудов VEGF, блокируют его способность активировать пролиферацию клеток эндотелия и ангиогенез [25].

3. Механизмы проапоптотического и антитромиферативного действия тамоксифена

К настоящему времени в литературе описан ряд новых сведений об участии тамоксифена в процессах апоптоза и подавлении пролиферации.

Например, активно изучается взаимодействие тамоксифена с церамидами, которые участвуют в регуляции клеточного цикла опухолевых клеток и являются индукторами апоптоза. Подробно сведения о механизме этого эффекта церамидов, а также о взаимодействии тамоксифена с сигнальными путями, в которых они участвуют, изложены в обзоре 2015 года [26]. В частности, на культурах клеток различных опухолей, включая колоректальный рак, рак яичников, молочной железы, шейки матки, простаты, а также меланомы, продемонстрировано влияние тамоксифена на разные этапы метаболизма церамидов, ассоциированные с индукцией апоптоза. Подтверждение того, что этот эффект тамоксифена не связан с его антиэстрогенным воздействием, получено при сравнительной оценке эффектов тамоксифена и его метаболита N-десметилтамоксифена со слабой антиэстрогенной активностью. Оказалось, что в последнем случае результат воздействия на метаболизм церамидов был даже более выраженным.

По степени влияния на разные этапы метabolизма церамидов тамоксифен сопоставим со специфическими ингибиторами конкретных ферментов. Но в отличие от последних, к которым часто развивается устойчивость за счёт активации других путей метаболизма церамидов, тамоксифен способен блокировать альтернативные пути и потому более эффективен.

В этой связи интересны результаты работ с

С6-церамидами, которые в настоящее время исследуются как потенциальные противоопухолевые препараты. Эти соединения обладают проапоптотической активностью, сопоставимой с натуральными церамидами, но проблемой является быстрая индукция резистентности. Возможность её преодоления при применении тамоксифена показана на культуре клеток колоректального рака линии LoVo, устойчивых к воздействию как С6-церамида, так и тамоксифена. В то же время при инкубации клеток в присутствии обоих препаратов зарегистрирован цитотоксический эффект и остановка клеточного цикла в фазах G1 и G2, а также ассоциированные с этим расщепление белка PARP, увеличение проницаемости митохондриальных мембран и индукция каспаз-3,7-зависимого апоптоза [27].

Важной мишенью тамоксифена, обеспечивающей его проапоптотическое действие, являются митохондрии. Препарат нарушает работу митохондрий на разных этапах: ингибирует работу 1-5 мембранных комплексов, изменяет текучесть внутренней митохондриальной мембраны и липидное окружение мембранных белков [28]. Это приводит к нарушению окислительного фосфорилирования в митохондриях, к накоплению электронов в комплексах цепи переносчиков и к нехватке АТФ в клетках. При этом образуются свободные формы кислорода, активируется перекисное окисление липидов, выделяются альдегидные производные, повреждающие клетку.

Другим механизмом проапоптотического эффекта тамоксифена, реализующимся при взаимодействии с митохондриями, может быть уменьшение проницаемости митохондриальных мембран за счёт прямого связывания антиэстрогена с белками пор, ингибирования аденин-нуклеотид транспортёров и связывания с циклофилином D [28]. Следствием этого может быть накопление кислорода и его активных форм в митохондриях, а также накопление ионов кальция, активация митохондриальной NO-синтазы и последующее нарушение митохондриального дыхания и стимуляция перекисного окисления липидов. В любом случае итогом будет повреждение митохондрий, высвобождение цитохрома С и индукция апоптоза.

И наконец, в экспериментах на клеточных культурах опухолей разного генеза показано, что тамоксифен может стимулировать митохондриальный путь апоптоза, усиливая экспрессию проапоптотического белка Bax и снижая экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2 [29].

Мишениями тамоксифена могут быть ASCT2-транспортеры, ответственные за поступление в клетку нейтральных аминокислот, в том числе глутамина, который участвует в транспорте азота, синтезе различных белков, регулирует работу

ферментов и необходим для синтеза глутатиона — трипептида с выраженными антиоксидантными свойствами. На культуре клеток рака молочной железы с отрицательным статусом рецепторов эстрогенов показано ингибирующее воздействие тамоксифена на ASCT2-транспортеры, что приводило к уменьшению внутриклеточного уровня глутамина и нарушению синтеза глутатиона, к повышению уровня свободных радикалов и оксидативному стрессу, индуцирующему апоптоз [30].

В исследовании на культурах клеток рака молочной железы, позитивных и негативных по статусу рецепторов эстрогенов, при воздействии тамоксифена показано повышение внутриклеточного уровня Zn и индукция оксидативного стресса, предположительно за счёт отщепления ионов цинка от различных Zn-содержащих белков. Эти изменения приводили к увеличению проницаемости лизосомальных мембран и вы свобождению катепсина D; сопровождались активацией MAP-киназы Erk, накоплением аутофаголизосом и активацией аутофагии [31]. Подобные эффекты выявлены и на культурах клеток пигментного эпителия и фоторецепторов сетчатки, что позволило авторам предположить, что индукция аутофагии при воздействии тамоксифена может являться причиной ретинопатии при длительном приёме антиэстрогена [32].

Новой мишенью противоопухолевой терапии, которая активно изучается в настоящее время, являются каннабиноидные рецепторы. В частности, антагонист каннабиноидных CB1-рецепторов римонабант продемонстрировал антипролиферативное действие в культурах клеток рака молочной железы, прямой кишki и щитовидной железы. В исследовании P. L. Prather et al [33] была выявлена способность тамоксифена и его метаболита 4-гидрокситамоксифена выступать в качестве антагонистов CB1- и CB2-рецепторов. Авторы полагают, что это может быть одним из механизмов противоопухолевого действия тамоксифена независимо от статуса рецепторов эстрогенов в ткани опухоли.

На культуре нейронов показано, что тамоксифен индуцирует апоптоз, активируя работу мембранных VDAC-каналов (voltage-dependent anion channel) [34]. На культуре клеток микроглии выявлена также способность тамоксифена стимулировать рецептор-опосредованный путь апоптоза: отмечено повышение уровня Fas и Fas-лиганды, ответственных за активацию белка FADD, активирующего путь апоптоза, ассоциированный с активностью каспаз 8 и 10 [29].

Интересные результаты получены при изучении влияния тамоксифена на клетки холангiocарциномы. Установлено, что тамоксифен воздействует на ряд мишеней, запускающих проапоптотические каскады: блокирует работу кальмодулина; ингибирует активность ряда инги-

биторов Fas-опосредованного апоптоза; стимулирует выход из митохондрий цитохрома C; активирует каспазы 2, 3, 8, 9 и 10. Все эти эффекты приводили к индукции тамоксифеном апоптоза *in vitro* и к замедлению роста опухоли *in vivo* [35, 36]. Проапоптотическое действие метаболита тамоксифена 4-гидрокситамоксифена на клетки рабдомиосаркомы *in vitro* и связанная с этим остановка клеточного цикла в фазе G1 ассоциированы с подавлением фосфорилирования белка ретинобластомы Rb и с активацией каспаз 3 и 7 [37].

В 2013 г. опубликованы данные о способности тамоксифена индуцировать *in vitro* апоптоз лейкоцитов, полученных из крови и бронхоальвеолярных смызов у лошадей [38]. Это послужило поводом для проведения исследования по оценке эффективности тамоксифена у лошадей с воспалительными заболеваниями лёгких. При применении тамоксифена выявлено снижение содержания лейкоцитов в бронхоальвеолярных смызвах, сопоставимое с эффектом дексаметазона, а также положительная динамика течения заболевания [39]. Это исследование делает перспективным дальнейшее изучение механизмов индукции апоптоза лейкоцитов при воздействии тамоксифена и противовоспалительного действия антиэстрогена.

4. Антиметастатический эффект тамоксифена

При воздействии тамоксифена показано снижение миграционной активности (метастатического потенциала) клеток гепатоцеллюлярной карциномы *in vitro*, которое было ассоциировано с ингибированием РКС и с изменением тока хлора через хлоридные ClC-3-каналы [40]. Подобный опосредованный ингибированием РКС антиметастатический эффект тамоксифена, сопровождающийся нарушением подвижности клеток, продемонстрирован в культуре клеток глиобластомы [2]. Кроме того, *in vitro* показано, что метаболит тамоксифена эндоксифен подавляет миграцию клеток меланомы, при этом авторы связали этот эффект антиэстрогена со стимуляцией экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы 1B-p27 [41].

5. Ингибирование лекарственной устойчивости

Ранее было показано, что, напрямую связываясь с P-гликопротеином (Pgp) и другими белками множественной лекарственной резистентности, тамоксифен препятствует её реализации и потенцирует действие цитостатиков [1].

Недавно опубликованы данные, что подавление активности Pgp тамоксифеном может реализоваться и опосредованно: усиление цитотоксичности цисплатина, 5-фторурацила и

доксорубицина в культуре клеток рака желудка сопровождалось снижением экспрессии Pgp и ингибированием различных эффекторов сигнального пути PI3K/Akt [42].

6. Противопаразитарный, противогрибковый, противобактериальный и противовирусный эффекты

Противопаразитарное, противогрибковое, противобактериальное и противовирусное действие — ещё одна не до конца понятная «ниша» эффектов тамоксифена.

Недавно показано, что тамоксифен эффективен в отношении эхинококка *in vivo* и *in vitro*. После воздействия антиэстрогена у эхинококков наблюдалась потеря присосок и крючьев, повреждения оболочки, а у мышей, зараженных эхинококком, продемонстрирован паразитостатическое действие препарата [43]. В экспериментах *in vitro* [44] и *in vivo* на лабораторных мышах [45] продемонстрирован и противолейшманиозный эффект тамоксифена.

Помимо этого тамоксифен проявляет противогрибковый эффект. В частности, препарат продемонстрировал эффективность при криптококкозе, что объясняется способностью тамоксифена нарушать функции кальмодулина. *In vitro* при воздействии тамоксифена выявлено подавление роста криптококков и клеток шизосахаромицета, а *in vivo* отмечен агонизм противогрибкового действия флуконазола с тамоксифеном [46, 47].

Интересны данные о противотуберкулёзном действии тамоксифена. *In vitro* продемонстрировано токсическое воздействие препарата на чувствительные и резистентные к антибиотикам штаммы *M.tuberculosis*, в том числе и на внутримакрофагальные формы, при этом эффект был выше в сравнении с традиционными противотуберкулёзными препаратами — изониазидом и рифампицином [48].

И наконец, на культуре клеток гепатомы тамоксифен проявил противовирусное действие в отношении вируса гепатита С (HCV). Установлено, что препарат блокирует вирусный цикл на всех этапах: прикрепления и входа вируса в клетку, репликации вируса и постстрепликационных изменений, а также выхода вируса из клетки. Точные мишени реализации этих эффектов тамоксифена не известны, но авторы исследования предполагают вовлечение многих упомянутых выше молекул: РКС, Pgp, кальмодулина и других [49].

Заключение

Недавно, в заглавии одной из своих статей автор и неизменный научный, идейный вдохновитель тамоксифена профессор V. Craig Jordan на-

писал: «Это препарат, который продолжает преподносить подарки» [50]. Maneesh N. Singh назвал тамоксифен «аспирином XXI века» [51]. И действительно, несмотря на более чем 40-летнюю историю применения тамоксифена, в настоящее время становится понятно, что его возможности не используются в полной мере. В таблице представлены сведения об эффектах тамоксифена, не связанных с его антиэстрогенной активностью. Суммированы данные, которые обсуждались в предыдущем обзоре литературы (выделены курсивом) [1] и в настоящем сообщении.

Выявлено множество механизмов действия тамоксифена, приводящих к программированной смерти клеток. Препарат стимулирует как рецептор-зависимый, так и митохондриальный путь апоптоза. В частности, в митохондриях выявлено большое количество мишень тамоксифена: он взаимодействует с участниками цепи переноса электронов и с белками пор митохондриальных мембран, изменяет экспрессию Bcl-2 и Bax и др. Внешний путь апоптоза также может активироваться тамоксифеном, который повышает экспрессию Fas и Fas-L и, наоборот, — снижает экспрессию ингибиторов этого пути апоптоза. Ещё одной важной мишенью тамоксифена оказались лизосомы, в которых тамоксифен интенсифицирует выделение катепсина D и как результат — активирует аутофагию. И наконец, установлена способность препарата предотвращать утилизацию проапоптотических липидов церамидов, активировать белок фосфатазы PP2A, блокировать каннабиноидные рецепторы, ингибировать поступление глутамина в клетки, стимулировать раскрытие VDAC-каналов, подавлять фосфорилирование белка ретинобластомы Rb и др. Все эти эффекты через определённые каскады приводят к клеточной смерти.

Изучены и другие эффекты тамоксифена. В том числе его антиangiогенная активность объясняется изменением поведения лизосом и нарушением работы mTORC1 в клетках эндотелия. А на примере клеток рака желудка выявлена способность тамоксифена опосредованно через PI3K/Akt-путь подавлять экспрессию белков лекарственной устойчивости и за счёт этого повышать чувствительность к цитостатикам.

Неожиданными оказались результаты исследований противопаразитарной, противогрибковой, противобактериальной и противовирусной активности тамоксифена. Препарат продемонстрировал эффективность в отношении возбудителей различных паразитарных и грибковых заболеваний, микобактерий туберкулёза, вирусов гепатита С. С учётом того, что широкое распространение этих заболеваний является актуальной эпидемиологической проблемой, мы надеемся, что активное изучение эффективности тамокси-

Биологические эффекты тамоксифена, реализующиеся независимо от статуса рецепторов эстрогенов опухоли

Биологические эффекты тамоксифена	Механизмы реализации биологических эффектов тамоксифена
Стимуляция программированной смерти и подавление пролиферации клеток	Активация: каспаз 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10; киназы JNK ¹ ; проапоптотических белков p53, p38, FasL, Bax и трансформирующего фактора роста TGF- β . Ингибирование: антиапоптотического белка Bcl-2, проапоптотического белка кальмодулина и протеинкиназы C. Активация: каспаз 7*, 8*, 9*; проапоптотического белка FasL*; перекисного окисления липидов; выхода катепсина D из лизосом; открытия VDAC-каналов ³ , участвующих в активации апоптоза. Ингибирование: протеинкиназы С *; фосфорилирования белка ретинобластомы Rb ⁴ ; экспрессии транспортёра глутамина ASCT2 ⁵ ; утилизации церамидов. Антагонизм с рецепторами CB1, CB2 ⁶
Ингибирование ангиогенеза	Активация: IL-1Ra ⁷ — антагониста рецептора интерлейкина 1. Ингибирование: фактора роста эндотелия сосудов VEGF; основного фактора роста фибробластов bFGF ⁸ и синтеза ангиогенина. Повышение концентрации растворимых рецепторов VEGFR2 ¹⁰ , их связывание VEGF ⁸ . Ингибирование: PI3K ¹¹ /Akt ¹² /mTOR ¹³ -сигнального пути, стимулирующего пролиферацию сосудов; активации рецепторов VEGFR2 ¹⁰ , PDGFR β ¹⁴ и FGFR ¹⁵ .
Подавление инвазии и метастазирования	Активация: ингибитора металлопротеиназ TIMP1 ¹⁶ ; рецептора урокиназы — uPAR ¹⁷ и матриксных металлопротеиназ MMP ¹⁸ 7 и 9. Активация: ингибитора циклин-зависимой киназы 1B. Ингибирование: протеинкиназы С *.
Ингибирование механизма множественной лекарственной резистентности	Прямое ингибирование функции белков множественной лекарственной резистентности — связывание с Pgp ¹⁹ , MRP ²⁰ и LRP ²¹ Опосредованное ингибирование функции белков множественной лекарственной резистентности — ингибирование сигнального пути PI3K ¹¹ /Akt ¹² /mTOR ¹³ .

Примечание. Курсивом выделены мишени тамоксифена, описанные ранее в обзоре 2012 г. * — результаты, подтверждённые в новых исследованиях. ¹JNK — c-Jun N-концевая киназа; ²TGF- β — трансформирующий ростовой фактор β ; ³VDAC — потенциал-зависимые анионные каналы; ⁴Rb — белок ретинобластомы; ⁵ASCT2 — транспортёр глутамина; ⁶CB1- и CB2 — каннабиноидные рецепторы; ⁷IL-1Ra — антагонист рецептора интерлейкина 1; ⁸VEGF — фактор роста эндотелия сосудов; ⁹bFGF — основной фактор роста фибробластов; ¹⁰VEGFR2 — рецептор фактора роста эндотелия сосудов 2; ¹¹PI3K — фосфоинозитид-3-киназа; ¹²Akt — протеинкиназа B; ¹³mTOR — «Мишень рапамицина у млекопитающих»; ¹⁴PDGFR β — рецептор фактора роста тромбоцитов β ; ¹⁵FGFR — рецептор фактора роста фибробластов; ¹⁶TIMP-1 — тканевой ингибитор металлопротеиназ-1; ¹⁷uPAR — рецептор урокиназы; ¹⁸MMP — матриксная металлопротеиназа; ¹⁹Pgp — Р-гликопротеин; ²⁰MRP — белок, ассоциированный с множественной лекарственной резистентностью; ²¹LRP — белок, ассоциированный с резистентностью рака лёгкого.

фена в этой совершенно нетрадиционной для него области может себя оправдать.

Важно, что, по крайней мере, часть описанных в статье молекулярных феноменов уже удалось связать с клиническими наблюдениями. Клинически значимыми являются антиманиакальный эффект тамоксифена, способность препарата купировать побочные проявления терапии болезни Паркинсона, а также результаты ветеринарного исследования на лошадях, выявившего положительный эффект тамоксифена на течение бронхиальной астмы у лошадей.

Интересны результаты применения тамоксифена в клинической практике при терапии глиобластомы и рака поджелудочной железы, как в монотерапии, так и в комбинации с противоопухолевыми препаратами, в том числе и при резистентности, зарегистрированной на предшествующих курсах химиотерапии. Важно заметить, что в данном обзоре приведены лишь некоторые примеры эффективности применения тамоксифена

при терапии злокачественных новообразований. Эти наблюдения значительно шире и по спектру опухолей, и по спектру противоопухолевых лекарств, в том числе и таргетных, в комбинации с которыми тамоксифен использовался. Но это тема другого сообщения.

Заключая, следует ещё раз подчеркнуть уникальность тамоксифена, который обладает целым рядом интересных, клинически значимых, но до конца не познанных эффектов помимо антиэстрогенного действия. Уже в настоящее время достаточно сведений о молекулярных эффектах тамоксифена для пересмотра показаний к применению препарата только в онкологической практике и только при гормональной терапии позитивного по статусу рецепторов эстрогенов рака молочной железы. Безусловно, области и показания для применения тамоксифена гораздо шире, и постоянный (на протяжении более 50 лет!) интерес к этому препарату исследователей из разных областей науки и клинических исследований

подтверждает правильность такого представления. Надеемся, что представленный новый блок сведений об этом уникальном лекарстве окажется полезным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bogush T., Dudko E., Bogush E. et al. Tamoxifen non-estrogen receptor mediated molecular targets. *Oncol Rev* 2012; 6: 2: e15.
2. Balça-Silva J., Matias D., do Carmo A. et al. Tamoxifen in combination with temozolomide induce a synergistic inhibition of PKC-pan in GBM cell lines. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1850: 4: 722–732.
3. Yang L., Yuan X., Wang J. et al. Radiosensitization of human glioma cells by tamoxifen is associated with the inhibition of PKC- ι activity *in vitro*. *Oncol Lett* 2015; 10: 1: 473–478.
4. Couldwell W. T., Hinton D. R., Surnock A. A. et al. Treatment of recurrent malignant gliomas with chronic oral high-dose tamoxifen. *Clinical cancer research: an Official J American Association for Cancer Research* 1996; 2: 4: 619–622.
5. Chamberlain M. C., Kormanik P. A. Salvage chemotherapy with tamoxifen for recurrent anaplastic astrocytomas. *Arch Neurol* 1999; 56: 6: 703–708.
6. Mastronardi L., Puzzilli F., Couldwell W. T. et al. Tamoxifen and carboplatin combinational treatment of high-grade gliomas. Results of a clinical trial on newly diagnosed patients. *J Neuro-Oncol* 1998; 38: 1: 59–68.
7. Tang P., Roldan G., Brasher P. M. et al. A phase II study of carboplatin and chronic high-dose tamoxifen in patients with recurrent malignant glioma. *J Neuro-Oncol* 2006; 78: 3: 311–316.
8. Cristofori A., Carrabba G., Lanfranchi G. et al. Continuous tamoxifen and dose-dense temozolamide in recurrent glioblastoma. *Anticancer Res* 2013; 33: 8: 3383–3389.
9. Kohli L., Kaza N., Coric T. et al. 4-Hydroxytamoxifen induces autophagic death through K-Ras degradation. *Cancer Res* 2013; 73: 14: 4395–4405.
10. Xie X., Wu M. Y., Shou L. M. et al. Tamoxifen enhances the anticancer effect of cantharidin and norcantharidin in pancreatic cancer cell lines through inhibition of the protein kinase C signaling pathway. *Oncol Lett* 2015; 9: 2: 837–844.
11. Keating J. J., Johnson P. J., Cochrane A. M. et al. A prospective randomised controlled trial of tamoxifen and cyproterone acetate in pancreatic carcinoma. *Brit J Cancer* 1989; 60: 5: 789–792.
12. Theve N. O., Pousette A., Carlström K. Adenocarcinoma of the pancreas—a hormone sensitive tumor? A preliminary report on Nolvadex treatment. *Clin Oncol* 1983; 9: 3: 193–197.
13. Wong A., Chan A. Survival benefit of tamoxifen therapy in adenocarcinoma of pancreas. A case-control study. *Cancer* 1993; 71: 7: 2200–2203.
14. Morita S., Motohara T., Ogawa K., Horimi T. Hormone therapy using tamoxifen in unresectable carcinoma of the pancreas—preliminary study. *Nihon Igaku Höshasen Gakkai zasshi. Nipp Acta Radiol* 1992; 52: 12: 1686–1688.
15. Lamy R., Conroy T., Branaud L., Bresler L. Tamoxifen for metastatic pancreatic adenocarcinoma: a complete response. *Gastroentérol Clin Biol* 2001; 25: 10: 912–913.
16. Wenger F. A., Zieren H. U., Jacobi C. A., Müller J. M. Hormone therapy of postoperative recurrent pancreatic carcinoma with octreotide and tamoxifen. *Langenbecks Archiv Für Chirurgie. Supplement. Kongressband* 1998; 115: 1348–1350.
17. Rosenberg L., Barkun A. N., Denis M. H., Pollak M. Low dose octreotide and tamoxifen in the treatment of adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer* 1995; 75: 1: 23–28.
18. Patel B. M., Desai V. J. Beneficial role of tamoxifen in experimentally induced cardiac hypertrophy. *Pharmacol Reports* 2014; 66: 2: 264–272.
19. Kuo J. R., Wang C. C., Huang S. K., Wang S. J. Tamoxifen depresses glutamate release through inhibition of voltage-dependent Ca²⁺ entry and protein kinase C α in rat cerebral cortex nerve terminals. *Neurochem International* 2012; 60: 2: 105–114.
20. Steckert A. V., Valvassori S. S., Mina F. et al. Protein kinase C and oxidative stress in an animal model of mania. *Curr Neurovascul Res* 2012; 9: 1: 47–57.
21. Armani F., Andersen M. L., Galduroz J. C. Tamoxifen use for the management of mania: a review of current preclinical evidence. *Psychopharmacology* 2014; 231: 4: 639–649.
22. Smith C. P., Oh J. D., Bibbiani F. et al. Tamoxifen effect on L-DOPA induced response complications in parkinsonian rats and primates. *Neuropharmacology* 2007; 52: 2: 515–526.
23. Li Z., Wang N., Fang J. et al. Role of PKC-ERK signaling in tamoxifen-induced apoptosis and tamoxifen resistance in human breast cancer cells. *Oncol Reports* 2012; 27: 6: 1879–1886.
24. Shim J. S., Li R. J., Lv J. et al. Inhibition of angiogenesis by selective estrogen receptor modulators through blockade of cholesterol trafficking rather than estrogen receptor antagonism. *Cancer Lett* 2015; 362: 1: 106–115.
25. Garvin S., Nilsson U. W., Dabrosin C. Effects of oestradiol and tamoxifen on VEGF, soluble VEGFR-1, and VEGFR-2 in breast cancer and endothelial cells. *Br J Cancer* 2005; 93: 9: 1005–1010.
26. Morad S. A., Cabot M. C. Tamoxifen regulation of sphingolipid metabolism—therapeutic implications. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1851: 9: 1134–1145.
27. Morad S. A., Madigan J. P., Levin J. C. et al. Tamoxifen magnifies therapeutic impact of ceramide in human colorectal cancer cells independent of p53. *Biochem Pharmacol* 2013; 85: 8: 1057–1065.
28. Ribeiro M. P., Santos A. E., Custódio J. B. Mitochondria: the gateway for tamoxifen-induced liver injury. *Toxicology* 2014; 323: 10–18.
29. Li Z., Chen J., Lei T., Zhang H. Tamoxifen induces apoptosis of mouse microglia cell line BV-2 cells via both mitochondrial and death receptor pathways. *J Huazhong Univer Science Technol. Medical Sciences* 2012; 32: 2: 221–226.
30. Todorova V. K., Kaufmann Y., Luo S., Klimberg V. S. Tamoxifen and raloxifene suppress the proliferation of estrogen receptor-negative cells through inhibition of glutamine uptake. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67: 2: 285–291.
31. Hwang J. J., Kim H. N., Kim J. et al. Zinc(II) ion mediates tamoxifen-induced autophagy and cell death in MCF-7 breast cancer cell line. *BioMetals* 2010; 23: 6: 997–1013.
32. Cho K. S., Yoon Y. H., Choi J. A. et al. Induction of autophagy and cell death by tamoxifen in cultured retinal pigment epithelial and photoreceptor cells. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 2012; 53: 9: 5344–5353.
33. Prather P. L., FrancisDevaraj F., Dates C. R. et al. CB1 and CB2 receptors are novel molecular targets for Tamoxifen and 4OH-Tamoxifen. *Biochem Biophys Res Com* 2013; 441: 2: 339–343.
34. Herrera J. L., Diaz M., Hernández-Fernaud J. R. et al. Voltage-dependent anion channel as a resident protein of lipid rafts: post-translational regulation by estrogens and involvement in neuronal preservation against Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2011; 116: 5: 820–827.
35. Pawar P., Ma L., Byon C. H. et al. Molecular mechanisms of tamoxifen therapy for cholangiocarcinoma: role of calmodulin. *Clin Cancer Res: Official J Amer Assoc Cancer Res* 2009; 15: 4: 1288–1296.
36. Jing G., Yuan K., Turk A. N. et al. Tamoxifen enhances therapeutic effects of gemcitabine on cholangiocarcinoma tumorigenesis. *Lab Investigat; J Techn Meth Pathol* 2011; 91: 6: 896–904.
37. Cimica V., Smith M. E., Zhang Z. et al. Potent inhibition of rhabdoid tumor cells by combination of flavopiridol and 4OH-tamoxifen. *BMC Cancer* 2010; 10: 634.
38. Perez B., Henriquez C., Sarmiento J. et al. Tamoxifen as a new therapeutic tool for neutrophilic lung inflammation. *Respirology* 2016; 21: 1: 112–118.
39. Sarmiento J., Perez B., Morales N. et al. Apoptotic effects of tamoxifen on leukocytes from horse peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid. *Vet Res Com* 2013; 37: 4: 333–338.
40. Mao J., Yuan J., Wang L. et al. Tamoxifen inhibits migration of estrogen receptor-negative hepatocellular carcinoma cells by blocking the swelling-activated chloride current. *J Cell Physiol* 2013; 228: 5: 991–1001.
41. Ribeiro M. P., Silva F. S., Paixão J. et al. The combination of the antiestrogen endoxifen with all-trans-retinoic acid has anti-proliferative and anti-migration effects on melanoma cells without inducing significant toxicity in non-neoplastic cells. *Europ J Pharmacol* 2013; 715: 1–3: 354–362.
42. Mao Z., Zhou J., Luan J. et al. Tamoxifen reduces P-gp-mediated multidrug resistance via inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway in ER-negative human gastric cancer cells. *Biomed Pharmacother* 2014; 68: 2: 179–183.
43. Nicolao M. C., Elisondo M. C. et al. *In vitro* and *in vivo* effects of tamoxifen against larval stage *Echinococcus granulosus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 9: 5146–5154.
44. Miguel D. C., Yokoyama-Yasunaka J. K., Andreoli W. K. et al. Tamoxifen is effective against *Leishmania* and induces a rapid alkalinization of parasitophorous vacuoles harbouring *Leishmania (Leishmania) amazonensis* amastigotes. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 3: 526–534.
45. Miguel D. C., Zauli-Nascimento R. C., Yokoyama-Yasunaka J. K. et al. Tamoxifen as a potential antileishmanial agent: efficacy in the treatment of *Leishmania braziliensis* and *Leishmania chagasi* infections. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63: 2: 365–368.

Выполнено при поддержке РФФИ (гранты 15-04-06991-а и 16-34-01049-мол-а) и гранта Президента Российской Федерации МК-7709.2016.7.

46. Butts A., Koselmy K., Chabrier-Roselló Y. et al. Estrogen receptor antagonists are anti-cryptococcal agents that directly bind EF hand proteins and synergize with fluconazole *in vivo*. *mBio* 2014; 5: 1: e00765—00713.
47. Zhang X., Fang Y., Jaiseng W. et al. Characterization of tamoxifen as an antifungal agent using the yeast *Schizosaccharomyces pombe* model organism. *Kobe J Med Sci* 2015; 61: 2: E54—63.
48. Jang W. S., Kim S., Podder B. et al. Anti-mycobacterial activity of tamoxifen against drug-resistant and intra-macrophage *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Biotechnol* 2015; 25: 6: 946—950.
49. Murakami Y., Fukasawa M., Kaneko Y. et al. Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus life cycle. *Microb Infect/Institut Pasteur* 2013; 15: 1: 45—55.
50. Jordan V. C. Tamoxifen as the first successful targeted therapy in cancer: the gift that kept on giving. *Breast Cancer Manag* 2014; 3: 4: 321—326.
51. Singh M. N., Martin-Hirsch P. L., Martin F. L. The multiple applications of tamoxifen: an example pointing to SERM modulation being the aspirin of the 21st century. *Med Sci Monitor: Internat Med J Exper Clin Res* 2008; 14: 9: RA144—148.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Богуш Татьяна Анатольевна — д.б.н., профессор, заведующая лабораторией медицинской химии, ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России

Полежаев Борис Борисович — студент, Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова

Дудко Евгений Александрович — к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория медицинской химии, ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России

Богуш Елена Александровна — к.м.н., старший научный сотрудник, хирургическое отделение № 2 (диагностики опухолей), ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России

Кирсанов Владимир Юрьевич — к.м.н., научный сотрудник, хирургическое отделение № 2 (диагностики опухолей), ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России

Полоцкий Борис Евсеевич — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, хирургическое торакальное отделение, ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России

Тюляндин Сергей Алексеевич — д.м.н., профессор, ведущий отделением клинической фармакологии и химиотерапии, ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России

Давыдов Михаил Иванович — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России