

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

УДК 577.352.2:615.277.3:615.015.44

Д.А. Афанасьева, М.А. Барышникова, А.Ю. Барышников
**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ПРЕОДОЛЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ
ЛИПОСОМАЛЬНЫМИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ**
ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Контактная информация
Барышникова Мария Анатольевна, к.фарм.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной
диагностики и биотерапии опухолей НИИ ЭДнТО
адрес: 115478 Москва, Каширское ш., 24; тел. +7(499)324-10-65
e-mail: ma_ba@mail.ru

Статья поступила 02.02.2015, принята к печати 09.02.2015

Резюме

Проанализирован механизм индукции гибели клеток липосомальными противоопухолевыми препаратами. Липосомальные лекарственные формы доxorубина, цисплатина и аранозы преодолевают лекарственную устойчивость. Однако механизм преодоления лекарственной устойчивости у этих препаратов разный. Липосомальный доxorубин преодолевает множественную лекарственную устойчивость посредством связывания липосом с Р-гликопротеином в 185 позиции глицина. Липосомальный цисплатин преодолевает монорезистентность активацией генов внешнего апоптоза. Липосомальная араноза не использует CD95/Fas сигнальный путь апоптоза. Таким образом, механизм действия липосомального препарата зависит от типа клеток, от самого противоопухолевого препарата, заключенного в липосому, и может быть индивидуален в каждом конкретном случае.

Ключевые слова: множественная лекарственная устойчивость, противоопухолевые препараты, липосомы.

D.A. Afanasieva, M.A. Baryshnikova, A.Yu. Baryshnikov
**MOLECULAR MECHANISMS
OF MULTIDRUG RESISTANCE OVERCOMING
BY LIPOSOMAL ANTITUMOR DRUGS**
FSBSI «N.N. Blokhin RCRC», Moscow

Abstract

The liposomal antitumor drugs cell death induction mechanism has been analyzed in this work. Liposomal dosage forms of doxorubicin, cisplatin and aranosa overcome drug resistance. However, the mechanism of overcoming drug resistance by this drugs is different. Liposomal doxorubicin overcomes multidrug resistance by liposomes binding with the P-glycoprotein in 185 position of glycine. Liposomal cisplatin overcomes monoresistance by external apoptosis gene activation. The liposomal aranosa does not use CD95/Fas signaling pathway of apoptosis. Thus, liposomal drug action mechanism depends on the type of cells, and on the antitumor drug, that is enclosed in a liposome and can be individualized in each case.

Key words: multidrug resistance, antitumor drugs, liposomes.

Введение

В опухолевых клетках в ответ на действие даже одного цитостатического агента может развиваться МЛУ к большому количеству других препаратов, еще не воздействовавших на опухоль, различающихся по структуре и механизмам действия.

В основе лекарственной устойчивости лежит множество механизмов. Основные:

- 1) гиперэкспрессия генов множественной лекарственной устойчивости (ген множественной устойчивости MDR или Р-гликопротеин, MRP, BCRP и др.);
- 2) изменения в метаболизме липидов (церамидный путь);
- 3) элиминация препаратов детоксикационной системой;
- 4) секвестрация лекарства внутри лизосом и эндосом;

- 5) угнетение захвата препаратов через изменение поверхностных рецепторов и носителей;
- 6) инактивация лекарств через обусловленную глутатионом редукцию;
- 7) гиперэкспрессия таргетных ферментов, таких как тимидилат синтетаза;
- 8) изменение мишеней препаратов, таких как топоизомераза II;
- 9) повышение репаративной способности ДНК;
- 10) угнетение способности подвергаться апоптозу;
- 11) индукция гипоксией гиперэкспрессии генов семейства ABC-транспортёров, Bcl-2, глутатиона, металлотионина, через активацию транскрипционного фактора HIF1;
- 12) хромосомные нарушения в опухолевых клетках, приводящие к гиперэкспрессии антиапоптотических генов;

- 13) изменение сигнальных передающих путей в опухолевых клетках через интегриновые рецепторы, рецепторы факторов роста, приводящие к блокаде апоптоза и экспрессии MDR-подобных генов, которые вовлечены в восстановление ДНК и выкачивающий насос.

Развитие лекарственной резистентности – длительный биологический процесс, возникающий как защита клетки от индукции апоптоза после инкубации с повышающимися концентрациями препарата [56].

Наиболее интенсивно исследовалась МЛЮ, опосредованная генами семейства ABC-транспортёров. На основании гомологичной последовательности белков и филогенетического анализа у млекопитающих идентифицировано 56 ABC-транспортёров.

HUGO классифицировала ABC-транспортёры в 7 семейств: ABC1, MDR/TAP, MRP, ALD, OABP, GCN20, White. Семейства подразделяются на субсемейства (A, B, C), а те в свою очередь разделяются на изоформы (1; 2; 3 и т.д.). В клинических исследованиях показана связь между гиперэкспрессией ABC-транспортёров и резистентностью к химиотерапии [97; 102; 103].

В МЛЮ участвуют также 7 генов монорезистентности и гены рецепторов внешнего апоптоза [4; 40].

Проводится поиск способов и препаратов, преодолевающих лекарственную резистентность. Так, показано, что МЛЮ преодолевают липосомальные лекарственные формы противоопухолевых препаратов [3; 51; 72; 75]. На протяжении последних трех десятилетий липосомы изучаются в качестве многообещающей системы доставки противоопухолевых препаратов [2; 17; 25; 26; 34–39; 49]. В онкологической клинике эта концепция поддерживалась феноменом EPR, обеспечивающим пассивное накопление липосом определенного размера в солидных опухолях [5; 15–17; 53]. Этот эффект обусловлен патологическим ангиогенезом в опухоли [45; 104–107]. Клиническое применение липосом рассмотрено в ряде обзоров [34–38; 62]. В клинике липосомы применяются с целью снижения системной токсичности [21–23]. Так, Doxil (ПЭГилированные липосомы, содержащие доксорубин) имеет значительно меньшую кардиотоксичность по сравнению с таковой свободного препарата [91].

Вообще, критически важным параметром является высвобождение препарата из липосомы. В связи с этим фактом фармацевты разрабатывают липосомы с контролируемым высвобождением: термочувствительные и pH-зависимые [46–48; 79].

Липосомальная лекарственная форма изменяет биодоступность противоопухолевых веществ, их фармакокинетику, фармакоцикинетику, сигнальные пути индукции клеточной гибели [6; 24; 42; 43; 52].

Механизмы действия липосомальных препаратов следует рассматривать

- 1) на уровне макроорганизма (фармакокинетика, захват клетками РЭС,
- 2) на уровне опухоли (измененный ангиогенез),
- 3) на уровне клетки (пути проникновения, сигнальные пути, мишени).

Действие липосомальных препаратов на уровне организма и опухоли рассмотрено в обзорах [6; 9; 28].

Хотя стратегия использования липосом приводит к локальному и внутриклеточному накоплению противоопухолевых препаратов, неожиданно малое количество работ сфокусировано на использовании липосом для преодоления лекарственной устойчивости и изучении механизмов преодоления этого феномена [75].

Целью настоящего литературного обзора является анализ возможных механизмов действия липосомальных противоопухолевых препаратов.

Гиперэкспрессия ABC-транспортёров

Исследований, посвященных преодолению липосомами МЛЮ, связанной с ABC-транспортёрами, немного. Большинство исследований были проведены с липосомальным доксорубином [51; 101]. Свободный доксорубин попадает в клетки через несколько минут после начала инкубации, затем быстро выводится из них ABC-транспортёрами [61]. Доксорубин входит в круг препаратов МЛЮ и выбрасывается из клетки по принципу градиента посредством насоса, который является Р-гликопротеином, или других ABC-транспортёров. Работы проводили на клеточных линиях с гиперэкспрессией Р-гликопротеина [83; 91]. Липосомальный доксорубин попадает в клетку через 1–3 ч инкубации [90]. Затем он достигает ядер резистентных клеток [99]. Липосомальный доксорубин был цитотоксичным для резистентных клеток линии A2780/AD рака яичника и клеток линии CT26/DOX толстой кишки, растущих у иммунодефицитных мышей [84; 110], а также для карциномы Герена у крыс [101]. Липосомальный доксорубин имеет лучший терапевтический индекс у больных с метастатическим раком молочной железы с плохим ответом на химиотерапию [81]. Кроме того липосомальный доксорубин вызывает апоптоз в клетках эндотелия сосудов в лекарственно-резистентных опухолях [84].

Доксорубин выбрасывается из клеток линии K-562, и они устойчивы к цитотоксическому действию препарата [51]. С другой стороны, липосомальный доксорубин вызывал гибель как родительских клеток K-562, так и клеток с гиперэкспрессией *MDR1* дозо-зависимым образом. Похожие результаты были получены на клетках рака молочной железы MCF-7/Dox, гиперэкспрессирующих Р-гликопротеин [70]. R. Krishna et LD. Mayer [74] использовали липосомальный доксорубин и ингибитор Р-гликопротеина PSC 833 и продемонстрировали хороший результат этой комбинации.

Одна из проблем доставки препаратов с помощью липосом заключается в плохом проникновении последних в опухолевые клетки. Липосомы проникают в клетку посредством эндоцитоза [28]. Однако не все клетки способны эндоцитировать липосомы. Для улучшения проникновения липосом в клетки используются ТАТ-пептиды, антитела [6; 53] и различные лиганды, связывающиеся с рецептором [71]. T. Kobayashi et al. [71] для улучшения эндоцитоза липосом присоединили к ним трансферрин, который связываясь с рецептором трансферрина (CD71) индуцирует попадание этих таргетных липосом в CD71⁺ клетки. Липосомальный доксорубин накапливался в резистентных по *MDR* клетках SBC-3 в 3,5 раз больше, чем свободный доксорубин. Эффект липосомального доксорубина на *MDR*⁺ клетки не отличался от такового на *MDR*⁺. С помощью конфокальной микроскопии показали, что инкапсулированный в липосомы доксорубин локализовывался внутри клеток, особенно – в ядре [71].

A. Rohaman et al. [91] продемонстрировали, что инкапсулированный в липосомы доксорубин был более цитотоксичен для клеток LZ китайского хомячка, колоректального рака человека и миело-моноцитарного лейкоза HL-60, гиперэкспрессирующих MDR1, по сравнению с о свободным препаратом. Эти же липосомы убивали клетки HL-60, устойчивые к адриамицину и винкристину. Концентрация свободного доксорубина, вызывающая 50 %-ную ингибицию роста клеток (ИК₅₀), была для линий HL-60, HL-60/ADR, HL60/VCR соответственно 30 нМ, 9 мкМ, 0,9 мкМ. ИК₅₀ липосомального доксорубина для клеток HL-60 и HL-60/ADR составила 20 нМ и 9 мкМ соответственно. Клетки HL-60/VCR были более чувствительны к липосомальному доксорубину по сравнению со свободным препаратом. Авторы изучали возможный механизм преодоления МЛУ. Липосомы, нагруженные доксорубином или пустые, ингибировали фотоаффинность меченного азидопином Р-гликопротеина [100].

Из этих экспериментов сделали заключение, что липосомальный доксорубин преодолевает резистентность MDR1, напрямую взаимодействуя с Р-гликопротеином. Мембрана резистентных клеток более текучая по сравнению с мембраной чувствительных клеток [58]. Сообщалось, что эффективность интернализации липосом в клетки является функцией липидной композиции [78]. Для мультирезистентных клеток характерными признаками являются текучесть клеточной мембраны, неспецифический адсорбционный эндоцитоз, повышенный трафик между цитоплазматической мембраной и мембранами внутриклеточных органелл [63].

Спустя 20 лет итальянские коллеги вернулись к изучению механизма преодоления МЛУ липосомальным доксорубином [90]. Они использовали анионные липосомы, содержащие доксорубин («Липодокс»). В качестве модели служили клетки HT29 рака толстой кишки человека с гиперэкспрессией Р-гликопротеина. Липосомальный доксорубин одинаково действовал на обычные клетки HT29 и резистентные клетки HT29-dx. Однако свободный доксорубин убивал только клетки без экспрессии Р-гликопротеина. Активность липосом не повышалась под действием верапамила или циклоспорина. Эксперименты по блокаде связывания показали, что липосомы конкурировали с веропамиллом и циклоспорином за места связывания. Сайт-направленным мутагенезом доказали, что местом связывания липосом является глицин в 185-й позиции в Р-гликопротеине.

Таким образом, липосомальные препараты ингибируют МЛУ путем связывания Р-гликопротеина в 185-й позиции глицина.

Резистентность к цисплатину

Цисплатин¹ является главным компонентом стандартной химиотерапии рака яичника.

Препарат образует сшивки в ДНК, которые наиболее часто представляют собой перекрестные связи между цепями или внутри цепей ДНК. Сшивки платины с ДНК ингибируют ДНК- и РНК-полимеразы, нарушают деление клеток и индуцируют программированную клеточную смерть (апоптоз) [18; 66–68; 93]. Образование ДНК-аддуктов является главным механизмом действия

платиновых препаратов. Цисплатин индуцирует образование ROS, фосфорилицию p38 MAPK [108] и митохондриальный путь апоптоза [57].

Лекарственная устойчивость к препаратам платины зависит от генов монорезистентности *ERCC1* и *ERCC2*. Эти гены определяют индивидуальную переносимость препаратов платины (оксалиплатин) при проведении химиотерапии. Ферменты *ERCC1* и *ERCC2* относятся к группе ферментов, участвующих в эксцизионной репарации ДНК путем удаления нуклеотидов NER. Такие ферменты распознают и удаляют одиночные ошибочно спаренные нуклеотиды, а также петли длиной в 1–3 нуклеотида. NER человека способна восстанавливать цепи ДНК в случае повреждения нуклеотидов. Повышенная экспрессия *ERCC1* и *ERCC2* ассоциирована с пониженной чувствительностью опухолей к воздействию препаратов платины. Наличие полиморфизма в 118 кодоне *ERCC1* связано со снижением экспрессии гена и, соответственно, с увеличением эффективности применения оксалиплатина. Распространенность полиморфизма среди европейской популяции составляет около 35 % [85].

Резистентность к цисплатину не зависит от Р-гликопротеина [75]. Механизмы, приводящие к резистентности к препаратам платины, комплексные:

- 1) угнетение захвата [80; 94], повышение выброса [60] и повышение инактивации цисплатина [86];
- 2) дефект в распознавании повреждения ДНК в результате развития клеточной толерантности платинизации ДНК [65; 89; 109];
- 3) повышение экспрессии генов, стимулирующих пролиферацию клеток и ингибирующих апоптоз [59];
- 4) лекарственная устойчивость к препаратам платины зависит от генов монорезистентности *ERCC1* и *ERCC2*.

L. Galluzi и соавт. разделили механизмы резистентности к платине на претаргетную резистентность, таргетную, посттаргетную и внетаргетную [66; 67].

На модели клеток рака яичника A2780cis было показано, что цисплатин в липосомальной лекарственной форме преодолевает лекарственную резистентность, индуцированную свободным цисплатином [75]. Липосомальный цисплатин проникает в клетки A2780 рака яичника, используя клатрин-зависимый эндоцитоз, т.к. они утратили кавеоллин-1, опосредующий кавеолиновый захват. Липосомы аккумулируются преимущественно в поздних эндосомах/лизосомах. Цисплатин освобождается из лизосом и транспортируется в ядро [72].

В последующем эта группа авторов показала, что цитотоксическое действие липосомального цисплатина не ассоциировано с определяемой платинизацией ДНК в резистентных к цисплатину клетках рака яичника [72]. Это подтверждает, что механизм действия липосомального цисплатина отличается от свободного препарата. С целью досконального изучения механизма действия липосомального цисплатина, провели транскриптомный анализ устойчивых клеток после воздействия препаратами в ИК₅₀. Анализ регуляции генов показал, что липосомальный цисплатин индуцирует экспрессию профиля различных генов, который отличается от профиля, индуцированного свободным препаратом. Главным регулятором экспрессии генов был ген-супрессор p53. Свободный цисплатин индуцировал гены митохондриального апоптоза (*BAX*, *BID*,

¹Основным механизмом действия препаратов платины является прямое повреждение ДНК.

CASP9) возможно через активацию p38MAPK. В противоположность, липосомальный цисплатин индуцировал экспрессию генов путей повреждения ДНК и некоторых генов сигнальных путей внешнего апоптоза (*TNFRSF10B-DR5*, *CD70-TNFSF7*, *CD95/Fas*). Эти результаты указывают на то, что липосомальный цисплатин преодолевает цисплатин-индуцированную резистентность путем индукции повреждения ДНК и индукции сигнального пути внешнего апоптоза через рецепторы TNF. Этот вывод был подтвержден на уровне белков антителами к молекулам апоптоза [72]. Эта группа исследователей в последующем доказала это путем использования ингибиторов каспаз-8 и -9 [98]. Липосомальный цисплатин действительно индуцировал сигнальный путь внешнего апоптоза, активируя гены семейства TNF.

Рецепторы апоптоза

Механизм лекарственной устойчивости также связан с рецептором внешнего сигнального пути апоптоза CD95/Fas [4; 50; 54; 55; 64; 76; 87; 88]. CD95 является членом суперсемейства рецепторов опухоли-некротического фактора (TNF) [4; 73]. Все члены этого семейства характеризуются наличием в цитоплазматической области домена смерти. В это суперсемейство входят рецепторы: CD95/Fas, TNF-R1, TRAILR-1, TRAILR-2, DR3, DR6 [77]. Перекрестное связывание CD95-рецептора с его лигандом или антителами против CD95 индуцирует апоптоз в чувствительных клетках. Наличие связанного с мембраной лиганда CD95L является обязательным условием для инициации сигнального пути. По экспрессии CD95/Fas лиганда клетки делятся на 2 типа. Первый тип клеток характеризуется высоким содержанием CD95/Fas и высоким уровнем каспазы-8, которая активирует каспазу-3 и индуцирует апоптоз. Второй тип клеток имеет низкий уровень CD95 DISC, и апоптотический сигнал опосредован через Bid с помощью прокаспазы-8 и транслокацией Bid в митохондрии и индукцией митохондриального пути апоптоза через каспазу-9 и активацию каспазы-3.

Химиопрепараты индуцируют выработку аутологичного лиганда, который соединяясь с рецептором иницирует каскад сериновых протеаз каспаз [4]. Утрата CD95/Fas рецептора приводит к устойчивости клетки к химиопрепаратам [7; 8; 14; 41; 44; 95; 96]. Опухолевые клетки утрачивают CD95 рецептор для ухода от иммунологического надзора [4]. Такие клетки устойчивы к внешнему апоптозу под влиянием химиопрепаратов.

Продукт гена множественной лекарственной устойчивости *MDR1* Р-гликопротеин ингибирует CD95/Fas-индуцированный апоптоз путем ингибции активности каспазы-8, но не препятствует образованию комплекса, индуцирующего сигнал смерти [92].

Липосомальные препараты преодолевают резистентность в клетках с отсутствием рецептора внешнего апоптоза CD95/Fas, и включенный в липосомы препарат оказывает цитотоксическое действие на клетки дозо-зависимым образом [7; 14].

В исследованиях использовали два препарата из группы нитрозомочевины² аранозу и ормустин [13; 19; 27]. Изучение механизма гибели клеток показало, что липосомальная араноза, использованная в этих опытах, вызывала апоптоз меланомных клеток.

²Эти антиметаболиты индуцируют алкилирование ДНК [69].

Эффект проявлялся при инкубации клеток с липосомальным препаратом в течение 24; 48 и 72 ч.

Сотрудники РОНЦ им. Н.Н. Блохина обнаружили, что в отсутствие CD95/Fas рецептора клетки становятся устойчивыми к цитотоксическому действию противоопухолевых препаратов [10–12; 41; 44; 95; 96].

Потеря клетками острого лимфобластного лейкоза линии *Jurkat* рецептора CD95/Fas приводила к устойчивости к доксорубину и этопозиду [95; 96]. Потеря меланомными клетками линии *mel Mtp* рецептора CD95/Fas сделала их устойчивыми к препаратам из группы нитрозомочевины [7; 14].

Показано, что липосомальные препараты из группы производных нитрозомочевины преодолевают лекарственную устойчивость, вызванную отсутствием рецептора CD95/Fas [7; 8; 13; 14].

Для изучения механизма этого феномена были исследованы клеточные линии меланомы человека, полученные в РОНЦ им. Н.Н. Блохина по программе разработки противоопухолевых вакцин [1; 29–33; 82].

Была исследована экспрессия рецептора CD95/Fas и мРНК этого гена внешнего апоптоза. Обнаружено, что клетки *mel Mtp* и *mel MtpX* не экспрессируют рецептор CD95/Fas и не имеют мРНК этого гена. Клетки *mel Z* не экспрессируют рецептор CD95/Fas, но содержат мРНК CD95/Fas [7; 14].

Все эти клетки были резистентны к цитотоксическому действию аранозы и ормустина [13; 19; 20]. Однако они были чувствительны к цитотоксическому действию липосомальных лекарственных форм этих препаратов.

Затем была исследована индукция апоптоза в них под действием свободных и липосомальных форм препаратов.

Апоптоз определяли методом двойного окрашивания аннексином V, меченным FITC, и пропидием иодидом. В качестве контроля были выбраны клетки *mel Kor*, которые экспрессировали рецептор CD95/Fas и имели мРНК.

В клетках *mel Kor* свободная араноза, так же как и липосомальная араноза, индуцировала апоптоз. На клетках *mel Z*, *mel Mtp*, *mel MtpX*, на которых отсутствовал рецептор CD95/Fas, свободная араноза не индуцировала апоптоз в отличие от липосомальной аранозы [8].

Из этих исследований был сделан вывод, что липосомальная араноза не использует сигнальный путь CD95/Fas внешнего апоптоза.

Заключение

Липосомальные лекарственные формы доксорубина, цисплатина и аранозы преодолевают лекарственную устойчивость.

Однако указанные механизмы у этих препаратов разные. Так, липосомальный доксорубин преодолевает МЛУ посредством связывания липосом с Р-гликопротеином в 185-й позиции глицина. Липосомальный цисплатин преодолевает монорезистентность активацией генов внешнего апоптоза. Липосомальная араноза не использует сигнальный путь апоптоза CD95/Fas.

Таким образом, механизм действия липосомального препарата зависит от типа опухолевых клеток, от самого противоопухолевого препарата, заключенного в липосому, и может быть индивидуален в каждом конкретном случае.

Литература

1. Альбассит Б., Барышникова М.А., Игнатъева Е.В. и др. Разработка липосомальной лекарственной формы нового соединения из класса нитрозоалкилмочевины // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С.5.
2. Афанасьева Д.А., Барышникова М.А., Щербаков А.И. и др. Разработка модели противоопухолевой липосомальной вакцины // Иммунология. – 2014. – №6. – С. 317–21.
3. Барышников А.Ю. Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов // Вестник РАМН. – 2012. – № 3. – С. 23–32.
4. Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Программированная клеточная смерть (апоптоз) // Российский онкологический журнал. – 1996. – № 1. – С. 58.
5. Барышникова М.А., Барышников А.Ю. Иммунолипосомы и мишени их действия // Российский химический журнал. Журнал Российского химического общества им. Д.И.Менделеева. – 2012. – Т. LVI, № 3–4. – С. 60–7.
6. Барышников А.Ю., Оборотова Н.А. Иммунолипосомы – новое средство доставки лекарственных препаратов // Современная онкология. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 4.
7. Барышникова М.А., Грищенко Н.В., Бурова О.С. и др. Роль CD95/Fas рецептора в индукции апоптоза противоопухолевыми препаратами // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 3–8.
8. Барышникова М.А., Грищенко Н.В., Полозкова А.П. Влияние лекарственных форм аранозы на индукцию апоптоза // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 64.
9. Барышникова М.А., Зангиева М., Барышников А.Ю. Взаимодействие липидных капсул с клеткой // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 11–5.
10. Блохин Д.Ю., Чмутин Е.Ф., Иванов П.К. Молекулярные мишени для противоопухолевой терапии: факторы роста, ангиогенеза и апоптоза // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 25–30.
11. Блохин Д.Ю., Соколовская А.А., Власенкова Н.К. и др. Множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток, резистентных к апоптозу // Вестник РАМН. – 2007. – № 10. – С. 41–6.
12. Блохин Д.Ю., Власенкова Н.К., Герасимова Г.К. и др. Поиск молекулярных механизмов обеспечения множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 10.
13. Грищенко Н.В., Альбассит Б., Барышникова М.А. и др. Сравнение цитотоксического действия двух лекарственных форм противоопухолевых препаратов из класса нитрозомочевины // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 49–53.
14. Грищенко Н.В., Барышникова М.А., Полозкова А.П. и др. Липосомальные противоопухолевые препараты не используют CD95-зависимый сигнальный путь апоптоза // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 37–42.
15. Гуревич Д.Г., И.Г. Меерович И.Г., Г.А. Меерович Г.А. и др. Влияние размеров липосом на уровень и селективность накопления тиосенса в опухоли // Российский биотерапевтический журнал. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 45–9.
16. Дмитриева М.В., Оборотова Н.А., Санарова Е.В., Бунатян Н.Д. Наноструктурированные системы доставки противоопухолевых препаратов // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 21–7.
17. Дмитриева М.В., Оборотова Н.А., Орлова О.Л. и др. Липосомальная лекарственная форма борхлорина // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 37–42.
18. Карапетян В.Л., Степанова Е.В., Барышников А.Ю. и др. Экспрессия маркеров апоптоза (p53, BCL-2, BAX) и их прогностическое значение при эпителиальных новообразованиях яичников ранних стадий // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 45–9.
19. Козеев С.Г., Барышникова М.А., Афанасьева Д. и др. Сравнение цитотоксического действия двух лекарственных форм аранозы // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – № 2. – С. 24.
20. Козеев С.Г., Барышникова М.А., Полозкова А.П., Оборотова Н.А. Разработка наноструктурированной лекарственной формы аранозы // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 24.
21. Коняева О.И., Кульбачевская Н.Ю., Ермакова Н.П. и др. Доклиническое изучение общетоксического действия лиофилизированной липосомальной формы тиосенса (ЛЛЛФТ) // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 43.
22. Кульбачевская Н.Ю., Коняева О.И., Ермакова Н.П. и др. Изучение «хронической» токсичности лиофилизированной липосомальной лекарственной формы тиосенса на крысах // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 30.
23. Кульбачевская Н.Ю., Коняева О.И., Дмитриева М.В., Оборотова Н.А. Изучение «острой» токсичности липосомальной лекарственной формы борхлорина // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 51–6.
24. Левачева И.С., Барышникова М.А. Направленная доставка противоопухолевых препаратов липосомами // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 2. – С.32.
25. Ланцова А.В., Оборотова Н.А., Перетолчина Н.М. и др. Сравнительное изучение противоопухолевой активности липосомальных лекарственных форм препаратов производных нитрозоалкилмочевины // Сибирский онкологический журнал. – 2005. – №2. – С. 25–9.
26. Ланцова А.В., Барышникова М.А., Санарова Е.В. Изучение в системе in vitro наноструктурированной лекарственной формы лизомустина // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 31.

27. Лихванцева В.Г., Оборотова Н.А., Когония Л.М. и др. Первый опыт применения аранозы в лечении увеальных меланом // Российский биотерапевтический журнал. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 34–9.
28. Матюшин А.А., Барышникова М.А., Барышников А.Ю., Караулов А.В. Липосомы: организм, опухоль, клетка // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогеномика. – 2013. – Т. 17, № 6. – С. 3–10.
29. Михайлова И.Н., Лукашина М.И., Барышников А.Ю. и др. Клеточные линии меланомы – основа для создания противоопухолевых вакцин // Вестник РАМН. – 2005. – № 7. – С. 37–40.
30. Михайлова И.Н., Ковалевский Д.А., Бурова О.С. и др. Экспрессия раково-тестируемых антигенов в клетках меланомы человека // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – №1(37). – С. 29–39.
31. Михайлова Т.В., Барышникова М.А., Клименко О.В. и др. Разработка липосомальной формы противоопухолевой вакцины // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 62–66.
32. Михайлова Т.В., Барышникова М.А., Багирова Н.С. и др. Стерилизация многослойных протеолипосом // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 1. – С. 9–12.
33. Михайлова Т.В., Барышникова М.А., Бурова О.С. и др. Сравнение уровня экспрессии HSP70 на клеточных линиях меланомы // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9, № 1. – С. 43–8.
34. Оборотова Н.А. Липосомальные лекарственные формы противоопухолевых препаратов (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. – 2001. – Т. 35, № 5. – С. 30.
35. Оборотова Н.А. Основные проблемы создания лекарственных форм противоопухолевых препаратов для внутривенного введения // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – Т. 2, № 2. – С. 27–31.
36. Оборотова Н.А. Направленная доставка противоопухолевых препаратов // Антибиотики и химиотерапия. – 1991. – Т. 36, № 10. – С. 47.
37. Оборотова Н.А., Барышников А.Ю. Липосомальные лекарственные формы в клинической онкологии // Успехи современной биологии. – 2001. – Т. 121, № 5. – С. 464.
38. Оборотова Н.А., Санарова Е.В. Роль новых фармацевтических технологий в повышении избирательности действия противоопухолевых препаратов // Российский химический журнал. – 2012. – № 3–4. – С. 33–40.
39. Оборотова Н.А., Смирнова З.С., Полозкова А.П., Барышников А.Ю. Фармацевтические аспекты разработки липосомальных лекарственных форм для внутривенного введения гидрофобных цитостатиков // Вестник РАМН. – 2002. – № 1. – С. 42–45.
40. Рыжов С.В., Новиков В.В. Молекулярные механизмы апоптатических процессов // Российский биотерапевтический журнал. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 27–33.
41. Славина Е.Г., Бигвава Х.А., Заботина Т.Н. и др. Модификация фактором некроза опухоли (ФНО-альфа) цитотоксического и апоптотического действия противоопухолевых лекарств в клетках меланомы человека // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 37–44.
42. Смирнова З.С., Миерович И.Г., Лукьянец Е.А. и др. Фенилтиозамещенные фталоцианины – новые фотосенсибилизаторы ближнего инфракрасного диапазона // Российский биотерапевтический журнал. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 54–60.
43. Смирнова З.С., Оборотова Н.А., Макарова О.А. и др. Эффективность и фармакокинетика липосомальной лекарственной формы фотосенсибилизатора «Фотосенс» на основе сульфаталоцианина // Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – Т. 39, № 7. – С. 3–7.
44. Соколовская А.А., Заботина Т.Н., Блохин Д.Ю., Барышников А.Ю. Индентификация лекарственно-индуцированного апоптоза в лейкозных клетках // Медицинская иммунология. – 1999. – Т. 1, № 3–4. – С. 109.
45. Степанова Е.В., Барышников А.Ю., Личиницер М.Р. Оценка ангиогенеза опухолей человека // Успехи современной биологии. – Т. 120, № 6. – С. 599.
46. Тазина Е.В., Костин К.В., Оборотова Н.А. Особенности инкапсулирования лекарственных препаратов в липосомы // Химико-фармацевтический журнал. – 2011. – № 8 (45). – С. 30–40.
47. Тазина Е.В., Мецереякова В.В., Игнатьева Е.В. и др. Биофармацевтические исследования термочувствительной липосомальной лекарственной формы доксорубина // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 40–7.
48. Тазина Е.В., Оборотова Н.А. Селективная доставка препаратов в опухоль с помощью термочувствительных липосом и локальной гипертермии // Российский биотерапевтический журнал. – 2008. – Т. 7, № 3. – С. 4–12.
49. Толчева Е.В., Оборотова Н.А. Липосомы как транспортное средство для доставки биологически активных молекул // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 54–61.
50. Уткин О.В., Сахарнов Н.А., Преснякова Н.Б. и др. Экспрессия CD95/Fas в клетках крови при раке толстой кишки // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 1. – С. 23–9.
51. Шоуа И.Б., Полозкова А.П., Оборотова Н.А. и др. Действие липосомального доксорубина на клетки линии, экспрессирующие активный pgr170 // Российский биотерапевтический журнал. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 20–3.
52. Хугаева О.В., Яворская Н.П., Голубева И.С. и др. Сравнительное изучение противоопухолевой активности различных лекарственных форм метаксантрона // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9, № 3. – С. 51–4.
53. Baryshnikov A.Yu., Baryshnikova M.A. Immunoliposomes and their targets // Russian J. General Chemistry. – 2013. – 83(12). – P. 2565–70.
54. Baryshnikov A.Y., Polosukhina E.R., Tupitsin N.N. et al. CD95 (Fas/APO-1) antigen is a new prognostic marker of blast cells of acute lymphoblastic leukaemia patients / Book Editor(s): Kaspers, GJL; Pieters, R; Veerman, AJP. Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma III Book Series: Advances in Experimental Medicine and Biology. 1999. – Vol.: 457. – P. 251–258
55. Baryshnikov A.Yu., Polosukhina E.R., Zabolina T.N. et al. FAS(APO-1/CD95) antigen: new activation marker for evaluation of the immune status // Russian Immunological J. – 1997. – 2(2). – P. 115.

56. Behrens B.C., Hamilton T.C., Masuda H. et al. Characterization of a c/s-doamminedichloroplatinum(II)-resistant human ovarian cancer cell line and its use in evaluation of platinum analogues // *Cancer Res.* – 1987. – 47. – P. 414–8.
57. Brogadij P., Armesilla A., Silva A., Porras A. Apoptosis by cisplatin requires p53 mediated p38alpha MAPK activation through ROS generation // *Apoptosis.* – 2007. – 12. – P. 1733–42.
58. Chauffert B., Martin F., Caignard et al. Cytofluorescence localization of Adriamycin in resistant colon cancer cells // *Cancer Chemother Pharmacol.* – 1984. – 13. – P. 14–8.
59. Cheng J.Q., Jiang X., Fraser M. et al. Role of X-linked inhibitor of apoptosis protein in chemoresistance in ovarian cancer: possible involvement of the phosphoinositide-3 kinase/Akt pathway // *Drug Resist Update.* – 2002. – 5. – P. 131–46.
60. Cole S.P.C., Deeley R.G., Transport of glutathione and glutathione conjugates by MRP // *Trends Pharmacol Sci.* – 2006. – 27. – P. 438–46.
61. Dalmarks M., Storms H., Fickian H. Transport process with features of transport catalysis. Doxorubicin transport in human red blood cells // *J. Gen. Physiol.* – 1981. – 78. – P. 349–64.
62. Davis M.E., Cheng Z.G., Shin D.M. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer // *Nat Rev Drug Disco.* – 2008. – 7. – P. 771–82.
63. Endicott J.A., Lino V. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance // *Ann Rev Biochem.* – 1989. – 58. – P. 137–71.
64. Flandalo M.V., Kyprianou N. Caspase control: protagonists of cancer cell apoptosis // *Exp. Oncol.* – 2012. – 34. – P. 165–75.
65. Francia G., Green S.K., Bocci G et al. Down-regulation of DNA mismatch repair proteins in human and murine tumor spheroids: implications for multicellular resistance to alkylating agents // *Mol Cancer.* – 2005. – 4. – P. 1484–94.
66. Galluzzi L., Senovilla L., Vitale I. et al. Molecular mechanism of cisplatin resistance // *Oncogene.* – 2012. – 31. – P. 1869–83.
67. Galluzzi L., Vitale I., Michels J. et al. System biology of cisplatin resistance: past, present and future // *Cell Death and Disease.* – 2014. – 5. – e1257.
68. Jung Y., Lippard S. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage // *Chemical Rev.* – 2006. – 107.
69. Kapse-Mistry S., Govender T., Srivastava R., Yergen M. Nanodrug delivery in reversing multidrug resistance in cancer cells // *Frontiers in Pharmacology.* – 2014. – 5. – P. 159–81.
70. Khariton N., Chekhun V.F., Yuchenco O.V., Rusetskaya N.V. Distribution and accumulation of liposomal form of doxorubicin in breast cancer cells of MCF-7 line // *Experimental Oncology.* – 2011. – 33. – P. 2.
71. Kobayashi T., Ishida T., Okada Y. et al. Effect of transferrin receptor-targeted liposomal doxorubicin in P-glycoprotein-mediated drug resistance tumor cells // *Int J. Pharm.* – 2007. – 329. – P. 94–102.
72. Koch M., Krieger M.L., Stolting D. et al. Overcoming chemotherapy resistance of ovarian cancer cells by liposomal cisplatin: Molecular mechanisms unveiled by gene expression profiling // *Biochemical Pharmacology.* – 2013. – 85. – P. 1077–90.
73. Krammer P.H., Arnold R., Lavnik I.N. Life and death in peripheral T cells // *Nat Rev Immunol.* – 2007. – 7. – P. 532–42.
74. Krishna R., Mayer L.D. The use of liposomal anticancer agents to determine the roles of drug pharmacodistribution and P-glycoprotein (PGP) blockade in overcoming multidrug resistance // *Anticancer Res.* – 1999. – 19(4B). – P. 2885–91.
75. Kriger M.L., Eckstein N., Schneider V. et al. Overcoming cisplatin resistance of ovarian cancer cells by targeted liposomes in vitro // *Int J Pharm.* – 2010. – 389. – P. 10–7.
76. Lavric I.N. Systems biology of death receptor networks: live and die // *Cell Death and Disease.* – 2014. – 5. – e1259.
77. Lavic I.N., Krammer P.H. Regulation of CD95/Fas signaling at the DISC // *Cell Death Differ.* – 2012. – 19. – P. 36–41.
78. Lee K.D., Hong K., Papahadiopoulos D. Recognition of liposomes by cells: In vitro binding and endocytosis mediated by specific lipid head groups and surface charge density // *Biochim Biophys Acta.* – 1992. – 1103. – P. 185–97.
79. Levacheva I., Samsonova O., Tazina E. et al. Optimized thermosensitive liposomes for selective doxorubicin delivery: Formulation development, quality analysis and bioactivity // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2014. – 121. – P. 248–56.
80. Liang X.-J., Mukherjee S., Shen D.-M. et al. Endocytic recycling compartments altered in cisplatin-resistant cancer cells // *Cancer Res.* – 2006. – 66. – P. 2346–53.
81. Leonard R.C.F., Williams S., Tulpule A. et al. Improving the therapeutic index of anthracycline chemotherapy: Focus on liposomal doxorubicin (MyocetTM) // *Breast.* – 2009. – 18. – P. 218–24.
82. Michailova I.N., Morozova L.Ph., Golubeva V.A. et al. Cancer/testis genes expression in human melanoma cell lines // *Melanoma Research.* – 2008. – № 5. – P. 303–13.
83. Mickisch G.H., Ranman A., Pastan I. et al. Increased effectiveness of liposome-encapsulated doxorubicin in multidrug-resistance-transgenic mice compared with free doxorubicin // *J Natl Cancer Inst.* – 1992. – 84.
84. Ogawara K., Un K., Tanaka K. et al. In vivo anti-tumour effect of PEG liposomal doxorubicin (DOX) in DOX-resistant tumour-bearing mice: Involvement of cytotoxic effect on vascular endothelial cells // *J. Controlled Release.* – 2009. – 133. – P. 4–10.
85. Park D.J., Zhang W., Sloehmacher J. et al. ERCC1 gene polymorphism as a predictor for clinical outcome in advanced colorectal cancer patients treated with platinum-based chemotherapy // *Clin Adv Hematol. Oncol.* – 2003. – 1(3). – P. 162–6.
86. Pasello M., Michelaco F., Scionti I. et al. Overcoming glutathione S-transferase P1-related cisplatin resistance in osteosarcoma // *Cancer Res.* – 2008. – 68. – P. 6661–4.

87. Polosukhina E.R., Zabolina T.N., Shishkin Yu.V. *et al.* Studing of Fas(APO-1/CD95) antigen expression by flow cytometry with monoclonal antibodies IPO-4 // *Experimental Oncology*. – 1997. – 19(3). – P. 206–11.
88. Polosukhina E.R., Baryshnikov A.Yu., Shishkin Yu.V. *et al.* Expression of antigen CD95(Fas/APO-1) medisting apoptosis in hemoblastosis using monoclonal antibodies ICO-160 // *Hematology and transfusiology*. – 2000. – 45(4). – P. 3–6.
89. Powell S.N., Bindra R.S. Targetting the DNA damage response for cancer therapy // *DNA Repair*. – 2009. – 8. – P. 1153–65.
90. Riganti C., Voena C., Kapecka J. *et al.* Liposome-encapsulated doxorubicin rwversed drug resistemce by inhibiting P-glycoprotein in human cancer cells // *Molecular Pharmaceutics*. – 2011. – 8. – P. 683–700.
91. Rohaman A.M., Yusuf S.W., Ewer M.S. Antracyclin-induced cardiotoxicity and the cardiac-sparing effect of liposomal formulation // *Int J Nanjmed*. – 2007. – 2. – P. 567–83.
92. Ruefli A.A., Tainton K.M., Darcy P.K. *et al.* P-glycoprotein inhibits caspase-8 activation but not formation of the death inducing signal complex (disc) following Fas ligation // *Cell Death Differ*. – 2002. – 9. – P. 1266–72.
93. Sancho-Martinez S.M., Prieto-Garcia L., Prieto M. *et al.* Subcellular targets of cisplatin cytotoxicity: an integran view // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2012. – 136. – P. 35–55.
94. Shen D.W., Pouliot F., Hall M.D. *et al.* Cisplatin resistance: a cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes // *Pharmacol Rev*. – 2012. – 64. – P. 705–21.
95. Sokolovskaya A.A., Zabolina T.N., Blokhin D.Yu. *et al.* Comparative analysis of apoptosis induced by various anticancer drugs in Jurkat cells // *Experimental Oncology*. – 2001. – 23(1). – P. 46–50.
96. Sokolovskaya A.A., Zabolina T.N., Blokhin D.Yu. *et al.* CD95-dificient cells of Jurkat/A4 subline are resistant to drug-induced apoptosis // *Experimental Oncology*. – 2001. – 23(3). – P. 175–80.
97. Stavrovskaya A.A., Sedyakhina N.P., Stromskaya T. *et al.* Prognostic value of P-glycoprotein and correlation with CD34 antigen // *British J. Heamatology*. – 1998. – 28(5–6). – C. 469–82.
98. Stolting D., Koch M., Wiese M. *et al.* Liposomal cisplatin can overcome chemotherapy resistance of A2780 ovarian cancer cells by inducing the extrinsic apoptotic pathway // *Int J Clinic Pharmacol and Therap*. – 2014. – 52. – P. 78–81.
99. Thiery A.R., Dritschalo A., Rahmon A. Effect of liposome on P-glycoprotein function in multidrug-resistance cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. – 1992. – 187. – P. 1098–108.
100. Thiery A.R., Vige D., Coughlin S. *et al.* Modulation of doxorubicin resistance in multidrug resistant cells by liposomes // *FASEB J*. – 1993. – 7. – P. 572–9.
101. Todor I.N., Lukianova N.Y., Tymovska Y.A. *et al.* The effect of liposomal doxorubicine form on drug resistant tumor phenotype // *Oncology*. – 2013. – 15(4). – P. 279–85.
102. Turkina A.G., Baryshnikov A.Yu., Sedyakhina N.P. *et al.* Studies of P-glycoprotein in chronic myelogenous-leukaemia patients: Expression, activity and correlations with CD34 antigen // *British Journal of Heamatology*. – 1996. – 92. – P. 88–96.
103. Turkina A.G., Zabolina T.N., Kusnetsov S.V. *et al.* Studies of some mechanisms of drug resistance in chronic myeloid leukemia (CML) // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 1999. – 457. – P. 477–88.
104. Vartanian A.A., Burova O.S., Stepanova E.V. *et al.* The involvement of apoptosis in melanoma vasculogenic mimicry // *Melanoma Research*. – 2007. – 17(1). – P. 1–8.
105. Vartanian A.A., Burova O.S., Stepanova E.V. *et al.* Melanoma vasculogenic mimicry is strongly related to reactive oxygen species level // *Melanoma Research*. – 2007. – 17(6). – P. 370–9.
106. Vartanian A.A., Stepanova E.V., Gutorov S.V. *et al.* Prognostic significance of periodic acid-schiff-positive patterns in clear cell renal carcinoma // *The Canadian Journal of Urology*. – 2009. – 16(4). – P. 4726–32.
107. Vartanian A.A., Stepanova E.V., Grigorjeva I. *et al.* VEGFR1 and PKCa signaling control melanoma vasculogenic mimicry in a VGFR2 kinasa-idependent manner // *Melanoma Research*. – 2011. – 21(2). – P. 91–8.
108. Winograd-Katz S.E., Levitzki A. Cisplatin induces PKB/Akt activation and p38(MAPK) phosphorelation of the EGF receptor // *Oncogene*. – 2006. – 25. – P. 7381–90.
109. Yin M., Yin J., Martinez-Balibrea E. *et al.* ERCC1 and ERCC2 pokimorphisms predict clinical outcomes of oxiplatin-based chemoyherapies in gastric and colorectal cancer: systemic revies and meta-analysis // *Ckinic Cancer Res*. – 2011. – 17. – P. 1632–40.
110. Zalipsky S., Saad M., Kiwan R. *et al.* Antitumour activity of new lipospmal prodrug of mitomycin C in multidrug resistant solid tumour: Insights of the mechanism of action // *J. Drug Targeting*. – 2007. – 15. – P. 518–30.