

*Д.Б. Корман*

## АНТИАНГИОГЕННЫЕ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА ХРЯЦЕВОЙ ТКАНИ

Институт биохимической физики им.Н.М.Эмануэля РАН, г.Москва

Ограничение кровоснабжения опухоли издавна рассматривалось как способ ограничения ее роста и достижения регрессии. Практическая реализация такого подхода стала возможной после раскрытия механизмов неоангиогенеза [1]. Создание антиангиогенных препаратов является одним из наиболее активно развиваемых направлений в противоопухолевой химиотерапии. Уже известно более 500 соединений, обладающих антиангиогенной активностью, более 60 проходят клинические испытания [66]. Несколько препаратов (бевацизумаб, сорафиниб, сунитиниб) уже прочно вошли в арсенал современной противоопухолевой химиотерапии.

Однако, почти за два десятилетия до появления этих таргетных препаратов было предложено использовать для воздействия на опухолевый неоангиогенез природные ингибиторы ангиогенеза (ИА), образующиеся в различных тканях организма. В 1971 г. J.Folkman предложил использовать для получения природных ИА хрящевую ткань (ХТ)—единственную ткань, полностью лишенную сосудов, что, как предполагалось, связано с высоким содержанием в ней ИА [1]. Первым экспериментальным подтверждением антиангиогенных свойств ХТ стало исследование Е.Eisenstein с соавт., которые в 1973 г. на модели хорионаллантоисной мембраны куриного эмбриона (ХАМКЭ) установили, что гуанидиновый экстракт (Э) хряща препятствует естественному образованию и росту сосудов. В 1975 г. Н.Vrem и J.Folkman показали, что кусочки нативной ХТ, помещенные под роговицу глаза кроликов рядом с перевиваемой опухолью Браун-Пирс, тормозят образование капилляров, индуцированное опухолью, причем ингибирующий эффект наблюдался на расстоянии до 2 мм от имплантированного хряща [12].

Позже было предложено получать ИА из скелета акулы, так как он полностью хрящевой и мог обеспечить достаточное количество первичного сырья. Эндоскелет акулы составляет 6-8% веса тела, тогда как содержание хряща у коров ~ 0,6% [25, 37].

С 1975 по 2001 гг. было получено около полутора десятков различных препаратов из аку-

льего (АХ) или бычьего хряща [25]. Это были либо порошки из необработанного хряща, либо разнообразные экстракты и их фракции.

В 1990-х годах АХ, позиционируемый как БАД, приобрел большую популярность у онкологических больных, в частности благодаря вышедшей в 1992 г. в США книге W.Lane «У акул не бывает рака» (“Sharks don’t get cancer”) и документальному телевизионному фильму о лечении рака АХ на Кубе. Подсчитано, что в 1995 г. в США лечилось препаратами АХ ~50 000 больных злокачественными опухолями, многие при этом отказывались от стандартного лечения. Одновременно было отмечено резкое сокращение популяции акул [2]. Следует заметить, что у акул на самом деле встречаются как доброкачественные, так и злокачественные опухоли, однако частота рака среди акул неизвестна; возможно, что он, действительно, бывает очень редко [51].

Отсутствие васкуляризации в ХТ связывают с продукцией в ней ИА. Именно этим обосновывается возможность применения препаратов из ХТ как средств ангиангиогенной терапии. Считается, что ИА в ХТ являются низкомолекулярными пептидами, действие которых, как предполагается, реализуется по нескольким механизмам—ингибированием связывания фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) с его рецепторами, модулированием активности металлопротеаз матрикса (ММП), индукцией апоптоза эндотелиальных клеток (ЭК), стимулированием продукции других природных ИА и пр.[13].

В экспериментальных и клинических исследованиях, как правило, использовалось пероральное применение препаратов, получаемых из ХТ. О возможности поступления в системный кровоток ИА после перорального приема нативного хряща свидетельствуют результаты экспериментов, в которых кроликам с имплантированным в роговицу глаза основным фактором роста фибробластов ( $\beta$ FGF), как индуктора ангиогенеза, перорально вводили пилюли с порошком нативного АХ. При стереомикроскопии роговицы зарегистрировано подавление неоангиогенеза [24]. На модели индуцированного образования сосудов в брыжейке тонкой кишки крыс

показано, что пероральное применение нативного хряща голубой акулы ведет к существенному подавлению образования сосудов в аваскулярной зоне брыжейки [16]. Эти результаты расценивались как указание на хорошее всасывание в пищеварительном тракте ИА, содержащихся в ХТ [25].

Другой лекарственной формой ИА из ХТ являются экстракты (Э) и их фракции. Применялись разнообразные экстрагенты, начиная с раствора NaCl до сложных органических растворителей. Наиболее часто использовался гуанидин хлорид. Способность ИА, содержащихся в жидких Э из АХ, сохранять активность после всасывания в желудочно-кишечном тракте человека, показана в специальном клиническом эксперименте. Взрослые мужчины-волонтеры в течение 23 дней принимали Э АХ или плацебо. На 12-й день им под кожу руки имплантировали поливиниловую губку. На 23-й день губку удаляли и иммуногистохимически в ней определяли плотность тестируемых клеток (эндотелиальных). Обнаружено, что применение Э достоверно подавляет пролиферацию таких клеток. В опытных группах их средняя плотность составила  $2,24 \pm 0,1$  условных единиц, в группе плацебо —  $3,15 \pm 0,11$  ( $p < 0,01$ ) [9].

При экспериментальном изучении антиангиогенных свойств препаратов из ХТ использовалось несколько экспериментальных моделей, с помощью которых обычно исследуют влияние антиангиогенных препаратов на разные этапы ангиогенеза. Оценивалось влияние препаратов на пролиферацию в культуре эндотелиальных клеток (ЭК) umbilicalной вены человека и аорты крупного рогатого скота, на активность коллагеназы и ММП в модельных экспериментах, на формирование сосудов (тубулогенез) в ХАМКЭ, в роговице глаза кроликов и крыс, в брыжейке кишки, в модельных экспериментах (рост в матригеле).

**Способность ХТ подавлять ангиогенез**, повидимому, обусловлена действием веществ, продуцируемых хондроцитами. Показано, что в культуральной жидкости культуры хондроцитов разного происхождения имеются вещества, способные подавлять синтез ДНК и пролиферацию ЭК, а также образование сосудов в ХАМКЭ [47,52, 62].

Хондроциты секретируют несколько макромолекулярных веществ, обладающих антиангиогенными свойствами. Показано, что способностью подавлять ангиогенез обладают выделенные из экстрактов ХТ пептиды с разной молекулярной массой — от 10 до 80 кДа. Следует заметить, что химическая структура этих веществ точно не определена, наиболее часто такой ак-

тивностью обладали белки с молекулярной массой 10-18 кДа.

Установлено, что в хряще имеется ряд белков, обладающих антиангиогенной активностью, которые до этого обнаруживались в других тканях, где выполняют иные, не антиангиогенные функции. Одним из них является белок тропонин-1, ответственный за ингибирование АТФ-азы актомиозина в процессе мышечного сокращения. Ряд данных указывает, что ХТ, вероятно, содержит также ИА, получающиеся в результате протеолиза больших протеинов, которые сами не являются ИА. Среди таких ингибиторов идентифицированы эндостатин, представляющий собой С-терминальный фрагмент коллагена XVIII, ангиостатин — внутренний фрагмент плазминогена и N-терминальный фрагмент пролактина (16К-пролактин). Эти ИА образуются в результате протеолитического действия ММП. В коммерческих препаратах хряща, используемых в АТ рака, могут содержаться все эти ИА, а также другие, пока не идентифицированные молекулы [43].

Таким образом, имеющиеся данные указывают на присутствие в ХТ набора пептидов, являющихся ИА. Не исключено, что разные фракции одного и того же Э могут действовать на разные этапы неоангиогенеза и обладать разным механизмом действия. В этой связи особый интерес представляет препарат АЕ-941 (Nevostat), о котором впервые сообщили в конце 1990-х годов [18].

АЕ-941 представляет собой стандартизованный Э АХ, производимый в соответствии с правилами GMP. В отличие от других Э АХ, АЕ-941 является водорастворимым Э, освобожденным на 95% от неактивных веществ, что обеспечивает высокую концентрацию в конечном препарате биологически активных молекул. Экстракт, полученный из гомогенизированного АХ, подвергают ультрафильтрации по разработанной канадской компанией АЕterna специальной технологии, по которой растворимые молекулы отделяются от твердой части экстракта центрифугированием с последующей ультрафильтрацией жидкой части до получения продукта с молекулярной массой  $< 500$  kDa. Предполагается, что в таком продукте содержатся все активные ИА, продуцируемые в хряще [21].

ИА, выделенные из ХТ, действуют на разные этапы неоангиогенеза — пролиферацию и миграцию ЭК, расплавление базальной мембраны капилляров, тубулогенез (табл.1)

Молекулярные механизмы этих эффектов разнообразны — блокирование связи ростовых факторов, в первую очередь VEGF, с рецепторами в ЭК, индуцирование апоптоза ЭК, ингибирование активности ММП и пр. (табл. 2). АЕ-941

Таблица 1.

**Влияние антиангиогенных факторов, выделенных из ХТ, на разные этапы ангиогенеза**

Действие на этапы ангиогенеза	Антиангиогенные факторы ХТ	Литература
Подавление пролиферации и миграции эндотелиальных клеток	Культуральная жидкость культуры хондроцитов	47, 62
	Экстракт акульего хряща	9, 59
	Фракции Э АХ с м.м. 10-80 кДа	57, 58, 66, 31 44, 30
	АЕ-941 (Nevostat)	18, 24
	Метастатин (комплекс двух фракций Э хряща коров с м.м.18 и 85 kDa)	40
	Тропонин-1	48, 31
	16К-пролактин	43, 38
	Эндостатин, ангиостатин	43
Подавление образования новых сосудов (тубулогенез)	Нативный хрящ	12, 16, 24
	Культуральная жидкость культуры хондроцитов	62, 47
	Экстракт хряща коров	35
	Фракции Э АХ с м.м. 10-80 кДа	57, 58, 55, 66, 59, 5, 50, 31
	АЕ-941	8, 19, 18
	Метастатин	42
	Тропонин-1	48, 31
	16К-пролактин	38,15, 17
	Хондромодулин-1	28
sTIMP (тканевой ингибитор ММП-3)	30	
Предупреждение расплавления базальной мембраны	Фракция экстракта хряща коров с м.м. 24 кДа	49

Таблица 2.

**Механизмы антиангиогенного действия ИА, содержащихся в ХТ**

Механизм антиангиогенного действия	Ингибиторы ангиогенеза в хрящевой ткани	Литература
Блокирование связывания VEGF с эндотелиальными клетками (VEGFR2)	АЕ-941 (Nevostat)	8, 22
	16К- пролактин	32, 38, 61
Подавление синтеза ДНК в эпителиальных клетках. Влияние на клеточный цикл	Э хряща коров	35, 62
	Э АХ U-995	58
	Фракция Э АХ с м.м.10 кДа	44
	Хондромодулин-1	28, 34
	16К-пролактин	38, 61
Подавление активности коллагеназ и металлопротеаз матрикса	Культуральная жидкость культуры хондроцитов	47
	Э АХ	37, 59
	Фракции Э хряща коров с м.м. 16 и 24 кДа	35, 49
	АЕ-941 (Nevostat)	8, 18, 21, 22, 30
	Ингибиторы ММП-1,2,3	20, 21, 47,49, 65
Блокирование связи гиалуроновой кислоты с рецептором CD44 эндотелиальных клеток	Метастатин	40
Усиление активности тканевого активатора плазминогена	АЕ-941 (Nevostat)	11, 23, 61
Индукция апоптоза эндотелиальных клеток	АЕ-941 (Nevostat)	11, 18, 22
	16К-пролактин	32, 33, 38, 61
Усиление цитотоксичности NK-клеток	Фракция Э АХ с м.м. 14,5 кДа	6

рассматривается как мультитаргентный ИА. Антиангиогенную активность препарата связывают со способностью подавлять пролиферацию и миграцию ЭК, индуцировать апоптоз ЭК, ингибировать активность ММП, подавлять сигнальные пути, связанные с VEGF и  $\beta$ FGF [22].

Следует подчеркнуть, что АЕ-941 обладает проапоптотическим эффектом, обусловленным активацией ряда каспаз (каспаза -3,8,9), О значении этого механизма в проапоптотическом действии АЕ-941 свидетельствует полное блокирование апоптоза при одновременном применении АЕ-941 с zVAD-fmk — ингибитором каспаз широкого спектра. Помимо активации каспаз, применение АЕ-941 ведет также к распаду поли (АДФ-рибоза)полимеразы и высвобождению из митохондрий цитохрома с [11,18, 22].

Способность АЕ-941 индуцировать апоптоз, очевидно, специфична в отношении ЭК. Показано, что обработка ЭК аорты крупного рогатого скота АЕ-941 ведет к их гибели с характерными для апоптоза признаками, включая конденсацию хроматина и фрагментацию ДНК. В то же время, не отмечено проапоптотического влияния АЕ-941 на фибробласты и мышечные клетки. О специфичности проапоптотического действия АЕ-941 в отношении ЭК свидетельствует отсутствие активации каспазы-3 при обработке препаратом разных неэндотелиальных клеток (U-87, COS-7, NIH-3T3, SW1353) [11,18].

Противоопухолевая активность обнаружена у хряща разного происхождения (лопатка новорожденных телят, суставной и трахеальный хрящ крупного рогатого скота, скелет акул разных видов) и, повидимому, это свойство является общим для ХТ как таковой (табл. 3 и 4). Следует заметить, что препараты из ХТ проявляли противоопухолевый эффект только в экспериментах *in vivo* при системном или местном введении. В экспериментах *in vitro* с разными культурами опухолевых клеток цитотоксического действия препаратов из ХТ не зарегистрировано [22, 35].

Представленные данные (табл. 3 и 4) свидетельствуют, что противоопухолевый эффект регистрировался на разных опухолевых моделях — карцинома Льюис, меланома В-16, разнообразные перевиваемые опухоли человека, трансплантированные мышам, опухоли, растущие под роговицей глаза, в ХАМКЭ. Эффекты заключались в торможении роста опухоли и метастазирования; регрессию опухолей наблюдали очень редко. В ряде экспериментов отмечено увеличение выживаемости животных-опухоленосителей. Следует подчеркнуть, что все препараты АХ оказывали эффект только в отношении солидных опухолей. При асцитных опухолях и лей-

козах они были неэффективны, что расценивается как еще одно доказательство антиангиогенного механизма противоопухолевой активности препаратов из ХТ [62, 66].

Хотя результаты экспериментального изучения препаратов из ХТ показали, что они обладают противоопухолевыми свойствами, однако **клинические испытания**, как правило, были безуспешны. К 2009 г. в медицинской литературе, включая рецензируемые журналы с высоким импакт-индексом, было обнаружено более 40 публикаций, посвященных исследованию препаратов из ХТ и возможностей их использования в онкологии. Ни для одного препарата не получено воспроизводимых доказательных клинических данных о противоопухолевой эффективности при лечении онкологических больных. Тем не менее, препараты из АХ стали одними из наиболее часто применяемых средств альтернативной терапии рака (АТ) и продолжают выпускаться и использоваться [2, 14,42. 46]. По данным опроса выяснилось, что более 80% онкологических больных спрашивали врачей об эффективности этих препаратов [41]. В 1998 г. опубликованы результаты опроса 143 больных распространенным раком — 21 (10,7%) больной применяли препараты АХ. По данным нескольких анализов, выполненных в течение последнего десятилетия, 6-25% онкологических больных применяли препараты из АХ [64]. Опрос 95 больных злокачественной лимфомой, проживших в среднем 11 лет (6-20 лет) после диагностики опухоли, показал, что 68% больных на протяжении этого времени использовали различные средства АТ, в том числе 2-17% принимали препараты АХ [26].

Первые научные сообщения о результатах клинического применения препаратов из ХТ касались препарата Catrix, полученного из хряща трахеи крупного рогатого скота. В 1985 г. появилось сообщение, что при применении Catrix у 31 больного с различными опухолями эффект наблюдался в 90% случаев, при этом у 61% больных (19 пациентов) зарегистрировали полную регрессию новообразования. Эффект наблюдали при разных опухолях — мультиформная глиобластома, рак поджелудочной железы, легкого, яичников, шейки матки, прямой кишки, щитовидной железы, кожи. В этом сообщении подчеркивалось, что для получения терапевтического эффекта необходимо применять полные дозы препарата непрерывно в течение длительного времени (минимальное время — 7 мес., максимальное — 10 лет) [53]. Следует отметить, что в 17 случаях в течение одного года до начала применения Catrix проводилась стандартная терапия; у 10 больных применение Catrix сочеталось с одновременным стан-

Таблица 3.

**Противоопухолевая активность ИА из ХТ в экспериментах in vivo**

Экспериментальная модель	Препарат	Эффект	Ссылки
Карцинома Льюис	Фракция Э АХ (SCAIF-80)	Подавление роста опухоли на 93,9%	58
	Фракция Э АХ (SCAIF-1)	Подавление роста опухоли на 87,9%	57
	Метастатин	Ингибирование метастазирования в легкие	40
Меланома В-16	Культуральная жидкость культуры хондроцитов	Торможение роста опухоли в ХАМЭК	62
	Фракция Э хряща телят (16 кДа)	Подавление роста опухоли под конъюнктивой глаза (кролики, мыши)	35
	Э АХ U-995	В/бр введение-подавление метастазирования в легкие. Пероральное введение — без эффекта	59
	Метастатин	Ингибирование роста опухоли в ХАМЭК, ингибирование метастазирования в легкие	40
	Тропонин-1	Ингибирование метастазирования в легкие	48
Саркома 180 (солидная)	Э АХ U-995	В/бр введение -ингибирование роста	59
	Э хряща коров	Пероральное введение — без эффекта Ингибирование роста опухоли	62
Лейкемия L-1210	Э АХ U-995	Без эффекта	59
Рак предстательной железы человека	Метастатин	Ингибирование роста опухоли в ХАМЭК	40
Рак поджелудочной железы CAPAN-1 (имплантация в селезенку мышей)	Тропонин-1	Ингибирование метастазирования в печень	31
Карцинома SCCVII	Э АХ	Без эффекта	29
Карцинома V-2	Э АХ и X телят	Подавление роста опухоли в роговице глаза кролика	35, 37
Рак почки, индуцированный стрептозотоцином	Порошок нативного АХ	Замедление появления опухолей	4

Таблица 4.

**Противоопухолевая активность АЕ-941 (Nevostat) в экспериментах in vivo**

Экспериментальная модель	Эффект	Литература
Карцинома Льюис	Ингибирование метастазирования в легкие Торможение роста опухоли	18 19
Ксенографты рака молочной железы человека Рак молочной железы человека MDA-231 Глиобластома человека H6D	Ингибирование метастазирования в кости Торможение роста опухоли	63 10
Глиомы линий H6D, C6, CL26 (интрацеребральная трансплантация) Аденокарцинома DA3 мышей Множественная миелома мышей	Увеличение выживаемости мышей Ингибирование роста опухоли Ингибирование роста опухоли и метастазирования в легкие	61 7, 18 13
Фибросаркома человека HT-1800	Снижение инвазивности опухоли	30

дартным лечением. Естественно, это затрудняет адекватную оценку столь высоких результатов, хотя необходимо отметить, что 9 больных с полной ремиссией конвенциональной терапии не получали вообще.

В рамках I/II фазы клинического изучения Catrix был применен у 9 больных с прогрессированием после лучевой и/или химиотерапии. Лечение оказалось эффективным у одного больного раком почки, у которого зафиксировали полную регрессию метастазов в легкие длительностью более 39 нед. Следует отметить, что продолжительность лечения в этом исследовании была существенно меньше, минимальный срок лечения составил 4 нед., что объяс-

нялось ранним прогрессированием или смертью больных [56].

На конгрессе ASCO в 1994 г. были представлены результаты применения препарата уже у 35 больных метастатическим почечно-клеточным раком. Из 22 больных, у которых лечение продолжалось более 3 мес., у 3 была зарегистрирована частичная регрессия опухоли, у 2 — стабилизация процесса [54].

Следует заметить, что эти три сообщения оказались единственными, описавшими результаты клинического применения Catrix, что, тем не менее, не помешало до настоящего времени распространять Catrix, как эффективную БАД для лечения рака.

Сообщения о результатах клинического изучения препаратов из нативного АХ немногочисленны. В исследовании, проводившемся на Кубе, указывалось, что положительный эффект получен у 3 из 15 (29%) больных, хотя эти результаты вызвали серьезные сомнения ввиду его значительных методологических недостатков. В другом исследовании, проведенном в США, положительный эффект зарегистрировали у 4 из 20 больных (20%), при этом в 50% случаев отмечали улучшение качества жизни [41].

В клиническое исследование I/II фазы препарата из цельного АХ, завершённое в 1998 г., было включено 60 больных различными опухолями, ранее получавших специфическое лечение. Объективного эффекта не отмечено, медиана времени до прогрессирования составила  $7 \pm 9,7$  нед. В 16,7% случаев регистрировалась стабилизация процесса продолжительностью в среднем  $28,8 \pm 9,9$  нед. Исследователи пришли к заключению, что порошок АХ неэффективен в монотерапии больных распространенным раком [45].

Исследование другого препарата цельного АХ «BeneFin», как средства комплементарной терапии, было организовано в 2001-2003 гг. Национальным Институтом рака США в виде рандомизированого, плацебо-контролируемого, двойного-слепого исследования III фазы. Препарат назначался в качестве дополнения к стандартному поддерживающему лечению больных распространенным РМЖ и КРР.

В исследование планировалось включить 600 больных, однако выдержать протокол исследования во многих случаях не удавалось из-за отказа больных продолжать лечения. Это было связано с сильным запахом и вкусом рыбы, присущим порошку АХ. Запах был настолько сильный, что ощущался даже в помещении, в котором хранился препарат. В результате через 1 мес. от начала лечения только ~50% больных соглашались его продолжать. Как следствие, за 2 года в исследование было включено всего 83 больных, подлежащих оценке результатов (42 в группе «BeneFit», 41 в группе плацебо), из них ~80% составили больные, страдавшие колоректальным раком. В итоге, исследование было прекращено досрочно.

Достоверных различий в выживаемости больных в сравниваемых группах не зарегистрировано, медиана выживаемости была практически одинаковой. Следует, однако, заметить, что, как видно из кривых выживаемости, в группе плацебо через 1,4 года после начала исследования умерли все больные, тогда как в группе «BeneFit» около 30% больных к этому сроку были живы. Анализ опросников качества жизни показал, что по этому показателю сравниваемые группы не различались, хотя оцен-

ка больными своего самочувствия была хуже в группе BeneFit [41].

J.Hillman с соавт. сообщили о случае успешного перорального применения порошка АХ у больного саркомой Капоши. После 6-месячного ежедневного приема капсул с порошком в суточной дозе 3,75- 4.5 грамм клинически отмечено полное исчезновение патологического образования на стопе. Клиническая и морфологическая регрессия опухоли продолжалась в течение 3- летнего наблюдения за больным. Авторы подчеркнули, что в отличие от других клинических исследований препаратов АХ, в которых использовались короткие курсы лечения высокими дозами, они применили препарат в сравнительно невысокой дозе и длительно. По их мнению, такой режим наиболее эффективен для антиангиогенных препаратов, направленных на подавление пролиферации ЭК [27].

Большие надежды возлагались на Э АХ, так как считалось, что при этой лекарственной форме существенно выше вероятность достижения ИА опухоли, чем при применении порошка нативного хряща. В последние годы в связи с развитием в лекарственном лечении рака антиангиогенной терапии внимание клиницистов привлек АЕ-941 («Неовастат»), поскольку он стал позиционироваться не как БАД, а как лекарственный препарат.

Результаты первоначального применения неовастата онкологическими больными, как средства АТ, вселяли большой оптимизм. Во-первых, отмечалась хорошая переносимость лечения. Из 800 опрошенных больных, многие из которых принимали препарат более 4 лет, лишь единичные больные отмечали побочные явления, которые они связывали с приемом препарата. Во-вторых, описывались случаи существенного субъективного и объективного эффекта, вплоть до полной регрессии опухоли, а также заметное увеличение выживаемости больных почечно-клеточным раком и немелкоклеточным раком легкого. Все это стимулировало проведение полноценных клинических испытаний [3, 21, 22].

В 2003 г. группа канадских исследователей сообщила о результатах I/II фазы клинического изучения АЕ-941 при немелкоклеточном раке легкого. В исследование было включено 80 больных. Дозо-лимитирующей токсичности не отметили, наиболее частыми побочными явлениями были тошнота, кожный зуд, анорексия, рвота, развившиеся у 4-9% больных. Регрессии опухоли не отмечено. В то же время, по таким параметрам, как длительность безрецидивного периода и выживаемость, установлена зависимость эффекта от дозы препарата. Стабилизация процесса отмечена у 26% больных, получавших

препарат в дозе 240 мг/день и у 14% больных, получавших лечение в дозе 60 мг/день. Медиана выживаемости составила 6,1 месяца и 4,6 месяца соответственно ( $p=0,026$ ) [36].

Изучалась также эффективность применения АЕ-941, как средства комPLEMENTАРНОЙ ТЕРАПИИ, в дополнение к стандартному лечению больных раком легкого. Национальный Институт рака США организовал крупное, плацебо-контролируемое рандомизированное клиническое исследование, в котором препарат применяли совместно с химиотерапией и лучевой терапией. Основной целью исследования была оценка влияния АЕ-941 на выживаемость больных раком легкого III стадии. Предварительные результаты, представленные в 2007 г. на конгрессе ASCO, были разочаровывающими. В анализ включили 379 больных, из них 188 принимали АЕ-941 по 240 мг/день, лечение начинали в день начала химиолучевой терапии и продолжали до прогрессирования. Не отмечено улучшения отдаленных результатов конвенциональной терапии — медиана выживаемости больных, получавших АЕ-941, составила 14,4 мес., в контрольной группе (в дополнение к химиотерапии и облучению получали плацебо) — 15,6 мес. ( $p=0,73$ ). Эти результаты были подтверждены при окончательном анализе, опубликованном в 2010 г. Исследователи пришли к заключению, что, так как АЕ-941 не улучшил выживаемость больных раком легкого, получавших стандартную химиолучевую терапию, то применение каких-либо препаратов из АХ при этой опухоли нецелесообразно [42].

Одной из опухолей, перспективных для лечения ИА, считается почечно-клеточный рак. Установлено, что у этих больных в сыворотке крови определяется повышенный уровень VEGF,  $\beta$ FGF и других ангиогенных факторов, что говорит о повышенной ангиогенной активности, очевидно, обусловленной наличием опухоли. В настоящее время имеется ряд эффективных препаратов для лечения рака почки, механизм действия которых связан с ингибированием связывания VEGF с его рецепторами (бевацизумаб, сорафиниб, сунитиниб), т.е. опосредован антиангиогенным эффектом.

Исходя из данных о существенном антиангиогенном эффекте АЕ-941, обусловленном не только блокированием связи VEGF с его рецепторами, но и другими механизмами (ингибирование активности ММП, индукция апоптоза ЭК), большие надежды возлагали на возможную эффективность АЕ-941 при почечно-клеточном раке. При анализе результатов I/II фазы клинических испытаний АЕ-941 отмечались случаи объективного эффекта и тенденция к увеличению выживаемости больных раком почки, по-

лучавших высокие дозы препарата. В рамках II фазы клинических испытаний АЕ-941 среди 144 включенных в исследование больных различными злокачественными опухолями, у 22 был почечно-клеточный рак. Объективный эффект отмечен в 2 случаях у больных, принимавших препарат в дозе 240 мг/день (полная регрессия мягкотканного метастаза в области лица и частичная регрессия метастаза в надключичной области после 8-7-месячного приема АЕ-941). Ремиссия длилась более 24 мес. Отмечено достоверное увеличение медианы выживаемости больных, получавших препарат по 240 мг/день (16,3 мес.) по сравнению с получавшими по 60 мг/день (7,1 мес.) ( $p=0,01$ ). Через 2 года после начала лечения из 8 больных, получавших препарат в дозе 60 мг/день, в живых не осталось ни одного больного, тогда как среди получавших АЕ-941 по 240 мг/день 2 года пережили 4 пациента (36%) [7].

Эти данные послужили основанием для организации рандомизированных мультицентровых клинических испытаний III фазы, при этом в исследование планировалось включать только больных с метастатическим светлоклеточным раком почки [13]. Результаты этого исследования пока не обнаружены.

В марте 2007 г. канадская компания Aetema Zentars (разработчик Неовастата) объявила, что она прекращает исследование препарата, так как не было обнаружено существенного эффекта при использовании препарата для лечения больных раком молочной железы, почки, легкого и множественной миеломы, при которых другие антиангиогенные препараты показали определенную эффективность. Тем не менее, неовастат продолжает производиться различными компаниями и применяться в разных странах онкологическими больными в качестве БАД.

Препараты АХ считаются нетоксичными, хотя они могут вызывать тошноту, желудочно-кишечные расстройства, утомляемость, повышение температуры тела, головокружение, нарушать функции печени. Применение этих препаратов после хирургических операций может нарушать процессы заживления. Препараты нельзя назначать детям, так как они могут влиять на рост и развитие тела. Токсикологические эксперименты на крысах и обезьянах показали отсутствие дозо-зависимой токсичности и каких-либо нарушений со стороны внутренних органов при применении АЕ-941 в течение одного года [19].

Таким образом, экспериментальные данные о наличии в ХТ биологически активных веществ, обладающих антиангиогенной и противоопухолевой активностью, не находят подтверждения при клинических испытаниях препаратов из ХТ. Рассматриваются несколько возможных причин кли-

нической неэффективности подобных препаратов у онкологических больных. Нельзя исключить, что регуляция процесса ангиогенеза в модельных экспериментах и у экспериментальных животных, с одной стороны, и большого злокачественной опухоли, с другой, различается, что проявляется различной чувствительностью к ингибирующему действию препаратов из ХТ. Практически все клинически изученные препараты хряща применялись перорально. Возможно, что определенные различия в процессах абсорбции и метаболизма этих препаратов у человека и экспериментальных животных могут определить их неэффективность у человека [25,66].

Неэффективность препаратов хряща, обнаруженную в клинических исследованиях, связывают также с тем, что в них, как правило, включались пациенты с распространенными опухолями, ранее многократно леченные, часто в терминальной стадии, т.е. в такой ситуации, когда от любого лечения трудно ожидать какого-либо эффекта.

Наконец, часто высказывается мнение, что для средств АТ рака (к которым относятся и препараты хряща) существующие методы клинических испытаний неадекватны и поэтому приводят к неверным результатам. Однако, какими они должны быть, пока остается неясным. Возможно, более подходящим является применение небольших (умеренных) доз в течение длительного времени. Такая методика, очевидно, требует специальных критериев для включения больных в исследование.

Следует отметить, что применяемые в АТ Э из ХТ, а также разные серии одного и того же препарата, могут существенно различаться по составу входящих в них ИА, что обусловлено получением из различных источников, разными методами, различиями в сезонности добычи акул, различиями в разнообразных факторах окружающей среды. Иными словами, такое лечение проводится нестандартизованными препаратами, что, несомненно, может сказаться на результатах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Корман Д.Б. Основы противоопухолевой химиотерапии. М. Практическая медицина. — 2006. — С.503.
2. Корман Д.Б. Альтернативная терапия рака // *Практ. Онкол.* — 2007. — № 4. С. 235-244
3. AE-941 // *Drugs R.D.*— 2004. — Vol. 5. — P. 83-89.
4. Barber R., Delahunt B., Grebe S.K. et al. Oral shark cartilage does not abolish carcinogenesis but delays tumor progression in a murine model // *Anticancer Res.*— 2001. — Vol. 21. — P. 1065-1069.
5. Bargahi A., Rabbani-Chadegani A. Angiogenesis inhibitor protein fractions derived from shark cartilage // *Biosci. Rep.*— 2008. — Vol. 28. — P. 15-21.

6. Bargahi A., Hassan Z.M., Rabbani-Chadegani A Effect of shark cartilage derived protein on the NK cells activity // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* — 2011. — Vol. 33. — P. 403-409.
7. Batist G., Patenande F., Champagne P. et al. Neovastat (AE-941) in refractory renal cell carcinoma patients // *Ann.oncol.* — 2002. — Vol.13. — P. 1259-1263.
8. Beliveau R., Gingras D., Kruger E.A. et al. The antiangiogenic agent Neovastat (AE-941) inhibits vascular endothelial growth factor mediated biological effects // *Clin. Cancer Res.* — 2002. — Vol. 8. — P. 1242-1250.
9. Berbari B., Thibodeau A., Germain L. Et al. Antiangiogenic effects of the oral administration of liquid cartilage extract in human // *J.Surg.Res.*— 1999. — Vol. 87. — P. 108-113.
10. Berger F., Jourdes P., Benbid A.E. AE-941 (Neovastat) shows a beneficial effect in experimental glioma and is associated with high angiostatin level in treated tumors // *Proc.Am.Ass.Cancer Res.* — 2001. — Vol. 42. — P. 724 (abstract 3821).
11. Boivin D., Gendron S. Beaulien E. et al. The antiangiogenic agent Neovastat (AE-941) induces endothelial cell apoptosis // *Mol/Cancer Ther.*— 2002. — Vol.— 10.— P. 795-802.
12. Brem H., Folkman J. Inhibition of tumor angiogenesis mediated by cartilage // *J.Exp.Med.*— 1975. — Vol. 141. — P. 427-439.
13. Bukowski R.M. AE-941, a multifunctional antiangiogenic compound: trials in renal cell carcinoma // *Expert.Opin. Investig.Drugs*— 2003. — Vol.12. — P.1403-1411.
14. Cassileth B., Schraub S., Robinson E. et al. Alternative medicine use word-wide: the international union against cancer survey // *Cancer.*— 2001. — Vol.91. — P.1390-1393.
15. Clapp C., Thebault S., Jeziorski M.C., De la Escalra C.M. Peptide hormone regulation of angiogenesis // *Physiol. Rev.* — 2009. — Vol.89. — P.1177-1215.
16. Davis P.F., He Y., Furneaux R.H. et al. Inhibition of angiogenesis by oral ingestion of powdered shark cartilage in a rat model // *Micrivascular.* — 1997. — Vol.54. — P.178-182.
17. Duefias Z., Torner L., Corbacho A. et al. Inhibition of rat corneal angiogenesis by 16-kDa prolactin and by endogenous prolactin-like molecules // *Invest.Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1999. — Vol.40. — P.2498-2505.
18. Dupont E., Folardeau P., Mousa S.A. et al. Antiangiogenic and antimetastatic properties of Neovastat (AE-941), an orally active extract derived from cartilage tissue // *Clin. Exp. Metastasis.* — 2002. — Vol.19. — P.145-153.
19. Falardeau P., Champaguel P., Poyet P. et al. Neovastat, a naturally occurring multifunctional antiangiogenic drug, in phase III clinical trials // *Semin.Oncol.*— 2001. — Vol.28. — P.620-625.
20. Gabrielides C., Barreau F. A vertebrate interstitial collagenase inhibitor from bovine scapular cartilage: purification and characterization // *Biochim.Biophys. Acta.* — 1987. — Vol.16. — P.238-247.
21. Gingras D., Renaud N.A., Mousseau M et al. Matrix proteinase inhibition by AE-941, a multifunctional antiangiogenic compound // *Anticancer Res.* — 2001. — Vol.21. — P.145-155.
22. Gingras D., Boivin D., Deckers C. et al. Neovastat — a novel antiangiogenic drug for cancer therapy // *Anticancer Res.* 2003. — Vol.14. — P.91-96.
23. Gingras D., Labelle D., Nyalendo C. et al. The antiangiogenic agent Neovastat (AE-941) stimulates tis-

- sue plasminogen activator activity // *Invest New Drugs*. — 2004. — Vol.22. — P.17-26.
24. Gonzalez R.P., Soares F.S., Fabias R.E. et al. Demonstration of inhibitory effect of oral shark cartilage on basic fibroblast growth factor induced angiogenesis in the rabbit cornea // *Biol.Pharm.Bull.* — 2001. — Vol.24. — P.151-154.
  25. Gonzalez R.P., Leyva A., Morales M.O. Shark cartilage as source of antiangiogenic compounds: from basic to clinical research // *Biol.Pharm.Bull.* — 2001. — Vol.24. — P.1097-1101.
  26. Habermann T.M., Thompson C.A., Laplan B.R. et al. Complementary and alternative medicine use among long-term lymphoma survivors: a pilot study // *Amer.J.Hematol.* — 2009. — Vol.84. — P.795-798.
  27. Hillman J.D., Peng A.T., Golliam A.C. et al. Treatment of Kaposi sarcoma with oral administration of shark cartilage in a human herpes virus 8-seropositive, human immunodeficiency virus-seronegative homosexual man // *Arch.Dermatol.* — 2001. — Vol.137. — P.1149-1152.
  28. Hiraki Y., Shukunami C. Angiogenesis inhibitors localized in hypovascular mesenchymal tissues: chondromodulin-1 and tenomodulin // *Connect.Tissue Res.* — 2005. — Vol.46. — P.3-11.
  29. Horsman M.R., Alsner J., Overgaard J. The effect of shark cartilage extracts on the growth and metastatic spread of the SCCVII carcinoma // *Acta oncol.* — 1998. — Vol.37. — P.441-445.
  30. Kang J.A., Kim J.T., Song H.S. et al. Anti-angiogenic and anti-tumor invasive activities of the tissue inhibitor metalloproteinase-3 from shark, *Scyliorhinus torazawa* // *Biochim. Biophys. Acta* — 2003. — Vol.16. — P.59-44.
  31. Kern B.E., Balcom L.H., Antoni B.A. et al. Troponin I peptide (Glu-94-Leu-123), a cartilage derived angiogenesis inhibitor: in vitro and in vivo effects on human endothelial cells and on pancreatic cancer // *J.Gastrointest.Surg.* — 2003. — Vol.7. — P.961-968.
  32. Kim J., Luo W., Chen D.T. et al. Antitumor activity of the 16-kDa prolactin fragment in prostate cancer // *Cancer Res.* — 2003. — Vol.63. — P.386-393.
  33. Kinet V., Castermans K., Herkenne S. et al. The angiostatic protein 16k human prolactin significantly prevents tumor-induced lymphangiogenesis by affecting lymphatic endothelial cells // *Endocrinology* — 2011. — Vol.152. — P.4062-4071.
  34. Kitahara H., Hayami T., Tokuhaga K. et al. Chondromodulin-1 in rat articular cartilage // *Arch. Histol. Cytol.* — 2003. — Vol.66. — P.221-228.
  35. Langer R., Conn H., Vacanti J. et al. Control of tumor growth in animals by infusion of an angiogenesis inhibitor // *Proc.Natl.Acad.Sci. USA.* — 1980. — Vol.77. — P.4331-4335.
  36. Latrelle J., Batist G., Laberge F. et al. Phase I/II trial of the safety and efficacy of AE-941 (Neovastat) in the treatment of non-small-cell lung cancer // *Clin.Lung Cancer* — 2003. — Vol.4. — P.231-236.
  37. Lee A., Langer R. Shark cartilage contains inhibitors of tumor angiogenesis // *Science* — 1983. — Vol.221. — P.1185-1187.
  38. Lee S-H., Kunz J., Lin S-H. et al. 16-kDa prolactin inhibits endothelial cell migration by down-regulating the Ras-Tiam1-Rac1-Pak1 signaling pathway // *Cancer Res.* — 2007. — Vol.67. — P.11045-11053.
  39. Liang J.H., Wong K.P. The characterization of angiogenesis inhibitor from shark cartilage // *Adv.Exp. Med.Biol.* — 2000. — Vol.476. — P.209-223.
  40. Liu N., Lapcevic R.K., Undrhill C.B. et al. Metastatin: a hyaluronan-binding complex from cartilage that inhibits tumor growth // *Cancer Res.* — 2001. — Vol.61. — P.1022-1029.
  41. Loprinzi O.L., Levitt R., Barton D.L. et al. Evaluation of shark cartilage in patients with advanced cancer // *Cancer* — 2005. — Vol.104. — P.176-182.
  42. Lu C., Lee J., Komaki R. et al. Chemoradiotherapy with and without AE-941 in stage III non-small cell lung cancer: randomized phase III trial // *J.Natl.Cancer Inst.* — 2010. — Vol.102. — P.859-865.
  43. Macotella Y., Aguilar M.B., Guzman-Morales J. et al. Matrix metalloproteases from chondrocytes generate an antiangiogenic 16kDa prolactin // *J.Gen. Sci.* — 2006. — Vol.119. — P.1790-1800.
  44. McGuire T.R., Kazakoff P.W., Hoie E.B., Friehold M.A. Antiproliferative activity of shark cartilage with and without tumor necrosis factor-alpha in human umbilical vein endothelium // *Pharmacotherapy* — 1996. — Vol.16. — P.237-244.
  45. Miller D.P., Anderson G.T., Stark J.S. et al. Phase I/II trial of the safety and efficacy of shark cartilage in the treatment of advanced cancer // *J.Clin. Oncol.* — 1998. — Vol.16. — P.3649-3655.
  46. Milner M. Follow-up of cancer patients using shark cartilage // *Alternat.Complement.Ther.* — 1996. — Vol.2. — P.99-109.
  47. Moses M.A., Sudhalter J., Langer R. Isolation and characterization of an inhibitor of neovascularization from scapular chondrocytes // *J.Cell Biol.* — 1992. — Vol.119. — P.475-482.
  48. Moses M.A., Wiederschain D., Wu J. et al. Troponin I is present in human cartilage and inhibits angiogenesis // *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* — 1999. — Vol.96. — P.2645-2650.
  49. Murray J.B., Allison K., Sudhalter J., Langer R. Purification and partial amino acid sequence of bovine cartilage-derived collagenase inhibitor // *J.Biol. Chem.* — 1986. — Vol.261. — P.4154-4159/
  50. Oikawa T., Ashino-Fuse H., Shimamura M. A novel angiogenic inhibitor derived from Japanese shark cartilage (1). Extraction and estimation of inhibitory activities toward tumor and embryonic angiogenesis // *Cancer Lett.* — 1990. — Vol.51. — P.181-186.
  51. Ostlander G.K., Cheng K.C., Wolf J.C., Wolfe M.J. Shark cartilage, cancer and growing threat of pseudoscience // *Cancer Res.* — 2004. — Vol.64. — P.84-85-8491.
  52. Peper M.S., Montessan R., Vassalli J.D., Orci L. Chondrocytes inhibit endothelial sprout formation in vitro: evidence for involvement of a transforming growth factor-beta // *J.Cell Physiol.* — 1991. — Vol.146. — P.170-179.
  53. Prudden J.F. The treatment of human cancer with agents prepared from bovine cartilage // *J.Biological Response Mod.* — 1985. — Vol.4. — P.551-584.
  54. Puccio C., Mittelman A., Chun P. et al. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with Catrx // *Proc. ASCO.* — 1994. — Vol.13. — P.A769.
  55. Rabbani-Chadegani A., Abdossmadi S., Bargahi A., Yosef-Masboogh M. Identification of low-molecular weight protein (SCP1) from shark cartilage with anti-angiogenesis activity and sequence similarity to parvalbumin // *J.Pharm.Biomed. Annal.* — 2008. — Vol.46. — P.563-567.

56. Romano C.F., Lipton A., Harvey U.A. et al. A phase II study of Catrux-S in solid tumors // *J.Biological Response Mod.* — 1985. — Vol.4. — P.585-589.
57. Shen X.R., Ji D.M., Ita E.X. et al. Purification and functional characterization of a sharkcartilage factor inhibitory to angiogenesis // *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng (Shanghai)* — 2000. — Vol.32. — P.43-48.
58. Shen X.R., Ji D.M., Ita E.X. et al. SCAIF80, a novel inhibitor of angiogenesis and its effect on tumor growth // *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng (Shanghai)* — 2001. — Vol.33. — P.99-104.
59. Sheu J.R., Fu C.C., Tsai M.L., Chung W.J. Effect of U-995, a potent shark cartilage-derived angiogenesis inhibitor on anti-angiogenesis and anti-tumor activities // *Anticancer Res.* — 1998. — Vol.18. — P.4435-4441.
60. Simard B., Bonamrani A., Jourdes P. et al. Induction of the fibrinolytic system by cartilage extract mediated its antiangiogenic effect in mouse genome // *Microvasc. Res.* — 2011. — Vol.82. — P.6-17.
61. Tabruyn S.P., Nquyen N., Cornet A.M. The antiangiogenic factor, 16-kDa human prolactin, unduses endothelial cell cycle arrest by acting at both the G0-G1 and the G2-M phases // *Molecular Endocrinol.* — 2005. — Vol.19. — P.1932-1942.
62. Takigawa M., Shirai E., Enomoto M. et al. A factor in conditional medium of rabbit costal chondrocytes inhibits the proliferation of cultured endothelial cells and angiogenesis induced by B16 melanoma: its relation with cartilage-derived anti-tumor factor (CATF) // *Biochem. Int.* — 1987. — Vol.14. — P.57-63.
63. Weber M.H., Lee J., Orr F.W. The effect of Neovastat (AE-941) on an experimental metastatic bone tumor model // *Int.J.Oncol* — 2002. — Vol.20. — P.299-303.
64. White J. The challenge of rational development of complex natural products as cancer therapeutics // *J.Natl. Cancer Inst.* — 2010. — Vol.102. — P.834-835.
65. Zafarullah M., Su S., Martel-Pelletier J. et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) mRNA is constitutively expressed in bovine, human normal and osteoarthritic articular chondrocytes // *J.Cekk Biochem.* — 1996. — Vol.60. — P.211-217.
66. Zheng L., Ling P., Wang Z. et al. A novel polypeptide from shark cartilage with potent anti-angiogenic activity // *Cancer Biol.Ther.* — 2007. — Vol.6. — P.775-780.