

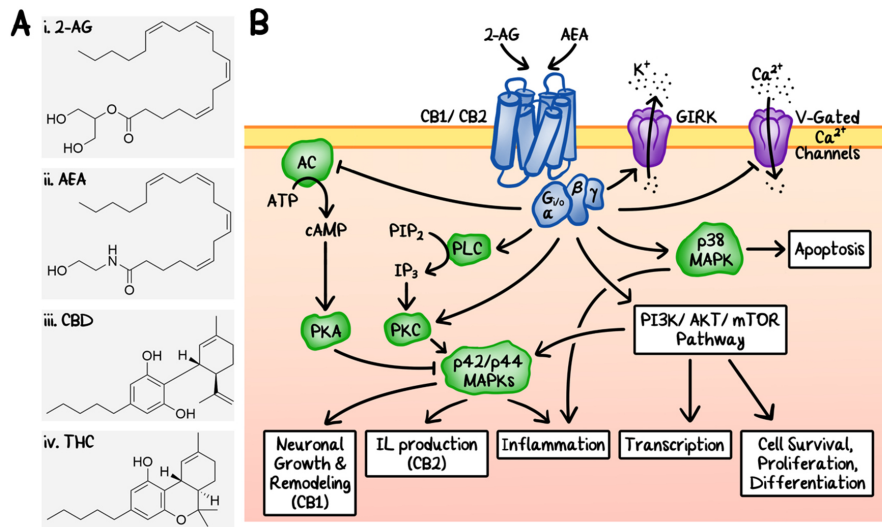
# Каннабидиол (КБД) как подающий надежду противораковый препарат

**Краткое описание:** Использование растительных экстрактов, содержащих каннабиноиды, в качестве фитотерапии восходит к 500 году до нашей эры. В последние годы огромное внимание привлекло медицинское применение одного из непсихотических каннабиноидов, каннабидиола или КБД. В данной статье мы обсудим самые последние результаты, которые всячески поддерживают дальнейшее развитие КБД в качестве многообещающего противоракового препарата.

**Аннотация:** В последнее время каннабиноиды, такие как каннабидиол (КБД) и  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинол (ТГК), стали предметом интенсивных исследований и пристального внимания. Каннабиноиды включают в себя широкий спектр органических молекул, в том числе те, которые физиологически вырабатываются в организме человека, синтезируются в лабораториях и извлекаются главным образом из растения *конопля посевная (Cannabis sativa)*. Эти органические молекулы имеют сходство в своих химических структурах, а также в профилях связывания с белками. Однако существуют явные различия в их механизмах действия и клиническом применении, которые будут кратко сопоставлены в данной статье. Механизм действия КБД и его потенциальное применение в лечении онкологических заболеваний будут в центре внимания этой обзорной статьи.

## 1. Введение

Растительный экстракт *конопли посевной* стали использовать в качестве фитотерапии в Азии еще в 500 г. до н.э. Эндоканнабиноидная система человека была обнаружена после открытия каннабиноидных рецепторов. Первоначально считалось, что каннабиноиды оказывают свое физиологическое действие посредством неспецифических взаимодействий с клеточной мембраной; однако исследования конца 1980-х годов с участием подопытных крыс привели к открытию и характеристике специфических каннабиноидных рецепторов CB1 и CB2. Рецептор CB1 представлен во всей центральной нервной системе (ЦНС), принимая во внимание, что рецептор CB2 обнаруживается главным образом в иммунной системе и гемопоэтических клетках. Вскоре после открытия рецепторов CB1 и CB2 были также идентифицированы их эндогенные лиганды, или эндоканнабиноиды, в том числе 2-арахидонолиглицерин (2-AG) и N-арахидоноилэтанолламин (AEA, также называемый анандамидом) (рис. 1A, i и ii). CB1 и CB2 принадлежат к большому семейству трансмембранных белков, называемых рецепторами, связанными с G-белком (GPCR-рецепторами), и в настоящее время считается, что они отвечают за большинство физиологических эффектов эндоканнабиноидов (рис. 1B). Оба рецептора связаны с Gai/o, который может ингибировать аденилилциклазу (AC). CB1 также может быть соединен с Gαq/11 и Gα12/13. Также было показано, что CB2 действует через Gas.



V-gated Ca<sup>2+</sup> channels - потенциалзависимые кальциевые каналы

Apoptosis – апоптоз

PI3K/ATK/mTOR pathway - фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/АКТ и мишень рапамицина в клетках млекопитающих

Neuronal growth and remodeling (CB1) - рост и ремоделирование нейронов (CB1)

IL production (CB2) – производство интерлейкинов

Inflammation -воспаление

Transcription - биосинтез молекул РНК на соответствующих участках ДНК

Cell survival, proliferation, differentiation - выживание, пролиферация, дифференциация клеток

**Рисунок 1.** Эндоканнабиноидная система. (А) Химические структуры двух эндогенных каннабиноидов, 2-арахидонилглицерина (i, 2-AG) и N-арахидонилэтаноламина (ii, AEA), и двух типичных экзогенных каннабиноидов конопли посевной, каннабидиола (iii, CBD) и Δ9-тетрагидроканнабинола (iv, Δ9-ТГК). (В) Принципиальные схемы путей передачи сигналов эндоканнабиноидной системы. 2-AG и AEA являются агонистами CB1 и CB2. Некоторые из нижестоящих результатов включают: (1) усиление регуляции p42/p44 митоген-активируемых протеинкиназ (MAPKs) путем прямого ингибирования аденилила циклазы (AC) и прямой активации фосфолипазы C (PLC), что приводит к росту нейронов, активации лейкоцитов и воспалению. PKA: протеинкиназа А. PKC: протеинкиназа С. (2) Активация p38 MAPK, которая вызывает воспаление и апоптоз. (3) Активация фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/АКТ и мишени рапамицина в клетках млекопитающих (mTOR). При определенных условиях эти эндоканнабиноиды могут также вызывать биосинтез молекул РНК на соответствующих участках ДНК, жизнестойкость клеток, пролиферацию и дифференциацию через сходные пути метаболизма. Кроме того, каннабиноидные рецепторы могут также модулировать ионные каналы, включая связанные с G-белком калиевые каналы внутреннего выпрямления (GIRKs) и потенциалзависимые кальциевые каналы.

Два первичных эндоканнабиноида, 2-AG и AEA, могут активировать либо CB1, либо CB2 и синтезируются в нужный момент из предшественников фосфолипидов в ответ на повышение уровня внутриклеточного кальция. В дополнение к CB1 и B2, 2-AG и AEA могут также связывать другие трансмембранные белки, включая редкий сопряженный с G-белком рецептор 55 (GPR55), рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом (PPAR), и транзитный рецепторный потенциал ваниллоидного (TRPV) канала типа 1 (TRPV1).

Каналы TRPV представляют особый интерес в отношении противоопухолевых функций каннабидиола (КБД) (рис. 1А, iii), которые будут обсуждаться более подробно позже. У человека было идентифицировано шесть различных каналов TRPV, которые можно разделить на две группы: TRPV1, TRPV2, TRPV3 и TRPV4 относятся к группе I, а TRPV5 и TRPV6 попадают в группу II. Хотя точные функции каналов TRPV все еще находятся в стадии глубокого изучения, они, вероятно, участвуют в регуляции клеточного гомеостаза кальция. Например, TRPV1 и TRPV2 можно обнаружить в цитоплазматической мембране, а также в мембране эндоплазматического ретикула (ЭР). Оба они играют важную роль в регулировании концентрации цитоплазматического кальция из внеклеточных источников, а также кальция, запасенного в ЭР. Нарушение клеточного гомеостаза кальция может привести к увеличению выработки активных форм кислорода (АФК), ЭР-стрессу и гибели клеток.

В растении *Cannabis sativa* (также известном как конопля посевная или марихуана) содержится множество каннабиноидов. Существует более 100 различных каннабиноидов, и наиболее известными из них являются  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинол ( $\Delta^9$ -ТГК) (рис. 1А, iv) и КБД. Так называемая конопля посевная лекарственного типа содержит более высокий уровень  $\Delta^9$ -ТГК и более широко используется в медицинских и оздоровительных целях, в то время как конопля волокнистого типа содержит менее 0,2%  $\Delta^9$ -ТГК и чаще используется в текстиле и продуктах питания. Считается, что  $\Delta^9$ -ТГК является психотическим каннабиноидом, и многие из его психоактивных эффектов обусловлены его взаимодействием с рецептором CB1, при этом его иммуномодулирующие свойства, вероятно, обусловлены его взаимодействием с рецептором CB2. Напротив, КБД не является психоактивным и обладает относительно низкой активностью как к CB1, так и к CB2.

Целесообразность применения каннабиноидов в лечении онкологических заболеваний уже давно вызывает большой интерес. Недавно было обнаружено, что как CB1, так и CB2 участвуют во многих типах рака. Интересно, что оба рецептора часто не обнаруживались в месте возникновения рака до момента злокачественного перерождения. Дополнительные доказательства роли эндоканнабиноидной системы в неоплазии появились, когда Ванг с коллегами показали, что CB1 обладает функцией подавления роста опухолей в генетически модифицированной модели рака толстой кишки у мышей. С другой стороны, количество чувствительных рецепторов CB1 повышено при гепатоцеллюлярной карциноме и лимфоме Ходжкина, и степень, в которой количество CB1 превышает нормальные значения, коррелирует с тяжестью заболевания при эпителиальной карциноме яичников. Аналогичным образом, было также обнаружено, что количество рецепторов CB2 повышается при раке молочной железы HER2+ и глиомах. Наконец, было показано, что повышение количества как CB1, так и CB2 коррелирует с плохим прогнозом при колоректальной карциноме IV стадии. В 1976 году Карчман с коллегами обнаружили, что введение каннабиноидов, таких как  $\Delta^8$ -ТГК,  $\Delta^9$ -ТГК и КБД, ингибировало синтез ДНК и рост аденокарциномы легкого в культивируемых клетках, а также на подопытных мышах с опухолями. Аналогичные эффекты наблюдались как в моделях *in vitro*, так и *in vivo* различных других видов рака, включая глиому, рак молочной железы, поджелудочной железы, предстательной железы, колоректальную карциному и лимфому. Существуют различные предлагаемые механизмы действия, лежащие в основе этих результатов, включая, в частности: остановку клеточного цикла, развитие апоптоза, а также торможение неоваскуляризации, миграции, адгезии, инвазии и метастазирования. Несмотря на множество положительных результатов применения каннабиноидов, связанных с  $\Delta^9$ -ТГК, в исследованиях онкологических заболеваний, клиническое применение этих соединений ограничено из-за их психоактивных побочных эффектов.

В отличие от каннабиноидов, связанных с  $\Delta^9$ -ТГК, КБД не обладает известными психоактивными эффектами, и поэтому в последнее время находится в центре интенсивных исследований во многих терапевтических областях, включая лечение онкологических заболеваний.

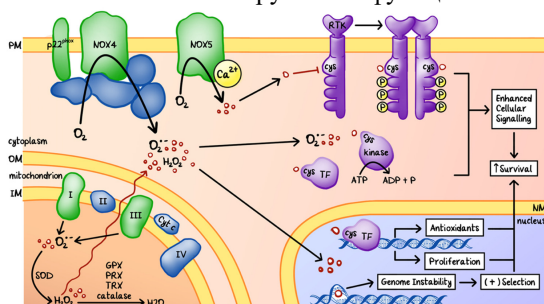
В настоящее время Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) одобрило только Epidiolex, очищенный КБД, для применения у пациентов с судорогами, связанными с синдромом Леннокса-Гасто или синдромом Драве. Во всем мире более 40 стран, а также 34 штата США, округ Колумбия, Гуаму, Пуэрто-Рико и Виргинские острова США одобрили программы применения медицинской марихуаны/каннабиса. Поскольку в США марихуана считается психотропным веществом из Списка I, Управление по борьбе с наркотическими веществами постановило, что КБД является психотропным веществом из списка V. Для одобрения FDA КБД должен содержать менее 0,1%  $\Delta^9$ -ТГК.

Было отмечено, что КБД обладает относительно низкой активностью как к CB1, так и к CB2. Однако было обнаружено, что КБД может действовать как антагонист CB1 в семяносеющих протоках мышц и тканях головного мозга *in vitro*. Существуют также данные, свидетельствующие о том, что КБД может действовать как обратный агонист человеческого CB2. Другие клеточные рецепторы, с которыми КБД может взаимодействовать, включают TRPVs, 5-HT1A, GPR55 и PPAR. Было выдвинуто предположение, что КБД обладает сильным антипролиферативным и проапоптотическим действием. Кроме того, он также может ингибировать миграцию, инвазию и метастазирование раковых клеток. Положительный эффект КБД в противоопухолевой терапии и потенциальные механизмы, лежащие в его основе, будут обсуждаться более подробно ниже. Поскольку большая часть противоопухолевой активности КБД, по-видимому, зависит от его регуляции АФК, ЭР-стресса и иммуномодуляции, мы сначала обобщим взаимосвязи между АФК, ЭР-стрессом и воспалением и их известными эффектами на различные аспекты онкогенеза. После этого мы продолжим обсуждение противоопухолевых эффектов КБД на различные виды рака и молекулярных механизмов, лежащих в их основе.

## 2. Взаимодействие между активными формами кислорода (АФК), стрессом, воспалением и онкологическими заболеваниями

### 2.1. АФК и онкологические заболевания

АФК означает различные кислородсодержащие частицы, которые энергетически нестабильны и обладают высокой реакционной способностью с различными биомолекулами, включая аминокислоты, липиды и нуклеиновые кислоты. Обычно встречающиеся АФК включают супероксид ( $O_2^{\cdot-}$ ), пероксид ( $O_2^{-2}$ ), перекись водорода ( $H_2O_2$ ) и свободный радикал гидроксила ( $OH^{\cdot}$ ). Наиболее распространенными источниками АФК являются цепи переноса электронов в митохондриях и семейство трансмембранных ферментов NADPH-оксидазы (NOX) (рис. 2). Некоторые ферменты и органеллы, такие как пероксисомы и ЭР, также могут продуцировать АФК. АФК могут непосредственно окислять нуклеиновые кислоты, белки и липиды, тем самым изменяя или нарушая их функции.



- Cytoplasm - Цитоплазма
- Mitochondrion - Митохондрия
- Enhanced cellular signaling – улучшенная внутриклеточная передача
- Survival - Выживание
- Antioxidants Антиоксиданты
- Proliferation - Распространение
- Genome instability - Нестабильность генома
- (+) Selection - (+) Выбор

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7693730/>

Переведено по заказу компании SWISSGOLD для проекта Motherplant

[www.motherplant.ru](http://www.motherplant.ru) \ [www.thecbd.ru](http://www.thecbd.ru)

**Рисунок 2.** Происхождение и эффекты активных форм кислорода в клетках (АФК). АФК генерируются комплексом I и III цепи переноса электронов в митохондриях и ферментами NADPH-оксидазы (NOX), расположенными на цитоплазматической мембране (PM). АФК нарушают клеточные процессы, окисляя остатки цистеина (Cys) различных белков и повреждая нуклеиновые кислоты. Окисление АФК может вызывать подавление активности фосфатаз, активацию киназ и транскрипционных факторов (TF), а также геномные изменения, приводящие к усилению клеточной пролиферации и выживаемости. Образованию АФК противодействует выработка антиоксидантов, таких как супероксиддисмутаза (SOD), глутатионпероксидаза (GPX), пероксиредоксин (PRX), тиоредоксин (TRX) и каталаза. При раке окислительно-восстановительный гомеостаз изменяется в пользу толерантности к АФК. OM: внешняя митохондриальная мембрана. IM: внутренняя митохондриальная мембрана. NM: ядерная мембрана.

Для предотвращения постоянного повреждения биомолекул АФК уравниваются различными антиоксидантами внутри клеток. Основные антиоксидантные ферменты включают супероксиддисмутазу (SOD), каталазу, пероксиредоксины (PRX), тиоредоксин (TRX) и глутатионпероксидазу (GPX).

При онкологических заболеваниях окислительно-восстановительный баланс изменяется таким образом, что повышенная выработка АФК способствует прогрессированию и разрастанию опухоли, избегая при этом гибели клеток. Противоопухолевые эффекты повышенной генерации АФК включают, помимо прочего, геномную нестабильность и усиленную пролиферацию (рис. 2). АФК повреждают ДНК, окисляя гуанин и образуя 8-гидроксигуанин и 8-нитрогуанин. Это может привести к делению/вставкам, мутациям в спаривании оснований и разрывам цепей с последующим мутагенным заживлением. Нестабильность генома играет ключевую роль в прогрессировании опухоли за счет накопления мутаций, которые способствуют неконтролируемому росту и обходят гибель клеток. Разрастание дополнительно усиливается за счет окисления и активации стимулирующих рост внутриклеточных сигнальных путей, включая пути активируемой митогеном протеинкиназы (MAPK) и фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/протеинкиназы B (AKT). Ядерный фактор "каппа-би" (NFkB), транскрипционный фактор, жизненно важный для роста и миграции, также активируется АФК путем ингибирования фосфорилирования ингибитора NFkB  $\alpha$  (I $\kappa$ B $\alpha$ ) или путем стимулирования S-глутатионилирования ингибитора субъединицы  $\beta$  NFkB киназы (IKK  $\beta$ ). Наконец, раковые клетки могут перестраивать свои пути передачи сигналов, чтобы справиться с повышенным уровнем внутриклеточных АФК. Наиболее примечательно, что это может быть достигнуто за счет повышения активности митохондриальной супероксиддисмутазы или инактивации ферментов, поглощающих ее.

Тем не менее, токсичные уровни АФК могут вызывать гибель клеток или аутофагию в раковых клетках. АФК снижают активность кальциевых каналов, насосов и активность системы обмена путем окисления их остатков цистеина. Увеличение внутриклеточного митохондриального кальция или окисление липидов повреждает митохондриальную мембрану, что приводит к высвобождению цитохрома c, мощного активатора апоптосомы. АФК также могут непосредственно влиять на активность каспазы и расщепление Bcl-2 и/или увеличивать экспрессию рецепторов клеточной смерти, таких как TRAIL и Fas. Аутофагия может быть вызвана активацией пути mTOR.

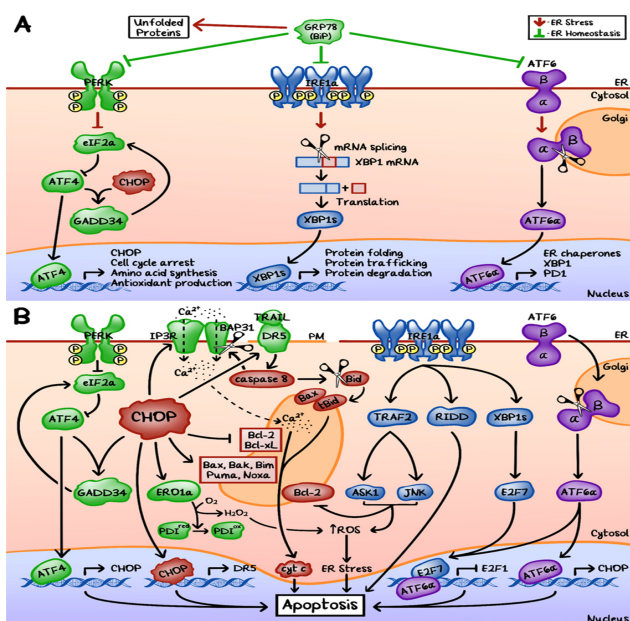
## 2.2. Стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР) и онкологические заболевания

ЭР является важным органоидом, который играет решающую роль в посттрансляционной модификации и сворачивании белков, гомеостазе кальция и других биологических процессах. Накопление развернутых и/или неправильно свернутых белков запускает реакцию несвернутых белков (РНБ), которая помогает восстановить баланс гомеостаза ЭР. РНБ временно останавливает синтез белка и пытается исправить и повторно свернуть белки. В случае, если развернутые и/или неправильно свернутые белки не могут быть исправлены вовремя, они затем будут нацелены на разрушение белка.

РНБ – это хорошо изученный клеточный процесс (рис. 3А). Он в первую очередь регулируется 78-kDa глюкозорегулируемым белком (GRP78), который также известен как иммуноглобулин-связывающий белок (Bid). В условиях отсутствия стресса GRP78 связывает и ингибирует три трансмембранных белка: требующие инозитола ферменты 1 $\alpha$  (IRE1 $\alpha$ ), киназу эндоплазматического ретикулаума поджелудочной железы (PERK), а также активирующий фактор транскрипции 6 (ATF6). Между тем, в условиях ЭР-стресса GRP78 связывает несвернутые белки, отделяет от PERK, IRE1 $\alpha$  и ATF6 и приводит к активации трех различных, но взаимосвязанных путей. После каскадов PERK и ATF6 повышается активность CHOP.

CHOP вызывает апоптоз несколькими путями (рис. 3В): (i) Он увеличивает транскрипцию GADD34; (ii) Он увеличивает транскрипцию ЭР-оксидоредуктазы 1 альфа (ERO1 $\alpha$ ), которая затем повторно окисляет PDI и генерирует АФК; (iii) Он увеличивает транскрипцию инозитола 1,4,5-трифосфатный рецептор (IP3R), который затем увеличивает уровень кальция в цитоплазме; (iv) Он активирует внешний путь гибели клеток через рецептор смерти 5 (DR5) и каспазу-8, опосредованную активацией усеченного Bid (tBid), который затем перемещается в митохондрии и способствует высвобождению цитохрома с; (v) Он активирует внутренний путь гибели клеток, непосредственно уменьшая экспрессию факторов, способствующих выживанию, Bcl-2 и Bcl-xL, и увеличивая экспрессию проапоптотических факторов, таких как Bax, Bak, Bim, Puma и Noxa; (vi) Он активирует каспазу-8 через TRAIL-DR5 на цитоплазматической мембране, который расщепляет белок 31, связанный с рецептором В-клеток (BAP31), и образует p20. Затем p20 высвобождает кальций из ЭР в цитоплазму, который поглощается митохондриями и приводит к дальнейшему высвобождению цитохрома с.

В своем развитии опухоли в значительной степени зависят от пути РНБ для выживаемости клеток, возможно, из-за гипоксической среды и метаболического стресса, сопровождающего быстрое увеличение массы опухоли. Например, PERK и ATF4 активируют фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС) и гипоксия-индуцируемый фактор 1/2 (HIF1/2) для ангиогенеза. Прекращение экспрессии гена ХВР1 предотвращало рост опухоли и метастазирование рака молочной железы с тройным негативным фенотипом (TNBC) *in vivo*. Анализ с использованием клеточных линий TNBC показал, что повышенная регуляция ХВР1 усиливает экспрессию HIF1 $\alpha$ . Тем не менее, когда система РНБ перегружена, проапоптотические факторы становятся доминирующими, что приводит к гибели клеток.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7693730/>

Переведено по заказу компании SWISSGOLD для проекта Motherplant

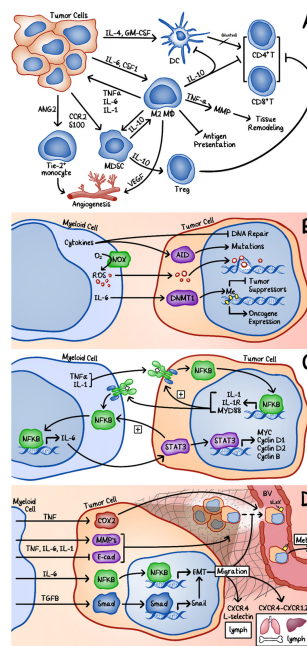
[www.motherplant.ru](http://www.motherplant.ru) \ [www.thecbd.ru](http://www.thecbd.ru)

**Рисунок 3.** Гомеостаз эндоплазматического ретикулума (ЭР), стресс и реакция несвернутых белков (РНБ). (А) Гомеостаз ЭР опосредуется 78-kDa регулируемым глюкозой белком 78 (GRP78). В условиях стресса GRP78 диссоциирует с киназой эндоплазматического ретикулума поджелудочной железы (PERK), требующими инозитола ферментами 1 $\alpha$  (IRE1 $\alpha$ ), а также активирующим фактором транскрипции 6 (ATF6), что приводит к активации их нисходящих сигнальных каскадов для восстановления гомеостаза ЭР. (В) Когда гомеостаз ЭР не удается восстановить, чрезмерная РНБ может привести к апоптозу, в первую очередь за счет усиления регуляции гомологичного белка С/ЕВР (CHOP). РМ: цитоплазматическая мембрана; eIF2 $\alpha$ : фактор инициации эукариот 2 $\alpha$ ; ATF4: активирующий фактор транскрипции 4; GADD34: индуцируемый повреждением ДНК белок 34; XBP1: связывающий белок X-бокса (XBP1s: склеенная форма); ERO1 $\alpha$ : оксидоредуктаза эндоплазматического ретикулума 1 $\alpha$ ; PDI: дисульфидизомераза белка; DR5: рецептор смерти 5; TRAIL: апоптоз-индуцирующий лиганд семейства TNF; IP3R: рецептор инозитола 1,4,5-трифосфата; VAPB31: связанный с В-клеточными рецепторами белок 31; Bid: ВНЗ взаимодействующий доменный агонист смерти; TRAF2: ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли фактор 2; RIDD: регулируемый IRE1-зависимый распад; ASK1: киназа, регулирующая сигнал апоптоза 1; JNK: JUN N-терминальная киназа; E2F7: фактор транскрипции E2F 7; E2F1: фактор транскрипции E2F 1.

### 2.3. Влияние воспаления и микросреды на выживаемость, миграцию и иммунное уклонение опухоли

Микросреда ткани часто играет важную роль в поддержании образования, распространения и метастазирования опухоли. Микросреда опухоли в основном состоит из инфильтрированных лейкоцитов, включая ассоциированные с опухолью макрофаги (ТАМ), дендритные клетки и миелоидные клетки-супрессоры (МДСС). Взаимовлияние между инфильтрированными клетками и опухолевыми клетками могут подавлять иммунный ответ и создавать среду, способствующую выживанию опухолевых клеток.

Уклонение от атаки иммунной системы имеет важное значение во время развития рака. Уклонение возможно за счет динамических взаимодействий между различными цитокинами и их рецепторами в микросреде опухоли. Опухоли активно вырабатывают различные цитокины, которые привлекают различные инфильтрирующие клетки, такие как ТАМ, дендритные клетки, МДСС и иммуносупрессивные регуляторные Т-лимфоциты, которые, в свою очередь, помогают опухолям уклоняться от атаки иммунной системы (рис. 4А). Цитокины, высвобождаемые из миелоидных клеток, также могут вызывать геномную нестабильность в опухолевых клетках, непосредственно повреждая ДНК или эпигенетически изменяя экспрессию генов (рис. 4В).



**Рисунок 4.** Взаимодействия между клетками опухоли и воспалительными клетками во время онкогенеза. **(А)** Влияние клеток опухоли на воспалительные клетки. Клетки опухоли выделяют много цитокинов для изменения микросреды, способствуя росту и инвазии опухоли и притупляя противоопухолевый иммунный ответ. **(В)** Воспалительные клетки влияют на геномную стабильность клеток опухоли. AID: цитидиндезаминаза, индуцируемая активацией; DNMT1: ДНК-метилтрансфераза 1. **(С)** Воспалительные клетки усиливают пролиферацию и выживание опухолевых клеток посредством аутокринной и паракринной передачи сигналов. **(D)** Воспалительные клетки способствуют миграции, инвазии и метастазированию опухолевых клеток посредством продукции цитокинов и хемокинов. COX-2: циклооксигеназа 2; MMP: матриксная металлопротеиназа; E-cad: E-кадгерин; EMT: эпителиально-мезенхимальная трансдифференциация; sLex: антиген сиалил-Lex; CXCR: рецептор СХС хемокин; BV: кровеносный сосуд.

Ключевые медиаторы воспаления для пролиферации и выживания опухоли включают NF-κB и передатчик сигнала, а также активатор транскрипции 3 (STAT3) (рис. 4C). IL-6, выделяемый миелоидными клетками, активирует STAT3, который затем активирует циклины D1, D2 и B, а также MYC, способствуя пролиферации клеток опухоли. STAT3, экспрессируемый опухолевыми клетками, дополнительно усиливает секрецию IL-6 миелоидными клетками за счет повышенной экспрессии NF-κB в этих воспалительных клетках, создавая таким образом петлю положительной обратной связи. IL-22, вырабатываемый лимфоидными клетками CD11c+, также способен активировать STAT3 в эпителиальных клетках. Параллельно секреция TNF-α и IL-1 лейкоцитами может усиливать экспрессию NF-κB в опухолевых клетках. NF-κB, в свою очередь, усиливает экспрессию IL-1α, IL-1R и MYD88, что может дополнительно усиливать активность NF-κB, создавая таким образом положительную аутокринную петлю. Экспрессия NF-κB может быть непосредственно активирована в иммунных клетках воспалительными цитокинами, TNF-α и IL-1, а также TLR-MYD88 при повреждении тканей. Было также показано, что после передачи сигналов IL-6 NF-κB индуцирует эпителиально-мезенхимальный переход (EMT), который затем способствует миграции опухолевых клеток. В модели рака предстательной железы взаимодействие между активатором рецептора NF-κB (RANK) на поверхности раковых клеток и лигандом RANK на инфильтрирующих лейкоцитах способствовало метастазированию через активацию пути NF-κB. Эта петля положительной обратной связи NF-κB/IL-6/STAT3 присутствует на всех фазах онкогенеза.

Кроме того, экспрессия STAT3 в опухолиассоциированных лейкоцитах также играет ключевую роль в иммуномодуляции. Экспрессия STAT3 в воспалительных клетках позволяет опухолям ускользать от иммунного надзора, в то время как уничтожение STAT3 в макрофагах и нейтрофилах усиливает ответ, опосредованный Т-хелперами 1 типа, с увеличением выделения IFN, TNF-α и IL-1. Экспрессия STAT3 в миелоидных клетках может замедлять созревание дендритных клеток, снижая их экспрессию IL-12, и подавлять иммунный ответ, повышая экспрессию IL-23 в TAM.

В совокупности активация путей передачи сигналов NF-κB и STAT3 в раковых клетках, а также в воспалительных клетках в микросреде опухоли обеспечивает большое преимущество для количественного роста опухолевых клеток, выживания, миграции и уклонения от иммунного надзора (рис. 4 C, D).

### **3. Противораковые эффекты КБД**

#### *3.1. Глиома*

Глиома – это наиболее распространенное первичное злокачественное новообразование головного мозга. Глиома IV степени, также называемая мультиформной глиобластомой (ГБМ) или глиобластомой, является одним из наиболее агрессивных видов рака. Прогноз ГБМ очень плохой, выживаемость в течение пяти лет составляет всего 4-5%. Современные методы лечения включают хирургическое вмешательство с последующей лучевой терапией и химиотерапией с использованием темозоломида (TMZ) или кармустина (BCNU). К сожалению, большинство опухолей ГБМ устойчивы к этим методам лечения.



Каннабиноиды были широко изучены при глиомах из-за неудовлетворенных неотложных медицинских потребностей. В таблице S1 обобщены опубликованные исследования, посвященные влиянию КБД на глиомы либо отдельно, либо вместе с BCNU, TMZ, тамоксифеном, цисплатином, облучением, ингибиторами ATM и  $\Delta 9$ -ТГК. В этих исследованиях было использовано много клеточных линий ГБМ, большинство из которых использовали U87MG. Антипролиферативные эффекты КБД на ГБМ довольно очевидны, но средние значения IC50 КБД различались среди разных клеточных линий: C6 (8,5  $\mu\text{M}$ ), U87MG (12,75  $\pm$  9,7  $\mu\text{M}$ ), U373 (21,6  $\pm$  3,5  $\mu\text{M}$ ), U251 (4,91  $\pm$  6,1  $\mu\text{M}$ ), SF126 (1,2  $\mu\text{M}$ ), T98 (8,03  $\pm$  4,0  $\mu\text{M}$ ), MZC (33,2  $\mu\text{M}$ ) и GL261 (10,67  $\pm$  0,58  $\mu\text{M}$ ). Различия между публикациями могут быть обусловлены процедурными различиями, включая анализы, используемые для измерения жизнеспособности и/или времени воздействия КБД. Было показано, что КБД, отдельно или с другими агентами, успешно индуцирует гибель клеток, замедляет миграцию и инвазию клеток *in vitro*, уменьшает размер опухоли, васкуляризацию, рост и вес, а также увеличивает выживаемость и индуцирует регрессию опухоли *in vivo*. Что касается антипролиферативного действия КБД на ГБМ, данные показывают, что апоптоз происходит независимо от CB1, CB2 и TRPV1, но зависит от TRPV2. В частности, Иванов и др. обнаружили, что КБД,  $\gamma$ -облучение и ингибитор ATM KU60019 усиливают передачу сигналов TNF/TNFR1 и TRAIL/TRAIL-R2 наряду с DR5 во внешнем апоптотическом пути. КБД также активирует пути JNK-AP1 и NF- $\kappa$ B, вызывая гибель клеток. Меньшее внимание уделялось роли аутофагии или остановке клеточного цикла в КБД-опосредованном воздействии на глиальные клетки.

Были исследованы многие нисходящие эффекты КБД. Во многих работах сообщалось о повышенном уровне окислительного стресса в КБД, но не  $\Delta 9$ -ТГК, клеточных линиях ГБМ, подвергаемых лечению. Масси и др. обнаружили, что уровень АФК увеличивается в зависимости от времени, причем значение становится актуальным только через пять часов, после того, как на клетки U87MG воздействовало 25  $\mu\text{M}$  КБД. В то же время уровень глутатиона, антиоксиданта, был значительно снижен после шести часов воздействия КБД. Напротив, в нормальных глиальных клетках, получивших терапию КБД, не наблюдается выраженного увеличения АФК. Совместное применение КБД и антиоксидантов, включая N-ацетилцистеин (НАС) и  $\alpha$ -токоферол (т.е. витамин E), ослабило поражающий фактор КБД. Все исследования клеточных линий ГБМ предполагают, что КБД провоцирует гибель клеток, скорее всего, за счет повышения уровня АФК. Скотт и др. обнаружили, что КБД также увеличивает экспрессию белков теплового шока (HSP), что, как было установлено, связано с повышенной выработкой АФК, поскольку НАС препятствует роли HSP. Интересно, что было показано, что использование ингибиторов HSP вместе с КБД увеличивает цитотоксический эффект и значительно снижает значение IC50 КБД с 11  $\pm$  2,7  $\mu\text{M}$  до 4,8  $\pm$  1,9  $\mu\text{M}$  в клетках T98G. Это говорит о том, что ингибиторы HSP могут быть использованы в качестве дополнительной терапевтической процедуры с применением КБД. Недавно Апарисио-Бланко и др. вводили КБД в липидных наночастицах (ЛНКС) в ГБМ *in vitro* в попытке получить формулу КБД с пролонгированным высвобождением. ЛНКС с КБД, были более эффективны при снижении значений IC50, при этом они меньше по размеру и оказывали воздействие в течение более длительных периодов времени.

При ГБМ КБД ингибирует путь выживания PI3K/AKT с помощью снижения фосфорилирования AKT1/2 (pAkt) и p42/44 MAPK, не влияя на общий уровень белка AKT и p42/44 MAPK. Этот путь также может быть ответственен за КБД-опосредованную аутофагию в стволовых клетках глиомы, поскольку в этих клетках повышается регуляция PTEN, в то время как AKT понижается. Путь PI3K играет важную роль в экспрессии TRPV2, который является потенциальной мишенью для КБД. В U251  $\Delta 9$ -ТГК и КБД вместе, но не по отдельности, подавляли p42/44 MAPK. Принимая во внимание, что Скотт и др. выявили, что только КБД лечил клетки T98G и U87MG, хотя и в более высокой концентрации (20  $\mu\text{M}$ ), и тем более в сочетании с  $\gamma$ -облучением, снижал уровни pAkt и p42/44 MAPK. КБД также может активировать проапоптотический путь MAP-киназы. Иванов и др. обнаружили, что терапия КБД вместе с  $\gamma$ -облучением приводила к усилению регуляции активных JNK1/2 и p38 MAPK, особенно в клетках U87MG. Однако, используя клетки U251, Марку и др. показали, что  $\Delta 9$ -ТГК и КБД не повышают активность JNK1/2 или p38 MAPK. Расхождение может быть связано с генетическими различиями между различными клеточными линиями ГБМ.

Масси и др. исследовали, как КБД модулирует 5-липоксигеназу (5-LOX), COX-2 и эндоканнабиноидную систему при ГБМ. Они обнаружили, что 5-LOX, но не COX-2, снижается при применении КБД *in vivo*. Терапия КБД также привела к увеличению экспрессии амидгидролазы жирных кислот (ФААН), которая снижает уровень АЕА, предполагая, что КБД может ингибировать выработку медиаторов воспаления путем косвенного ослабления эндоканнабиноидной системы в ГБМ.

В дополнение к  $\gamma$ -облучению было также протестировано применение КБД с алкилирующими агентами, особенно TMZ, доказав, что они вместе оказывают синергическое антипролиферативное действие на клетки глиомы. Косгодаж и др. обнаружили, что клетки, обработанные КБД, отдельно и с применением TMZ, увеличивали внеклеточные везикулы (EV), содержащие антионкогенный miR-126. Также были снижены уровни проонкогенных miR-21 и MIR-2, которые отвечают за химиорезистентные функции и защитные свойства митохондрий. В доклинических исследованиях на моделях-мышьях с ГБМ пероральное введение подобной Sativex комбинации  $\Delta 9$ -ТГК и КБД в соотношении 1:1 с TMZ уменьшало рост опухоли и увеличивало выживаемость. Эти результаты привели к двум клиническим испытаниям I/II фазы. Предварительные результаты доступны только для одного исследования и являются многообещающими (NCT01812603). Пациентов с ГБМ лечили либо препаратом Sativex, КБД: $\Delta 9$ -ТГК (1:1), либо спреем для слизистой оболочки с интенсивной дозой TMZ, либо плацебо, и первая часть исследования не выявила токсичности 3 или 4 степени. Во второй части этого исследования та же комбинация препаратов увеличила медиану выживаемости по сравнению с группой плацебо с увеличением выживаемости в течение 1 года на 83% и 56% соответственно. Наиболее частыми побочными эффектами, о которых сообщалось в ходе лечения, были головокружение и тошнота. Резистентность к TMZ может быть снижена с помощью комбинаций КБД: $\Delta 9$ -ТГК. Когда будет опубликован полный отчет, мы надеемся, что авторы более подробно обсудят безопасность и эффективность и помогут определить, какие побочные эффекты можно отнести к Sativex, а какие к TMZ.

Существует также несколько тематических исследований, в которых описано применение КБД у пациентов с глиомами высокой степени злокачественности. Два пациента получали лечение прокарбазином, ломустинном и винкристином вместе с КБД (один пациент в дозе 100-200 мг/сут перорально, а другой в дозе 300-450 мг/сут перорально) в течение примерно двух лет. У обоих пациентов не было никакого прогрессирования заболевания в течение двух лет после лечения. Побочные эффекты лечения включали сыпь, умеренную тошноту, рвоту и усталость, без какой-либо лимфопении, тромбоцитопении, печеночной токсичности или нейротоксичности. В серии случаев, описывающих 9 пациентов с ГБМ IV степени, средняя выживаемость при сочетании хирургического вмешательства, радио- и химиотерапии, а также КБД (200-400 мг/сут) была увеличена до 22,3 месяцев, а у двух пациентов не было признаков прогрессирования заболевания в течение трех или более лет. В целом, опубликованные результаты показывают, что КБД сам по себе или в сочетании с  $\Delta 9$ -ТГК, TMZ или  $\gamma$ -облучением показывают большие перспективы в лечении глиомы. Кроме того, побочные эффекты КБД отдельно или вместе с  $\Delta 9$ -ТГК, судя по всему, относительно безвредны.

### *3.2. Рак молочной железы*

Рак молочной железы является основным онкологическим заболеванием и второй по значимости причиной смерти женщин от рака в Соединенных Штатах. Влияние КБД на течение рака молочной железы изучается с 2006 года; исследования в этой области недавно расширились (таблица S2). Различные клеточные линии рака молочной железы были использованы для демонстрации дозозависимого ответа на КБД, включая эстроген-рецепторные ЭР-позитивные клетки (MCF-7, ZR-75-1, T47D), ЭР-негативные клетки (MDA-MB-231, MDA-MB-468 и SK-BR3) и клетки рака молочной железы с тройным негативным фенотипом (TNBC) (SUM159, 4T1up, MVT-1 и SCP2). Всего от 1 до 5  $\mu$ M КБД индуцировало значительную гибель клеток в MDA-MB-231 через 24 ч. Значения IC50 КБД для большинства клеточных линий стабильно низкие, что указывает на то, что клеточные линии рака молочной железы, как правило, чувствительны к антипролиферативным эффектам КБД без значительного эффекта на нетрансформированные эпителиальные клетки молочной железы.

КБД оказывает свое антипролиферативное действие на клетки рака молочной железы посредством различных механизмов, включая апоптоз, аутофагию и остановку клеточного цикла. Лигрести и др. сообщают, что клетки MDA-MB-231, получившие терапию КБД, провоцировали апоптотический эффект с участием каспазы-3, тогда как КБД оказывал свое действие на MCF-7 посредством остановки клеточного цикла на контрольной точке G1/S. При этом остановка клеточного цикла на контрольной точке G1/S была недавно продемонстрирована в клетках MDA-MB-231 и 4T1 после терапии КБД. Поскольку активация рецепторов CB2 и TRPV1 наблюдалась в клетках MDA-MB-231, эффект был частичным. Более поздние исследования показали, что антипролиферативное действие КБД на клетки рака молочной железы не зависит от эндоканнабиноидных рецепторов. Было последовательно показано, что КБД генерирует АФК, которые, в свою очередь, ингибируют пролиферацию и индуцируют гибель клеток. КБД оказывает свое проапоптотическое действие, подавляя mTOR, АКТ, 4EBP1 и циклин D, одновременно повышая экспрессию PPAR $\gamma$  и его ядерную локализацию. Шривастава и др. показали, что ингибирование сигнального пути АКТ/mTOR и индуцирование ЭР-стресса также провоцируют аутофагию наряду с апоптозом. При повышенных концентрациях КБД или при подавлении аутофагии уровни апоптоза увеличивались. Они также показали, что КБД может координировать апоптоз и аутофагию посредством транслокации и расщепления Беклина-1.

Также было показано, что КБД ингибирует миграцию, инвазию и метастазирование при агрессивном раке молочной железы *in vivo* и *in vitro*. МакАллистер с соавторами наблюдали пониженную регуляцию белка Id-1 с помощью ERK и АФК в опухолях MDA-MB-231 и MDA-MB-436, получавших терапию КБД. Это снижение регуляции коррелировало со снижением инвазии опухоли и метастазирования. Было также обнаружено, что экспрессия Id-1 подавляется в очагах метастазирования в легких. В соответствии с этими наблюдениями, КБД не смог подавить метастазирование в легкие клеток рака молочной железы Id-1 со сверхэкспрессией. Интересно, что это же исследование показало, что при более низкой концентрации (1,5  $\mu$ M), которая продуцировала АФК и ингибировала экспрессию Id-1 в клетках MDA-MB-231, КБД не индуцировал аутофагию или апоптоз.

Совсем недавно было показано, что КБД ингибирует пролиферативную, миграционную и инвазивную природу клеток TNBC, подавляя активацию пути EGF/EGFR и его нижестоящих мишеней (АКТ и NF- $\kappa$ B). MMP, фаллоидиновые и актиновые стрессовые волокна играют важную роль в инвазии опухоли и также подавляются КБД. Эти результаты также были подтверждены *in vivo*, поскольку они относятся к пути EGF/EGFR и стрессовым волокнам MMP, фаллоидина и актина. Было показано, что размер первичной опухоли уменьшается вместе с количеством метастатических очагов в легких, объемом и васкуляризацией у мышей, получавших КБД. Интересно, что когда КБД вводили три раза в неделю, а не ежедневно, как это делали МакАллистер и др., количество метастазов уменьшалось, и мыши жили дольше, но первичная опухоль не уменьшалась. Было обнаружено, что снижение ангиогенеза и инвазии обусловлено изменением микросреды опухоли, например, заметным снижением CCL3, GM-CSF и MIP-2, что привело к ингибированию рекрутирования TAM (рис. 4A). Наконец, в другом исследовании был описан синтетический аналог каннабиноида O-1663, который, как было показано, является более мощным, чем как КБД, так и  $\Delta$ 9-THC, и аналогичным образом индуцирует гибель клеток и аутофагию. O-1663 также ингибировал агрессивность рака молочной железы *in vitro* и *in vivo*. Он значительно увеличивал выживаемость при распространенном метастазировании рака молочной железы, ингибировал образование метастатических очагов  $\geq 2$  мм и индуцировал регрессию установленных метастатических очагов, и все это без выраженной токсичности. В целом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что существует множество механизмов, с помощью которых КБД препятствует миграции опухоли.

Косгодаж и др. показали, что клетки рака молочной железы, получавшие терапию КБД, имели повышенную сенсibilизацию к цисплатину. КБД значительно уменьшал высвобождение экзосом и микровезикул (EMV) (при 100-200 нм), которые обычно способствуют распространению опухолей и вызывают химиорезистентность. Однако в этих же клетках MDA-MB-231 наблюдалось увеличение высвобождения более крупных EMV (201-500 нм). Эти клетки демонстрировали зависящее от концентрации увеличение АФК, утечки протонов, митохондриального дыхания и уровней АТФ. Авторы объясняют эти эффекты либо более высокой чувствительностью, либо признаком возникновения псевдоапоптотических реакций, когда апоптотические факторы, такие как АФК, все еще находятся на более низком уровне, что приводит к превращению апоптосом в EMV. КБД ингибировал индуцированную паклитакселом нейротоксичность через рецепторную систему 5-HT<sub>1A</sub> без вторичного подкрепления или когнитивных нарушений. Это также снижало жизнеспособность как клеток 4T1, так и клеток MDA-MB-231. Таким образом, КБД может быть реалистичным вспомогательным средством для лечения рака молочной железы, поскольку он может повышать чувствительность клеток, позволяя назначать потенциально более низкие дозы таких токсичных химических веществ.

В совокупности было последовательно показано, что КБД эффективен во многих клетках рака молочной железы и на подопытных мышах, когда речь заходит о его антипролиферативном и проапоптотическом эффектах, хотя механизмы этих эффектов могут варьироваться. На данный момент существует настоятельная необходимость в клинических испытаниях, направленных на изучение противоопухолевого эффекта КБД при раке молочной железы, поскольку это, по-видимому, является следующим логическим шагом в развитии КБД в качестве альтернативы лечению рака молочной железы.

### 3.3. Рак легких

Согласно эпидемиологическим исследованиям Американского онкологического общества, рак легких является вторым по распространенности раком как у мужчин, так и у женщин. Рак легких классифицируется на мелкоклеточный рак легких (SCLC, 13%) и немелкоклеточный рак легких (NSCLC, 84%), который далее можно разделить на аденокарциному, плоскоклеточный рак и крупноклеточный рак.

Рамер с коллегами опубликовали много исследований о влиянии КБД на рак легких (таблица S3). Они последовательно использовали анализ WST-1 для оценки жизнеспособности рака легких. КБД снижал жизнеспособность двух клеточных линий NSCLC, A549 (клеточная линия аденокарциномы легкого) и H460 (клеточная линия крупноклеточного рака легкого), со значениями IC<sub>50</sub> 3,47  $\mu$ M и 2,80  $\mu$ M соответственно. В течение 72 ч после инкубации с 0,001  $\mu$ M или 0,1  $\mu$ M КБД наблюдалось снижение инвазии A549 на 29% и 63%, соответственно. Не было обнаружено значительной гибели клеток A549 после терапии 0,001  $\mu$ M или 0,1  $\mu$ M КБД. Было показано, что различные клеточные линии рака легкого (например, A549, H358 и H460) экспрессируют CB1, CB2 и TRPV1, на которых частично основана противоинвазивная функция КБД. КБД также значительно уменьшил размер опухоли и метастатические узлы в легких (в среднем от 6 узлов до всего 1 узла) на ксенотрансплантатной модели опухоли A549.

Одним из механизмов проапоптотического эффекта КБД является активация COX-2, пути деградации эндоканнабиноидов, и PPAR- $\gamma$ . Терапия КБД в дозе 3  $\mu$ M в клетки A549, H460 и клетки первичной опухоли легкого у пациента с метастазами в мозг привело к усилению регуляции COX-2 и PPAR- $\gamma$ , как иРНК, так и белка. Эти наблюдения были также подтверждены *in vivo*. Производные COX-2 (PGE2, PGD2 и 15d-PGJ2), также были повышены в клетках рака легких, на которые воздействовал КБД. Подавляя активность COX-2 и PPAR- $\gamma$  с помощью антагонистов или мiРНК, проапоптотические и цитотоксические эффекты КБД были значительно ослаблены. Закономерно, в модели опухоли легкого у мышей ингибирование PPAR с помощью GW9662 обратило вспять подавляющее опухоль действие КБД.

Поскольку Рамер с соавторами обсуждали действие ингибитора активатора плазминогена-1 (РАI-1) про- и противоопухолевого действия, они представили доказательства, подтверждающие шаблон. При введении 1  $\mu\text{M}$  КБД наблюдалось снижение иРНК и белка РАI-1 в А549, Н358 и Н460. Это было подтверждено *in vivo* с использованием мышинной модели А549 и вводимой дозой КБД в количестве 5 мг/кг 3 раза в неделю. *In vitro* противоинвазивное свойство КБД было снижено выключением гена миРНК РАI-1 и было увеличено при терапии рекомбинантным РАI-1. Опосредованное применением КБД снижение РАI-1 частично обусловлено активацией СВ1, СВ2 и TRPV1, поскольку их антагонисты обратили вспять эффект. Таким образом, КБД действует как агонист СВ1, СВ2 и TRPV1 при раке легких.

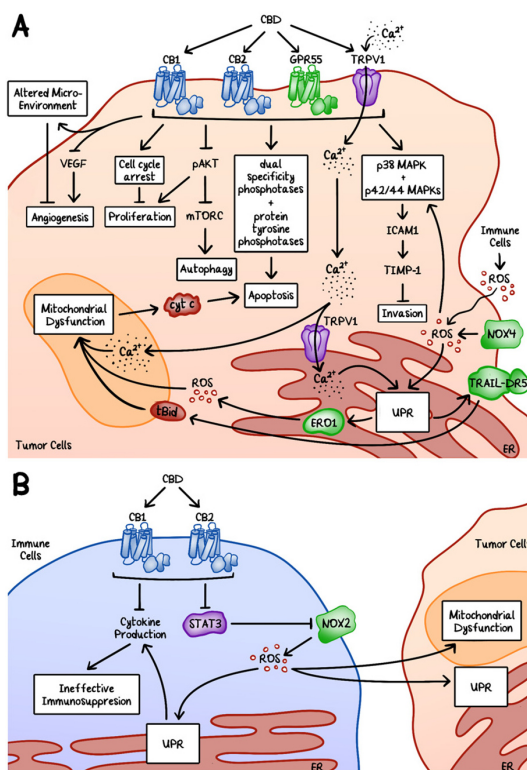
Тканевые ингибиторы ММР (TIMP) были оценены и связаны с противоинвазивным эффектом КБД, и было обнаружено, что они индуцируются КБД в зависимости от времени введения и концентрации. Опосредованное применением КБД усиление регуляции TIMP-1 было связано с активацией СВ1, СВ2 и TRPV1. КБД также активировал р38 MAPK и р42/44 MAPK, две нижестоящие мишени TRPV1. Чтобы связать СВ1, СВ2 и TRPV1 с активацией MAPK и TIMP-1, Рамер с соавторами исследовали экспрессию и функцию фактора межклеточной адгезии 1 (ICAM-1), трансмембранного гликопротеина, участвующего в метастазировании опухоли (рис. 5А). Зависящее от времени и концентрации увеличение ICAM-1 наблюдалось в получивших терапию КБД клетках А549, Н358, Н460 и клетках пациента с немелкоклеточным раком легких и метастазами в головном мозге. Также наблюдалось увеличение экспрессии иРНК TIMP-1, но это происходило после увеличения иРНК ICAM-1. Экспрессия ICAM-1 зависела от активации р42/44 MAPK и р38 MAPK. В модели *in vivo* А549, демонстрирующей противоинвазивные свойства КБД, как ICAM-1, так и TIMP-1 также были повышены. Инактивация ICAM-1 с использованием нейтрализующего антитела и миРНК привела к снижению активации TIMP-1, а также к снижению противоинвазивных свойств КБД. Эти данные свидетельствуют о том, что MAPK активируют ICAM-1, который затем стимулирует функцию TIMP-1, что, в свою очередь, подавляет инвазию опухоли.

В отдельном исследовании Хаустейн и др. исследовали индуцированную КБД экспрессию ICAM-1 на ЛАК-цитотоксичность. Терапия КБД в дозе 3  $\mu\text{M}$  индуцировало экспрессию ICAM-1 и ЛАК-опосредованное разрушение опухолевых клеток в А549 и Н460, а также метастатических клеток у пациента с немелкоклеточным раком легких. Повышенная восприимчивость к адгезии и ЛАК-опосредованному лизису в клетках, получивших терапию КБД, была обращена вспять с помощью нейтрализующего антитела ICAM-1. Такой эффект лизиса клеток был обращен вспять с использованием миРНК ICAM-1 наряду с антагонистами СВ1, СВ2 и TRPV1. Функционально-связанный антиген лимфоцитов (LFA-1) обратил вспять вызванные КБД эффекты уничтожения ЛАК-клеток, предполагая, что он работает как контррецептор к ICAM-1. Наконец, КБД не индуцировал ЛАК-опосредованный лизис клеток и повышенную регуляцию ICAM-1 неопухолевых эпителиальных клеток бронхов, предполагая, что этот эффект специфичен для раковых клеток.

Все эти исследования предполагают, что через рецепторы СВ1, СВ2 и TRPV1 КБД активирует р38 MAPK и р42/44 MAPK, которые сначала индуцируют ICAM-1, а затем TIMP-1. Затем повышенная регуляция ICAM-1 и TIMP-1 ослабляет инвазию рака легких (рис. 5А).

В настоящее время нет опубликованных результатов клинических испытаний с использованием КБД для лечения пациентов с раком легких. Однако в недавнем описании клинического случая 81-летний пациент мужского пола попытался самостоятельно вылечить свою аденокарциному легкого с помощью масла КБД. При первой постановке диагноза и обнаружении опухоли размером 2,5  $\times$  2,5 см и множественных медиастинальных образований пациенту было отказано в химиотерапии и лучевой терапии, учитывая его возраст и профиль токсичности этих методов лечения. Однако год спустя компьютерная томография (КТ) показала, что опухоль и лимфатические узлы средостения начали регрессировать.

В течение этого периода основным фактором, который изменился, было то, что он начал принимать масло КБД 2%. Побочные эффекты включали легкую тошноту и неприятный привкус во рту.



**Рисунок 5.** Воздействие КБД на раковые клетки и проникновение в иммунную систему. **(А)** Благодаря своему взаимодействию с рецепторами CB1, CB2 и TRPV1 КБД индуцирует остановку клеточного цикла и апоптоз в раковых клетках. **(В)** КБД также связывает рецепторы CB1 и CB2 на инфильтрирующих воспалительных клетках и нарушает выработку проопухолевых цитокинов, что приводит к неэффективной иммуносупрессии и способствует гибели опухолевых клеток. Продукция АФК фагоцитарными клетками нарушает ЭР и митохондриальный гомеостаз в опухолевых клетках, приводя к апоптозу. UPR: реакция несвернутых белков.

### 3.4. Колоректальный рак

В США колоректальный рак (КРР) является третьей основной причиной смерти от рака как у мужчин, так и у женщин. Исследования с использованием двух клеточных линий CRC, Caco-2 и DLD-1, а также здоровых и раковых тканей 9 пациентов с КРР показывают, что выработка эндоканнабиноидов значительно повышается в предраковых аденоматозных полипах и, в меньшей степени, в раковой ткани толстой кишки. Нормальная колоректальная ткань человека экспрессирует как CB1, так и CB2, наряду с AEA, 2-AG и ферментами, метаболизирующими эндоканнабиноиды, такими как FAAH. Видоизмененные аденоматозные полипы имеют повышенный уровень 2-AG по сравнению с нормальными тканями толстой кишки. В то время как клетки DLD-1 экспрессируют как CB1, так и CB2, клетки Caco-2 экспрессируют только CB1. В зависимости от стадии рака эндоканнабиноиды могут либо ингибировать, либо стимулировать рост КРР. Таким образом, в зависимости от стадии рака, как активаторы, так и ингибиторы эндоканнабиноидной системы могут быть полезны в борьбе с КРР.

Влияние КБД на КРР обобщено в таблице S4. Дозозависимое уничтожение клеток КРР при помощи КБД было продемонстрировано многими исследованиями, однако сообщалось, что значения IC50 SW480 составляют всего 5,95  $\mu\text{M}$  и достигают 16,5  $\mu\text{M}$  в течение 48-часового периода. Такой дозозависимый ответ на уничтожение специфичен для клеток КРР, а не для нормальных колоректальных клеток человека. Значение IC50 для CaCo-2 было указано как  $7,5 \pm 1,3 \mu\text{M}$ . При физиологических условиях содержания кислорода в толстой кишке, оцениваемых примерно в 5%, CaCo-2 были еще более чувствительны к КБД, демонстрируя снижение пролиферации при 0,5  $\mu\text{M}$  по сравнению с 1  $\mu\text{M}$  при содержании атмосферного кислорода (~20%). То же исследование показало, что в физиологических кислородных условиях антипролиферативные эффекты КБД, вероятно, обусловлены его способностью индуцировать митохондриальные АФК. Апоптоз был описан как основной путь гибели клеток КРР под действием КБД.

Сривалсан и др. использовали клетки SW480 с применением 15  $\mu\text{M}$  КБД, чтобы показать, что апоптоз был зависимым от фосфатазы и эндоканнабиноидов. Через 24 ч КБД индуцировал экспрессию различных фосфатаз двойной специфичности и белковых тирозинфосфатаз, включая DUSP1, DUSP10, сывороточный ACPP, клеточный ACPP и PTPN6. В соответствии с гипотезой, апоптоз был снижен благодаря использованию ингибитора фосфатазы, ортованадата натрия (SOV). Выключение гена CB1 и CB2 также ингибировало апоптоз. В совокупности эти исследования показывают, что апоптотический эффект КБД при КРР осуществляется через эндоканнабиноидную систему и активацию ее нижестоящих мишеней, включая различные фосфатазы.

Было показано, что КБД индуцирует Noxa-опосредованный апоптоз посредством образования АФК и чрезмерного ЭР-стресса. В клетках HCT116 и DLD-1 применение КБД индуцировало повышенную выработку АФК, особенно митохондриального супероксидного аниона, и это было связано с активацией провоцирующего фактора. Чжон и др. также обнаружили, что Noxa-активированный апоптоз зависит от чрезмерного ЭР-стресса от ATF3 и ATF4. Эти белки связывают провоцирующий фактор Noxa и стимулируют его экспрессию. Аналогичным образом, *in vivo* опухоли КРР, для лечения которых применялся КБД, также приводили к значительному уменьшению размера опухоли и индукции апоптоза, вызванного провоцирующим фактором.

Используя клетки HCT 115 и CaCo-2, Авиелло соавторами обнаружили, что 10  $\mu\text{M}$  КБД оказывает антипролиферативное действие через множество механизмов. КБД может действовать путем не прямой активации рецепторов с помощью увеличения эндоканнабиноидов, в частности 2-AG, в клеточных линиях КРР. *In vivo* КБД в дозе 1 мг/кг значительно уменьшал вызванные азоксиметаном очаги aberrантных крипт, полипы, опухоли и процент мышей с полипами. Было определено, что противоопухолевый механизм КБД заключается в подавлении пути PI3K/AKT и усилении регуляции каспазы-3.

В нескольких исследованиях также изучалось применение КБД в качестве дополнения к химиотерапии при КРР. КРР часто лечат хирургическим путем в сочетании с комбинацией 5-фторурацила, лейковорина и оксалиплатина (ФОЛФОКС). Стремясь преодолеть потенциальную резистентность к ФОЛФОКСУ, Чонг и др. обработали устойчивые к оксалиплатину клетки DLD-1 и Colo205 оксалиплатином и КБД (4  $\mu\text{M}$ ) и обнаружили, что КБД способен усиливать аутофагию, опосредованную оксалиплатином, за счет снижения фосфорилирования NOS3, который участвует в выработке оксида азота (NO) и играет роль в устойчивости к оксалиплатину. Комбинация оксалиплатина и КБД вызывала митохондриальную дисфункцию (снижение скорости потребления кислорода, мембранного потенциала митохондрий, активности митохондриального комплекса I и количества митохондрий) за счет снижения экспрессии SOD2. Эти результаты были подтверждены и *in vivo*.

При альтернативной таргетной терапии КРР, апоптоз-индуцирующий лиганд семейства TNF (TRAIL), также продемонстрировал устойчивость, которую можно преодолеть добавлением КБД (4  $\mu\text{M}$ ) в клетки HCT116, HT29 и DLD-1. КБД и TRAIL усиливали апоптоз за счет активации генов, связанных с ЭР-стрессом, включая PERK, CHOP и DR5. *In vivo* TRAIL с КБД показали значительное снижение роста опухоли и увеличение количества апоптотических клеток. В целом, эти исследования терапии применением ФОЛФОКСа и TRAIL предполагают, что КБД можно рассматривать в качестве терапевтического варианта для лечения КРР или, возможно, в качестве дополнительного лечения, которое работает синергически с обычной химиотерапией. В настоящее время нет клинических испытаний, связанных с применением КБД при КРР, однако эти результаты, связанные с синергическими эффектами КБД с химиотерапией, являются очень многообещающими и дают веские основания для проведения клинических испытаний в будущем.

### 3.5. Лейкемия/Лимфома

В последние годы наше понимание влияния КБД на лейкемию и лимфому расширилось (таблица S5). Клеточные линии EL4 и Jurkat обычно используются в качестве моделей лимфомы и лейкемии соответственно. КБД индуцировал зависящий от дозы и времени поражающий эффект на эти клеточные линии лейкемии и лимфомы, в то время как мономолекулярные клетки периферической крови были более устойчивы к КБД.

МакКаллип с соавторами обнаружили, что как в клетках EL-4, так и в клетках Jurkat антипролиферативные эффекты КБД были опосредованы через CB2, но не зависели от CB1 и TRPV1. Однако в отдельном исследовании Оливас-Агуэрре и др. показали, что эффекты КБД не зависят от эндоканнабиноидных рецепторов и Ca<sup>2+</sup>-каналов плазматической мембраны в клетках Jurkat. Такие противоречивые результаты должны быть проанализированы в ходе будущих исследований. Несмотря на это, большинство исследований лейкозов/лимфом подтвердили апоптоз как механизм, с помощью которого происходит опосредованная применением КБД гибель клеток, либо отдельно, либо в сочетании с другими методами лечения, включая  $\gamma$ -облучение,  $\Delta^9$ -ТГК, винкристин и цитарбин. Одно исследование также продемонстрировало, что КБД снижает массу опухоли и индуцирует апоптоз *in vivo*. Календероглу и др. обнаружили, что КБД может индуцировать остановку клеточного цикла в клетках Jurkat с увеличением количества клеток в фазе G1. Лечение с применением КБД также привело к изменениям морфологии клеток, включая уменьшение размера клеток, обширную вакуолизацию, увеличение митохондрий, распад ЭР и Гольджи, а также кровоизлияние в плазматическую мембрану.

Подобно результатам по другим видам рака, как обсуждалось выше, КБД также индуцировал АФК при лейкемии и лимфоме. Воздействие на клетки Jurkat и MOLT-4, другой линии лейкозных клеток, при помощи  $\geq 2,5$   $\mu$ M КБД в течение 24 ч индуцировало повышение уровня АФК. Обработка клеток совместно с поглотителями АФК,  $\alpha$ -токоферолом и НАС, уменьшила поражающий эффект КБД. Воздействие КБД также увеличивало NOX4 и p22phox, в то время как ингибирование NOX4 и p22phox снижало уровни АФК и ингибировало индуцированную КБД клеточную токсичность. В соответствии с этими наблюдениями, уровни АФК были значительно повышены всего после двух часов воздействия КБД на клетки EL-4 с сопутствующим снижением клеточных тиолов.

Календероглу и др. исследовали влияние КБД на путь mTOR в клетках Jurkat. Они обнаружили, что КБД снижает фосфорилирование АКТ и рибосомного белка S6. Они также проверили эффективность КБД при различных условиях содержания питательных веществ и кислорода и обнаружили, что антипролиферативный эффект КБД отдельно или вместе с доксорубицином был выше при 1% сыворотке, чем при 5% сыворотке. Оливас-Агуэрре и др. обнаружили, что когда клетки Jurkat подвергались воздействию более низких концентраций КБД, пролиферация все еще происходила (при 1  $\mu$ M КБД), а аутофагия усиливалась при 10  $\mu$ M КБД. Однако при более высоких концентрациях (30  $\mu$ M) активировался внутренний путь апоптоза, что приводило к высвобождению цитохрома c и перегрузке Ca<sup>2+</sup> в митохондриях. В клеточных линиях лимфомы Беркитта, Jijoue и Mutu I, AF1q стимулировал пролиферацию клеток и снижал экспрессию ICAM-1, благодаря чему клетки становились устойчивыми к химиотерапии. После воздействия КБД в течение 24 часов химиорезистентный эффект был значительно ослаблен.

### 3.6. Рак предстательной железы

Рак предстательной железы является наиболее распространенным видом рака и второй по распространенности причиной смертности от рака у мужчин. Подробная сводка исследований, описывающих влияние КБД на течение рака предстательной железы, можно найти в таблице S6. Клеточные линии рака предстательной железы, использованные в этих исследованиях, можно разделить на андрогенные рецепторы: (AR)-положительные (LNCaP и 22RV1) и AR-отрицательные (DU-145 и PC-3). КБД может ингибировать экспрессию рецептора андрогена в AR-позитивных клеточных линиях. Что касается эндоканнабиноидных рецепторов, то в зависимости от конкретного типа раковых клеток либо CB1, либо CB2, либо и то, и другое повышено в клетках рака предстательной железы по сравнению с нормальными клетками предстательной железы. В частности, 22RV1 экспрессирует только CB1, в то время как DU145 экспрессирует только CB2. Поскольку CB1 и CB2 можно обнаружить как в LNCaP, так и в PC3, их уровни гораздо более заметны в PC-3. TRPV1 экспрессируется во всех четырех клеточных линиях рака предстательной железы, причем самая высокая экспрессия обнаружена в клетках DU145.



КБД индуцировал антипролиферативные эффекты и опосредованную апоптозом гибель клеток (по внутреннему пути) в клетках рака предстательной железы, которые могут зависеть от CB2, но не от CB1, и рецептора катионного канала, действующего по механизму транзиторного рецепторного потенциала подсемейства M члена 8 (TRPM8) в клетках LNCaP. Кроме того, было показано, что терапия с применением КБД снижает экспрессию специфического антигена простаты (PSA), фактора роста эндотелия сосудов (ФРСЭ) и провоспалительных цитокинов. Воздействие КБД приводило к остановке клеточного цикла при переходе G0/G1 в клетках LNCaP и PC3 и переходе G1/S в клетках DU145.

Сривалсан с коллегами обнаружили, что как и в случае с KPP, фосфатазы двойной специфичности и протеин-тирозинфосфатазы также индуцируются КБД в клетках LNCaP. Угнетение фосфатаз ингибитором фосфатазы SOV уменьшало расщепление PARP. Кроме того, КБД усиливал фосфорилирование p38 MAPK. Совсем недавно Косгодаж и др. обнаружили, что в PC3 воздействие КБД (1  $\mu$ M и 5  $\mu$ M) снижало высвобождение EMV. Было также показано, что КБД снижает уровень митохондриально-ассоциированных белков, прохибитина и STAT3, что может объяснять снижение EMV.

На данный момент было проведено только одно исследование, проверяющее эффективность КБД при раке предстательной железы *in vivo*. Прежде чем переходить к фазе клинических испытаний, необходимы более качественные исследования с использованием подопытных мышей.

### 3.7. Другие виды рака:

Сообщалось также о влиянии КБД на целый ряд других видов рака, однако в меньшей степени (таблица S7). Клеточные линии рака шейки матки, на которые воздействовал КБД, имели зависящие от времени и концентрации поражающие эффекты, которые, как было показано, опосредуются апоптозом и не зависят от остановки клеточного цикла. Воздействие КБД приводило к усилению регуляции p53 и Bax, проапоптотического белка, и снижению регуляции RBBP6 и Bcl-2, двух антиапоптотических белков, в клетках SiHa, HeLa и ME-180. КБД также уменьшал инвазию HeLa и C33A, которая зависела от CB1, CB2 и TRPV1. Рамер и др. также обнаружили, что это противоинвазивное свойство КБД связано с усилением регуляции p38 MAPK и p42/44 MAPK, наряду с их последующей мишенью, TIMP-1, что аналогично ситуации с раком легких, как обсуждалось выше (рисунок 5A).

КБД (1  $\mu$ M и 5  $\mu$ M) также снижал жизнеспособность клеток клеточной линии гепатоцеллюлярной карциномы, Hep G2, дозозависимым образом через 24 ч. Подобно клеточным линиям молочной железы и предстательной железы, MDA-MB-231 и PC3, соответственно, клетки Hep G2, на которые воздействовал КБД, снижали высвобождение EMV и экспрессию CD63, прохибитина и STAT3. Кроме того, воздействие КБД на клетки Hep G2 сенситивизировало их к цисплатину. Нейман-Райзель и др. использовали клеточную линию гепатоцеллюлярной карциномы мыши BNL1 ME, которая экспрессирует функциональные каналы TRPV2, чтобы продемонстрировать эффекты КБД в сочетании с доксорубицином. Было показано, что КБД (10  $\mu$ M) активирует TRPV2 и ингибирует транспортер Р-гликопротеин-АТФазы, что позволяет увеличить поступление и накопление доксорубина в клетку, поскольку он транспортируется через цитоплазматическую мембрану через TRPV2 и откачивается из клетки с помощью транспортера Р-гликопротеин-АТФазы. Эти эффекты, вероятно, были ответственны за способность КБД снижать дозу доксорубина, необходимую для снижения жизнеспособности и пролиферации клеток. Что касается рака щитовидной железы, КБД индуцировал антипролиферативный эффект в KiMoI посредством активации апоптоза и остановки клеточного цикла. Было показано, что KiMoI содержит повышенные уровни CB1, CB2 и TRPV1, но ингибиторы CB1, CB2 и TRPV1 лишь незначительно снижают антипролиферативные эффекты КБД. КБД (5 мг/кг два раза в неделю) также оказывал противоопухолевое действие на модели опухоли щитовидной железы у мышей.

Таха и др. изучали пациентов с немелкоклеточным раком легкого IV стадии, светлоклеточной почечно-клеточной карциномой и прогрессирующей меланомой, получавших иммунотерапию ниволумабом (препараты против PD-1), а также пациентов, которые дополнительно употребляли каннабис, включая КБД и  $\Delta$ 9-ТГК. Они показали снижение частоты ответов на лечение в группах, использующих каннабис с ниволумабом, в то время как у пациентов, не употребляющих каннабис, вероятность ответа на лечение ниволумабом была в 3,17 раза выше. Однако употребление каннабиса не привело к существенной разнице в общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования. Судя по этой группе, можно сделать предположение о существовании возможного негативного взаимодействия между каннабисом и иммунотерапией.

КБД снижал пролиферацию клеток и образование колоний в зависимости от концентрации в раковых клетках желудка, не влияя на нормальные клетки желудка. Клеточная линия аденокарциномы желудка, AGS, имеет обильную экспрессию TRPV1 без обнаружения CB1 или CB2. Чжан и др. обнаружили, что КБД индуцирует остановку клеточного цикла путем ингибирования экспрессии CDK2 и циклина E в SGC-7901, другой клеточной линии рака желудка.

Кроме того, КБД увеличивал экспрессию ATM и p21, одновременно снижая экспрессию p53. Антипролиферативные эффекты КБД в SGC-7901 также были приписаны митохондриально-зависимому апоптозу, поскольку он увеличивал активность каспазы-3 и каспазы-9, высвобождение цитохрома c и экспрессию белков Araf-1, Bad и Bax и снижал экспрессию Bcl-2. Индуцированная КБД остановка клеточного цикла и апоптоз были связаны с повышением уровня АФК. В нескольких клеточных линиях рака желудка Джеонг с соавторами показали, что КБД вызывает апоптоз, индуцируя ЭР-стресс, который затем активирует второй митохондриальный активатор каспазы (Smac). Повышенная регуляция Smac приводила к понижению регуляции X-связанного ингибитора апоптоза (XIAP) посредством убиквитинирования/активации протеасом. Было также показано, что КБД вызывает митохондриальную дисфункцию (рис. 5A), о чем свидетельствует вызванное КБД снижение скорости потребления кислорода, выработки АТФ, мембранного потенциала митохондрий и субъединицы 9 субкомплекса убихинон-1 $\alpha$  NADH-дегидрогеназы. *In vivo* мыши, которым вводили MKN45, другую линию клеток рака желудка, показали более медленный рост опухоли и меньший размер опухоли при лечении с помощью КБД (20 мг/кг) три раза в неделю. Как и в исследованиях *in vitro*, КБД способствовал апоптозу и снижал экспрессию XIAP в опухолях.

Меланомные клеточные линии (B16 и A375) экспрессируют эндоканнабиноидные рецепторы CB1 и CB2. Предыдущие исследования также показали, что активация этих рецепторов с помощью  $\Delta^9$ -ТГК снижает рост, пролиферацию, ангиогенез и метастазирование меланомы *in vivo*. В то время как  $\Delta^9$ -ТГК выглядит многообещающим в качестве метода лечения меланомы, было проведено мало исследований о влиянии КБД на меланому. В недавнем исследовании, проведенном Симмерманом с коллегами, КБД был протестирован на мышинной модели меланомы (B16F10). Было создано 3 группы мышей: контрольная (получавшая этанол и PBS), получавшая цисплатин (5 мг/кг внутривенно один раз в неделю) и получавшая КБД (5 мг/кг внутривенно два раза в неделю). Продолжительность жизни была значительно увеличена, а размер опухоли был значительно уменьшен у мышей, получавших КБД, по сравнению с контрольными мышами, но с меньшим эффектом по сравнению с мышами, получавшими цисплатин. Качество жизни было субъективно описано, и было обнаружено, что у мышей, получавших КБД, качество жизни было лучше, они отличались улучшенной подвижностью и менее враждебным взаимодействием/борьбой по сравнению как с контрольной группой, так и с мышами, получавшими цисплатин. Это исследование не включало группу комбинированного лечения КБД и цисплатином. Необходимы дополнительные исследования, чтобы понять влияние КБД на клетки меланомы человека.

При раке поджелудочной железы, особенно при аденокарциноме протоков поджелудочной железы (АППЖ), наблюдаются незначительные улучшения в лечении и выживаемости. Ферро и др. использовали линии раковых клеток PDAC, включая ASPC1, HPAFII, VXPC3 и PANC1, а также мышей KRAS<sup>wt</sup>/G12D/TP53<sup>WT</sup>/R172H/Pdx1-Cre<sup>+/+</sup> (KPC) в качестве моделей АППЖ, чтобы продемонстрировать, что GPR55 накапливается в ткани при АППЖ, и что его разрушение приводит к улучшению выживаемости и снижению пролиферации как *in vivo*, так и *in vitro*. В основном это происходило за счет остановки клеточного цикла при переходе G1/S путем снижения экспрессии циклинов без увеличения апоптоза. Кроме того, они обнаружили, что последующая передача сигналов MAPK/ERK ингибируется в клетках, лишенных GPR55. *In vivo* лечение мышей KPC при помощи КБД (100 мг/кг) увеличивало выживаемость, аналогично случаям с применением гемцитабина (GEM) (100 мг/кг), а при совместном применении КБД и GEM выживаемость увеличивалась примерно в три раза по сравнению с контрольной группой. При использовании этой комбинации пролиферация клеток также снижалась. КБД также был способен противодействовать повышенной активации регулируемой внеклеточными сигналами киназы (ERK) GEM, предполагаемому механизму приобретенной резистентности к GEM.

#### 4. Выводы и заключения

Как свидетельствует большой объем литературы, рассмотренной выше, КБД продемонстрировал сильные антипролиферативные и проапоптотические эффекты на широкий спектр типов рака как в культивируемых линиях раковых клеток, так и в моделях опухолей у мышей. Для сравнения, КБД обычно оказывает более мягкое воздействие на нормальные клетки из той же ткани/органа. Противоопухолевые механизмы варьируются в зависимости от типа опухоли, начиная от остановки клеточного цикла и заканчивая аутофагией, гибелью клеток или их сочетанием. Кроме того, КБД может также ингибировать миграцию опухоли, инвазию и неоваскуляризацию (рис. 5А), предполагая, что КБД действует не только на опухолевые клетки, но также может влиять на микросреду опухоли, например, путем модуляции инфильтрирующих мезенхимальных клеток и иммунных клеток. Зависимость КБД от эндоканнабиноидных рецепторов, CB1 и CB2, или семейства кальциевых каналов TRPV, также варьируется, что позволяет предположить, что КБД может иметь несколько клеточных мишеней и/или разные клеточные мишени в разных опухолях (таблица 1).

КБД, по-видимому, автоматически нарушает клеточный окислительно-восстановительный гомеостаз и вызывает резкое увеличение АФК и ЭР-стресса, что затем может привести к остановке клеточного цикла, аутофагии и эффектам гибели клеток (рис. 5А). Для будущих исследований крайне важно выяснить взаимосвязи между различными путями передачи сигналов, такими как АФК, ЭР-стресс и воспаление, чтобы лучше понять, как воздействие КБД нарушает клеточный гомеостаз как в опухолевых клетках, так и в инфильтрирующих клетках, что приводит к гибели раковых клеток и угнетению миграции опухоли, инвазии, метастазирования и ангиогенеза. Заключительным этапом изучения КБД в качестве противоопухолевого препарата является проведение обширных и хорошо продуманных клинических испытаний, которые крайне необходимы.

**Таблица 1.** Влияние КБД на различные виды онкологических заболеваний.

Тип опухоли	АФК	ЭР-стресс	Воспаление	CB1	Потенциальные клеточные мишени			GPR55	Противоопухолевый путь		
					CB2	TRPV1	TRPV2		PI3K/АКТ/mTOR	MAPK	Аутофагия
Глиобластома	↑	↑	↑	X	X	X	↑		↓	↑	↑
Молочная железа	↑	↑		X	X	X			↓		↑
Легкие				↑	↑	↑				↑	
Толстая кишка	↑	↑		↑	↑	↑			↓		↑
Лейкемия/лимфома	↑	↑		X	↑	X			↓	↑	
Простата	↑	↑	↑	X	↑					↑	
Шейка матки				↑	↑	↑				↑	
Желудок	↑	↑									
Поджелудочная железа								↓			↓

↑ - увеличение активности/количества; ↓ - снижение активности/количества; X – не участвует.

##### 4.1. Клеточные мишени КБД

Хотя чувствительность КБД к CB1 и CB2 считается относительно низкой, как CB1, так и CB2 все еще могут быть мишенями для КБД в определенных раковых клетках и в инфильтрирующих клетках в микросреде опухоли. Другие идентифицированные клеточные мишени КБД включают TRPV1, TRPV2, GPR55 и, возможно, другие GPCR или не-GPCR. Как показано в таблице 1, эти клеточные мишени могут варьироваться в зависимости от типов рака. Например, эффекты КБД при глиоме зависят от TRPV2, но не от CB1, CB2 и TRPV1. С другой стороны, эффекты КБД при раке легких, толстой кишки, предстательной железы и шейки матки в значительной степени зависят от некоторой комбинации CB1, CB2 и TRPV1. Простое присутствие этих рецепторов на поверхности раковых клеток не обязательно является хорошим прогностическим фактором чувствительности к КБД. Например, CB1, CB2 и TRPV1 высоко экспрессируются на клеточной поверхности клеточной линии рака щитовидной железы SkiMol; однако ингибирование этих рецепторов лишь незначительно влияло на антипролиферативный эффект КБД в SkiMol.

#### 4.2. КБД индуцирует внутриклеточный АФК и ЭР-стресс и усиливает иммунный ответ

Хотя клеточный ответ на воздействие КБД может быть довольно комплексным, появились определенные темы, объясняющие его противоопухолевый эффект. Одной из общих особенностей раковых клеток, на которые воздействовал КБД, является резкое повышение уровня АФК (таблица 1), вероятно, вызванное нарушением внутриклеточного гомеостаза кальция и/или функций митохондрий. ЭР-стресс и выработка АФК тесно связаны и жестко регулируются активностью ERO1 (рис. 5А). Каждый путь может активировать другой, но в конечном итоге они завершаются активацией митохондриально-опосредованной гибели клеток из-за увеличения внутриклеточного кальция. Восходящая регуляция АФК и индуцированного ЭР-стрессом апоптоза в значительной степени неизвестна. Один из возможных механизмов – через каналы TRPV. Например, Ванг с соавторами продемонстрировали, что воздействие на раковые клетки яичников антагониста TRPV1, DWP05195, увеличивала выработку АФК посредством усиления регуляции NOX; повышенная активность АФК повышала активность СНОР, приводя к ЭР-стресс-опосредованному апоптозу. Интересно, что антагонист TRPV1 не приводил к резкому изменению уровня кальция. Это наводит на мысль о другом возможном механизме внутриклеточной регуляции кальция — ферментах NOX. Было показано, что высвобождение кальция из ЭР активирует NOX, что приводит к выработке АФК в эндотелиальных клетках. Вопрос о том, опосредуются ли ЭР-стресс, вызванный КБД, и генерация АФК через активацию CB1, CB2, TRPV1 или других каналов, требует дальнейшего изучения. КБД может регулировать внутриклеточный кальций через трансмембранные каналы или высвобождение ЭР, приводящее к апоптозу.

Эндоканнабиноидные рецепторы, CB1 и CB2, высоко экспрессируются на воспалительных клетках, включая В-клетки, НК-клетки, моноциты, Т-клетки и нейтрофилы. Кроме того, CB2 по-разному экспрессируется, когда активируются В-клетки и макрофаги. Исследования, касающиеся иммуномодулирующей роли эндоканнабиноидной системы, показали, что активация CB2 ингибирует выработку TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-8 в моноцитах и макрофагах. Неудивительно, что КБД снижал выработку TNF- $\alpha$  в макрофагах после стимуляции LPS. Кроме того, КБД также снижал секрецию IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  из активированных лимфоцитов и моноцитов в периферической крови.

Секреция цитокинов также в значительной степени опосредуется выработкой АФК, основным источником которых являются NOX2-экспрессирующие иммунные клетки. MSDC продуцируют АФК при многих типах рака за счет повышенной экспрессии NOX2, которая регулируется STAT3. Было показано, что КБД снижает уровень STAT3 при колоректальном раке, раке предстательной железы, гепатоцеллюлярной карциноме, раке молочной железы, лейкемии и лимфомах. MSDC, лишённые NOX2, не смогли предотвратить пролиферацию Т-клеток и выработку IFN $\gamma$ . Таким образом, ингибирование STAT3 с помощью КБД увеличивает иммунный ответ Th1 и является основным источником продукции АФК, что приводит к гибели опухолевых клеток. Вопрос о том, опосредуется ли подавление STAT3 в ассоциированных с опухолью иммунных клетках агонистом КБД или обратным воздействием агониста на рецепторы CB2, нуждается в дальнейшем исследовании.

#### 4.3. Безопасность КБД для человека

Большинство исследований, касающихся воздействия КБД на онкологические заболевания, еще не достигли стадии клинических испытаний, поэтому мы ограничены в понимании профиля безопасности в дозах, необходимых для подавления роста опухоли. В исследовании КБД и  $\Delta$ 9-ТГК при лечении ГБМ, проведенном Твелфс с коллегами, были описаны наиболее распространенные побочные эффекты – головокружение и тошнота. За рамками лечения рака было показано, что КБД безопасен, не вызывая изменений частоты сердечных сокращений, кровяного давления, неврологических тестов или анализов крови. В отличие от других контролируемых веществ, у пациентов, по-видимому, не развивается толерантность к КБД. Лекарственные взаимодействия с КБД могут возникать, поскольку он также влияет на экспрессию различных ферментов CYP, поэтому следует соблюдать осторожность у пациентов, принимающих лекарства, метаболизирующиеся в печени.

#### *4.4. Настоятельная необходимость проведения клинических испытаний*

Как обсуждалось выше, существуют обширные доклинические исследования, указывающие на то, что КБД является эффективным противораковым средством либо отдельно, либо в сочетании с другими каннабиноидами, химиотерапией и лучевой терапией. Несмотря на то, что КБД действительно вызывает умеренную гепатотоксичность у мышей и кошек, предварительные исследования токсичности показывают, что все еще может существовать терапевтический диапазон для лечения рака у людей. Таким образом, систематические клинические испытания КБД, которые определяют его безопасность и эффективность при различных видах рака, являются следующим логическим шагом в развитии КБД в качестве онкологического препарата. При этом КБД может применяться отдельно или в сочетании с установленными терапевтическими методами.

