

Role of tyrosine-kinase inhibitor selectivity in development of adverse effects during treatment of chronic myeloid leukemia

A.A. Zeyfman^{1,2}, Ye.Yu. Chelysheva³, A.G. Turkina³, and G.G. Chilov^{1,2}

ABSTRACT

This review focuses on association between the selectivity of Bcr-Abl kinase inhibitors and the spectrum of their adverse effects during treatment of patients with chronic myeloid leukemia. The data on the structure and natural biochemical functions of the well-known adverse targets for inhibitors of Bcr-Abl kinases, including BRAF, FMS, EGFR, PDGFR, PYK2, TIE2, and VEGFR1/2/3 are summarized, and the potential association between their off-target inhibition and adverse effects of tyrosine-kinase inhibitors is suggested.

Keywords: chronic myeloid leukemia, tyrosine-kinase inhibitors, selectivity, imatinib, nilotinib, dasatinib, ponatinib, PF-114, BRAF, FMS, EGFR, PDGFR, PYK2, TIE2, VEGFR1/2/3.

Accepted December 10, 2013

¹ N.D. Zelinskiy Institute of Organic Chemistry, RAS
119991, Leninsky prosp., d. 47, Moscow, Russian Federation

² Fusion Pharma LLC

119530, yl. Generala Dorokhova, d. 18/2., Moscow, Russian Federation

³ Hematology Research Center, RF MH, Moscow

125167, Novyy Zykovskiy pr., d. 4a, Moscow, Russian Federation

A.A. Zeyfman, PhD, Leading engineer, Chief specialist

Ye.Yu. Chelysheva, PhD, Chief scientific worker, Scientific-and-consultative department of chemotherapy for myeloproliferative disorders

A.G. Turkina, DSci, Professor, Head of Scientific-and-consultative department of chemotherapy for myeloproliferative disorders

G.G. Chilov, PhD, Scientific worker, Director-General

Correspondence should be sent to G.G. Chilov

119530, yl. Generala Dorokhova, d. 18/2., Moscow, Russian Federation
or

125167, Novyy Zykovskiy pr., d. 4a, Moscow, Russian Federation

Tel.: +7 (499) 13553135, e-mail: ghermes@ruspharmtech.ru

Роль селективности ингибиторов тирозинкиназ в развитии побочных эффектов при терапии хронического миелолейкоза

А.А. Зейфман^{1,2}, Е.Ю. Чельшева³, А.Г. Туркина³, Г.Г. Чилов^{1,2}

РЕФЕРАТ

В обзоре рассмотрен вопрос о связи селективности ингибиторов киназ Bcr-Abl со спектром нежелательных побочных эффектов у больных хроническим миелолейкозом при проведении терапии. Суммированы данные по структуре и естественным биохимическим функциям наиболее хорошо изученных побочных мишеней ингибиторов киназ Bcr-Abl: BRAF, FMS, EGFR, PDGFR, PYK2, TIE2, VEGFR1/2/3, а также оценена возможная связь их нецелевого ингибирования и нежелательных побочных эффектов ингибиторов тирозинкиназ.

Ключевые слова:

хронический миелолейкоз, ингибиторы тирозинкиназ, селективность, иматиниб, nilotinib, dasatinib, ponatinib, PF-114, BRAF, FMS, EGFR, PDGFR, PYK2, TIE2, VEGFR1/2/3.

Принято в печать: 10 декабря 2013 г.

ВВЕДЕНИЕ

Внедрение таргетного подхода, заключающегося в фармакологическом воздействии на определенную биологическую мишень опухолевых клеток организма, коренным образом изменило терапию многих онкологических заболеваний. Одним из наиболее успешных примеров таргетной терапии служит применение ингибиторов тирозинкиназы Bcr-Abl (ИТК) для лечения хронического миелолейкоза (ХМЛ).

Однако, несмотря на направленность воздействия данных препаратов, они не обладают абсолютной селективностью в отношении протеинкиназы Bcr-Abl и в разной степени ингибируют другие киназы человека, общее количество которых превышает 500 [1]. Причиной, по которой одно химическое соединение может ингибировать одновременно несколько киназ, служит структурное сходство активного центра

киназ, а именно участка связывания аденозинтрифосфата (АТФ), в котором происходит перенос остатков фосфорной кислоты на остатки (как правило, серин, треонин и тирозин) других белков. В результате нецелевого ингибирования киназ могут развиваться, в частности, многочисленные побочные эффекты, которые в разной степени встречаются при использовании всех препаратов группы киназных ингибиторов (так называемые off-target [нецелевые] эффекты). По этой причине профиль селективности (избирательности) препарата должен учитываться при его назначении, мониторинге побочных эффектов и в целом при выборе терапевтической тактики.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И СЕЛЕКТИВНОСТЬ ИНГИБИТОРОВ ТИРОЗИНКИНАЗ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ

В норме белок Bcr и Abl-протеинкиназа экспрессируются независимо

¹ ФГБУ «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН»
119991, Ленинский просп., д. 47., Москва, Российская Федерация

² ООО «Фьюжн Фарма»

119530, ул. Генерала Дорохова, д. 18/2., Москва, Российская Федерация

³ ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ

125167, Новый Зыковский пр., д. 4а, Москва, Российская Федерация

друг от друга. Их биохимические функции привязаны к определенной клеточной локализации и стадии жизненного цикла клетки. Цитоплазматическая нерцепторная киназа Abl активирует посредством фосфорилирования ряд белков в ходе ремоделирования актинового цитоскелета клетки.

Однако в результате хромосомной транслокации t(9;22)(q34;q11), приводящей к слиянию генов *BCR* и *ABL*, химерный белок Bcr-Abl приобретает конститутивную киназную активность и «ошибочно» локализуется на клеточной мембране. Вследствие этого Bcr-Abl активирует посредством фосфорилирования множество сигнальных путей, стимулирующих пролиферацию клеток и блокирующих апоптоз. Белок Bcr в составе Bcr-Abl также вносит вклад в онкотрансформацию за счет образования комплекса четырех идентичных молекул (гомотетрамеров) Bcr-Abl, способствующих повышению киназной активности Abl.

Противоопухолевый эффект ИТК при ХМЛ реализуется за счет связывания молекулы ИТК в активном центре Abl, в сайте связывания АТФ, благодаря чему происходит ингибирование киназной активности Abl — ключевого фактора онкотрансформации при ХМЛ.

При развитии резистентности к ИТК и появлении вторичных мутаций в киназном домене Bcr-Abl может изменяться пространственная конформация Bcr-Abl-тирозинкиназы, что препятствует связыванию ингибитора в активном центре и, как следствие, «восстанавливается» аномальная киназная активность белка. Повышенная пролиферативная активность клеток и накопление свободных радикалов служат основой повреждения ДНК, способ-

ствуют развитию геномной нестабильности, активации дополнительных онкогенных сигнальных путей, что в конечном итоге приводит к прогрессии заболевания [2–4].

Необходимость преодоления резистентности к ИТК 1-го поколения (иматинибу) и воздействия на мутантные формы Bcr-Abl стала основой для разработки ИТК 2-го поколения (ИТК2): дазатиниба [5], нилотиниба [6], босутиниба [7]. Отличная от иматиниба пространственная структура ИТК2 способствует более прочному связыванию с мутантными формами Bcr-Abl-тирозинкиназы и лежит в основе доказанной на экспериментальном и клиническом уровнях эффективности ИТК2.

До недавнего времени нерешенной проблемой оставалось лечение больных с панрезистентной к иматинибу и всем указанным выше ИТК2 мутацией T315I. Однако и этот барьер может быть в настоящее время преодолен. Уже доказана возможность получения хорошего клинического эффекта у больных, резистентных ко всем применяющимся ИТК, с помощью ИТК 3-го поколения понатиниба [8]. В настоящее время идет разработка нового ИТК PF-114, который также показывает высокую эффективность в отношении клеток с мутацией T315I и другими мутациями в экспериментах *in vitro* [9].

Существующие ИТК существенно различаются по спектру побочных киназных мишеней (рис. 1). Дазатиниб ингибирует значительно больше побочных мишеней, чем нилотиниб и иматиниб. В свою очередь, понатиниб ингибирует еще больше киназ по сравнению с дазатинибом.

Наиболее часто встречающиеся нежелательные явления терапии ИТК — иматинибом, нилотинибом,

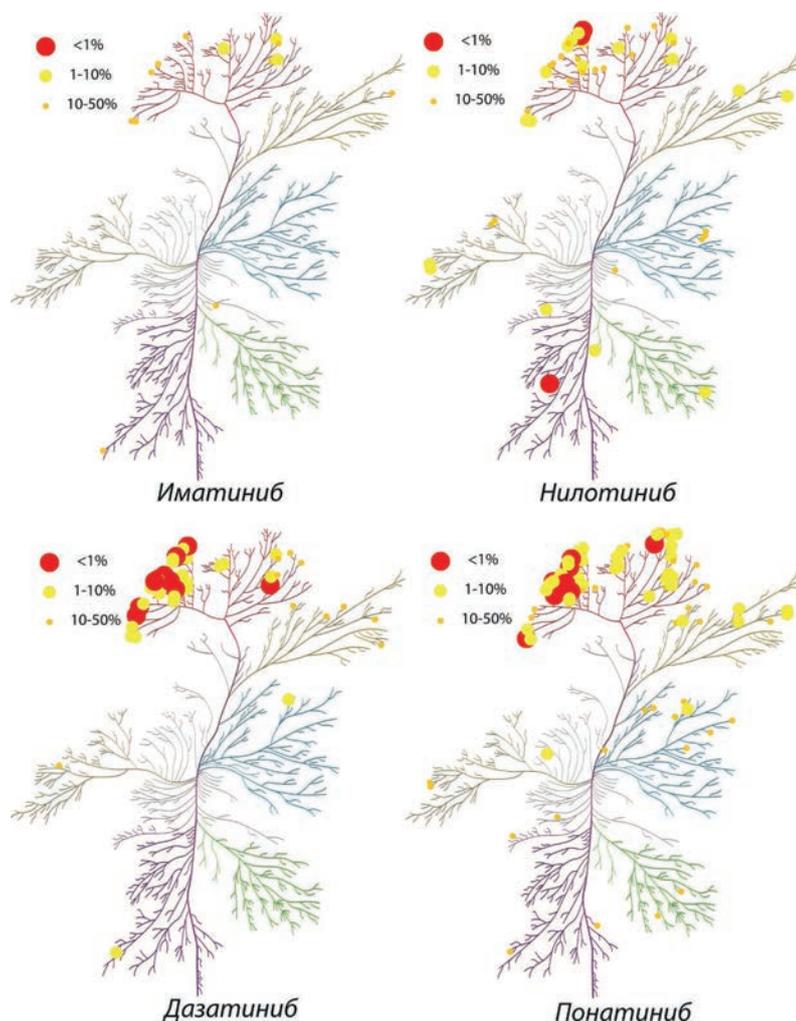


Рис. 1. Киназная селективность ингибиторов Bcr-Abl, применяемых при хроническом миелолейкозе. «Дерево» представляет кином человека; точки — отдельные киназы. Размер и цвет точек характеризуют эффективность воздействия на мишень (крупные точки — ингибирование более чем на 99%, средние — ингибирование на 90–99%, маленькие — 50–90%, отсутствие точек — менее 50% ингибирования при адекватной терапевтической концентрации препарата). Построено по данным [8] и [10]

Таблица 1. Наиболее часто встречающиеся нежелательные явления при терапии ингибиторами тирозинкиназ

Исследование	ENESTnd [11]				DASISION [12]			
	Нилотиниб 300 мг 2 раза в сутки (n = 279)		Иматиниб 400 мг 1 раз в сутки (n = 280)		Дазатиниб 100 мг 1 раз в сутки (n = 258)		Иматиниб 400 мг 1 раз в сутки (n = 258)	
ИТК	Любой степени		Любой степени		Любой степени		Любой степени	
Нежелательные явления	III-IV степени	III-IV степени	III-IV степени	III-IV степени	III-IV степени	III-IV степени	III-IV степени	III-IV степени
Гематологические, %								
Нейтропения	43	12	68	20	65	21	58	20
Тромбоцитопения	48	10	56	9	70	19	62	10
Анемия	38	3	47	5	90	10	84	7
Негематологические, %								
Диарея	8	1	21	1	17	< 1	17	1
Слабость	11	0	8	< 1	8	< 1	10	0
Головная боль	14	1	8	0	12	0	10	0
Тошнота	11	< 1	31	0	8	0	20	0
Периферические отеки	5	0	14	0	9	0	36	< 1
Плевральный выпот	< 1	< 1	0	0	10	0	0	0
Кожный зуд	15	< 1	5	0	НД	НД	НД	НД
Сыпь	31	< 1	11	1	11	0	17	1
Рвота	5	0	14	0	5	0	10	0
Лабораторные отклонения, %								
Повышение липазы	24	6	11	3	НД	0	НД	0
Повышение АЛТ	66	4	20	2	НД	< 1	НД	1
Повышение АСТ	40	1	23	1	НД	< 1	НД	1
Гипергликемия	36	6	20	0	НД	0	НД	0
Гипофосфатемия	32	5	45	8	НД	4	НД	21
Повышение общего билирубина	53	4	10	< 1	НД	1	НД	0

АЛТ — аланинаминотрансфераза; АСТ — аспартатаминотрансфераза; НД — нет данных.

дазатинибом — приведены в табл. 1 и некоторых других работах [108–110]. Представлены данные исследований по применению ИТК в терапии первой линии при хронической фазе ХМЛ.

Однако далеко не всегда часто встречающиеся нежелательные явления могут быть объяснены экспериментальными и теоретическими данными. По-видимому, для установления надежной корреляции между спектром токсичности ИТК и его селективностью необходимо гораздо больше информации о естественных биохимических функциях киназ и их роли в развитии различных побочных эффектов, чем мы имеем в настоящее время. Выяснение этих закономерностей, безусловно, станет одним из направлений развития персонализированной таргетной терапии.

В данном обзоре мы рассматриваем структуру, а также биохимические и физиологические функции ключевых молекулярных мишеней «off-target» (нецелевого)

ингибирования киназ BRAF, FMS, EGFR, PDGFR, PYK2, TIE2, VEGFR1/2/3, которые, с одной стороны, наиболее чувствительны к существующим ИТК (табл. 2) и у которых, с другой стороны, взаимосвязь с клинически значимыми побочными эффектами ИТК при ХМЛ наиболее хорошо изучена.

BRAF

BRAF — это серин/треониновая протеинкиназа, участвующая в передаче митогенных сигналов от клеточной мембраны к ядру [27]. Активирующие мутации в гене *BRAF* обнаружены при злокачественной меланоме, а также других злокачественных опухолях [28] и встречаются в среднем в 8% всех злокачественных новообразований [29].

Таблица 2. Профиль побочных киназных мишеней ингибиторов Bcr-Abl

Ингибитор	C _{плазма} , нмоль/л ^a	IC ₅₀ ^b , нмоль/л ^b									
		BRAF	c-FMS	EGFR	PDGFR α	PDGFR β	PYK2	TIE2	VEGFR1	VEGFR2	VEGFR3
Иматиниб [13]	2000 [14]	— ^c	11	—	31	14	—	—	—	—	—
Дазатиниб [13]	100 [15]	500	0,58	120	0,47	0,63	—	—	2900	> 1000	> 1000
Нилотиниб [13, 16]	4000 [17]	1700	45	—	180	73	—	3000	> 1000	4600	> 1000
Босутиниб [13, 18]	200 [19]	—	380	53	5100	200	134	3900	—	—	—
Понатиниб [8, 20]	100 [21]	33	8,6	—	1,1	7,7	35,1	14,3	3,7	1,5	2,3
DCC-2036 [22]	350 [23]	> 1000	620	> 1000	70	113	180	6	320	4	240
Данусертиб [24]	1000 [25]	?	?	?	?	?	?	?	?	432	161
PF-114 [9, 26]	100	92% ^d	4%	96%	0%	11%	95%	97%	57%	16%	30%

^a Средняя концентрация препарата в плазме крови пациента при использовании в рекомендованной для лечения ХМЛ дозе.

^b Концентрация препарата, вызывающая снижение ферментативной активности киназы на 50% *in vitro* (чем выше значение IC₅₀ по отношению к концентрации препарата в крови, тем ниже степень ингибирования киназы в физиологических условиях).

^c Неактивно в концентрации 10 000 нмоль/л.

^d Остаточная активность киназы при концентрации ингибитора 100 нмоль/л (0% соответствует полному ингибированию, 100% — отсутствию ингибирования).

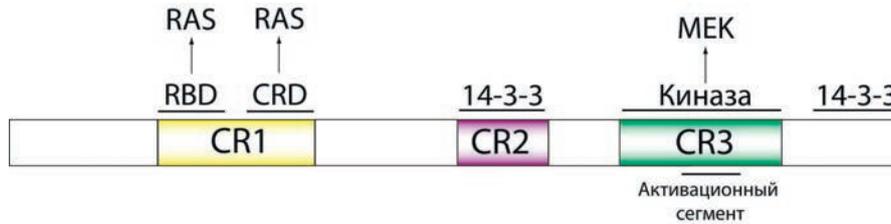


Рис. 2. Схематическая структура киназы BRAF

Структура

Все киназы семейства RAF имеют три консервативных фрагмента: CR1, CR2 и CR3.

CR1 содержит RAS-связывающий домен и богатый цистеином домен (Cysteine Rich Domain, CRD), который может связать два иона цинка, и участвует в образовании комплекса с RAS, а также мембранными фосфолипидами. Фрагмент CR2 включает сайт, который в фосфорилированном состоянии связывается с белком 14-3-3, что приводит к снижению киназной активности BRAF. Фрагмент CR3 включает киназный каталитический домен, за которым следует еще один сайт связывания белка 14-3-3 (рис. 2) [30].

Киназы семейства RAF локализованы с внутренней стороны цитоплазматической мембраны [31].

Функции

RAF-киназы участвуют в сигнальном каскаде RAS-RAF-MEK-ERK.

Активированная форма RAS (RAS-GTP) образуется, как правило, в результате стимуляции рецепторной тирозинкиназы (например, EGFR), связывается с BRAF и, в свою очередь, вызывает ее активацию [30].

Мономерные формы каталитически неактивны, в то время как димеры фосфорилируют киназы MEK1 и MEK2, которые, в свою очередь, фосфорилируют и активируют киназы ERK1 и ERK2. ERK1 и ERK2 участвуют в различных биологических процессах: пролиферации, выживании и дифференцировке клеток, причем итоговый эффект зависит от типа последних [32]. Активация киназ семейства RAF происходит посредством образования гомо- (например, ARAF-ARAF или BRAF-BRAF) и гетеродимеров (BRAF-CRAF) [33], а сайт димеризации расположен в киназном домене [30].

Активирующая мутация V600E приводит к повышенной активности BRAF и встречается при различных видах рака, причем наиболее распространена она у пациентов с меланомой [28]. Несмотря на значительный первоначальный успех терапии, в дальнейшем у большинства пациентов наблюдается прогрессия, вызванная активацией сигнального пути RAS/RAF/MEK/ERK в опухолевых клонах с немутантной формой фермента. Происходит аллостерическая (т. е. связанная изменением структуры N-концевого участка белка при связывании ингибитора в активном сайте) активация димеризации BRAF, а также гетеродимеризация BRAF-CRAF, в результате CRAF приобретает активность в опухолевых клетках [34].

Изучение побочных эффектов широко применяемых ингибиторов BRAF позволяет выявить ключевые биологические процессы, в которых участвует данный белок. Так, например, вемурафениб, селективный ингибитор BRAF, обладает ярко выраженными и распространен-

ными кожными побочными реакциями, включая бородавчатые (веррукозные) папилломы (79%), сыпь (55%), фоточувствительность (52%), а также ладонно-подошвенный синдром (60%) [35]. Предполагается, что перечисленные побочные эффекты непосредственно связаны с механизмом действия вемурафениба, т. к. многие из них встречаются, в частности, у сорафениба (ингибитора RAF), но отсутствуют у сунитиниба, киназный профиль которого отличается от сорафениба [36]. Механизм кожных побочных эффектов предположительно имеет ту же природу, что и прогрессия немутантных по BRAF опухолевых клонов при применении ингибитора BRAF. Таким образом, фактически воздействие на BRAF фармакологическими концентрациями ингибитора приводит, наоборот, к активации всего сигнального каскада [37].

Активность ингибиторов Abl в отношении BRAF

Среди ингибиторов Abl-киназы в отношении BRAF активны понатиниб ($IC_{50} < 100$ нмоль/л) и нилотиниб ($IC_{50} = 1700$ нмоль/л) [13, 16] при стационарной концентрации в плазме 4000 нмоль/л [17] (см. табл. 2). К побочным эффектам понатиниба, потенциально связанным с ингибированием данной мишени, относится кожная сыпь (III–IV степени тяжести у 5% пациентов) [38]. Кожные побочные эффекты также характерны для нилотиниба (см. табл. 1) [39].

FMS

FMS — рецепторная тирозинкиназа, связывающая колониестимулирующий фактор (CSF1) и интерлейкин-34, играет ключевую роль в регуляции выживаемости, пролиферации и дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественниц [40].

Структура

FMS-киназа относится к трансмембранным белкам. Внешнеклеточный участок состоит из пяти иммуноглобулиновых доменов, из которых три связываются с лигандом CSF, а два других отвечают за димеризацию рецептора. Внутримембранный участок состоит из остатков гидрофобных аминокислот. Внутриклеточная часть FMS разделена на пять субдоменов: околомембранный домен, АТФ-связывающая часть киназного домена, вставка гидрофобных аминокислот, каталитический киназный домен и С-концевой домен (рис. 3) [41].

Связывание лиганда приводит к гомодимеризации рецептора, активации внутриклеточных киназных доменов путем перекрестного фосфорилирования и связыванию различных белковых мишеней с активированными доменами. Связывание белка Grb2 запускает сигнальный путь RAS/RAF/MEK/ERK, связывание Src и PI3K приводит к реорганизации актинового скелета клетки. Связывание

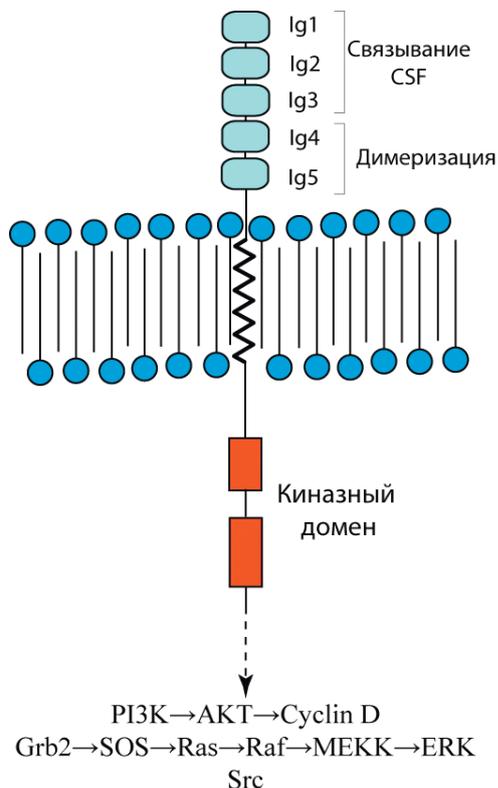


Рис. 3. Схематическая структура киназы FMS

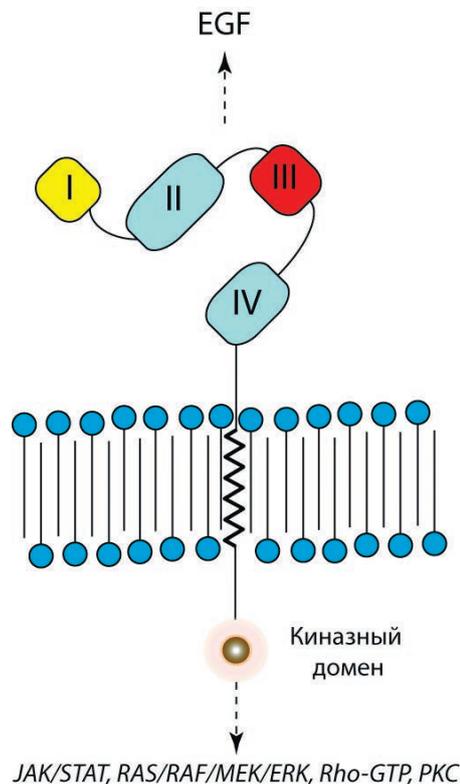


Рис. 4. Схематическая структура киназы EGFR1

PLCγ опосредованно через PKC обуславливает увеличение внутриклеточной концентрации кальция [41, 42].

Функции

Киназа FMS локализуется в основном в макрофагах и моноцитах и играет ключевую роль в иммунных и воспалительных процессах, а также в поддержании постоянства состава и свойств костной системы человека. Ингибирование FMS [43] антителами или низкомолекулярными соединениями, такими как иматиниб [44], приводит к существенному снижению числа остеокластов, отвечающих за резорбцию костной ткани и, как следствие, к развитию такого явления, как остеопетроз.

При формировании иммунного ответа происходит выработка CSF, который мобилизует моноциты и другие клетки костного мозга, а также повышает чувствительность моноцитов к стимуляции другими факторами, такими как бактериальные антигены (липополисахарид) [45]. С одной стороны, это позволяет использовать ингибиторы FMS для лечения аутоиммунных [46] и воспалительных заболеваний [47]. С другой стороны, рост солидных опухолей зачастую сопровождается включением в них так называемых опухоль-ассоциированных макрофагов, активация которых опосредована с-FMS. Поэтому ингибирование FMS представляется перспективным в терапии некоторых видов рака [48].

Активность системы CSF/FMS также необходима для поддержания репродуктивной функции у мужчин и женщин. Нокаут CSF1 у мышей приводил к репродуктивным дефектам у самцов и самок [49], а в клинических исследованиях была показана корреляция циркулирующего в крови уровня M-CSF с успехом оплодотворения *in vitro* [50].

Активность ингибиторов Abl в отношении с-FMS

Среди клинических ингибиторов Abl-киназы в отношении с-FMS активны понатиниб, дазатиниб, нилотиниб,

иматиниб и босутиниб. Все эти ИТК ингибируют FMS более чем на 50 % в терапевтической концентрации (см. табл. 2). Установлено, что терапия иматинибом у детей может сопровождаться задержкой роста и развития, что, по-видимому, связано с ингибированием с-FMS [51]. Для остальных препаратов таких исследований не проводилось, однако известно, что понатиниб [52] и босутиниб [53] отрицательно влияют на фертильность, что также может быть вызвано ингибированием FMS.

EGFR

EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) — рецепторная тирозинкиназа, связывающая внешнечеточные лиганды семейства EGF (EGF, TGFA/TGF-α, амфирегулин, эпиген EPGN, BTC, EREG и HBEGF) и конвертирующая их в различные внутриклеточные отклики (клеточная миграция, адгезия и пролиферация) [54].

Структура

Внешнечеточный фрагмент киназы EGFR состоит из четырех доменов (I–IV) (рис. 4). За связывание с лигандом отвечают, в основном, домены I и III. Домен II обеспечивает гомо- и гетеродимеризацию с другими рецепторами семейства EGFR. В свободном состоянии домены II и IV взаимодействуют друг с другом, препятствуя димеризации. Связывание с лигандом экспонирует домен II во внеклеточное пространство, что приводит к образованию гидрофобного сайта димеризации, сближению киназных доменов, их фосфорилированию и активации [55]. Активированные киназные домены за счет SH2-домена способны связывать различные внутриклеточные белковые мишени, такие как SHC и GRB2 (приводит к активации RAS и запуску путей RAF/MEK/ERK, RaiGEF/Rho/GTP и PLCε/PKC), IRS-1, JAK (запускает путь JAK/STAT), PI3K/AKT. Эти пути, в свою очередь, регулируют

транскрипционную активность ряда факторов, пролиферацию, вхождение в новую фазу клеточного цикла [56].

Функции

EGFR экспрессируется практически во всех тканях человека, за исключением гемопоэтических клеток. Активация EGFR приводит к ряду эффектов, включающих пролиферацию, миграцию и адгезию нормальных клеток, а также ангиогенез, метастазирование и инвазивность опухолей. EGFR сверхэкспрессирована при многих видах рака. Высокий уровень EGFR коррелирует с развитием болезни и плохим ответом на терапию, что делает ее привлекательной молекулярной мишенью для разработки противоопухолевых таргетных препаратов.

В нормальных клетках сигнальный путь EGFR необходим для развития эпителия, пролиферации и органогенеза. Установлено, что нокаут EGFR у мышей приводил к эмбриональной и перинатальной смертности в течение нескольких дней из-за нарушений в развитии эпителия в различных органах (ЖКТ, легкие, кожа, глаза, почки, печень). Кроме того, у нокаутных мышей наблюдались нарушение роста волос, респираторный дистресс-синдром, замедленный рост и прогрессирующее истощение [57].

Наиболее распространенными побочными эффектами ингибиторов EGFR бывают кожные проявления: сыпь, акне, фолликулит. Они обнаруживаются более чем у половины пациентов и не зависят от конкретного ингибитора EGFR (гефитиниб, эрлотиниб, цетуксимаб). Эти препараты применяются при немелкоклеточном раке легкого [58]. По-видимому, побочные эффекты обусловлены механизмом действия указанных препаратов.

Трансгенные мыши с существенно сниженной активностью EGFR имели значительные нарушения развития волосяных фолликулов, что в итоге приводило к алопеции [59]. Предполагается, что частички разрушенных волосяных фолликулов способны распознаваться иммунной системой как чужеродные элементы, вызывая воспалительный ответ и, как следствие, сыпь и фолликулит [57]. Сыпь может быть также вызвана ингибированием активности EGFR в эпидермисе, т. к. нокаут EGFR приводил к нарушениям терминальной дифференцировки не только клеток фолликулов, но и клеток эпидермиса [60]. Интересно отметить, что сыпь, возникающая при применении ингибиторов EGFR при онкологических заболеваниях, во многих исследованиях ассоциируется с эффективностью проводимой терапии и с вероятностью достижения хорошего ответа [61, 62].

Другими редкими, но серьезными побочными эффектами ингибиторов EGFR являются интерстициальные болезни легких. Так, например, частота данного осложнения при приеме гефитиниба составила 1,9–3,5% [63], при приеме эрлотиниба — 0,8% [64]. Причина возникновения этого заболевания до конца неясна.

Активность ингибиторов Abl в отношении EGFR

Среди ингибиторов Abl-киназы, используемых при ХМЛ, значительную активность в отношении EGFR проявляют дазатиниб и босутиниб ($IC_{50} < 100$ нмоль/л) (см. табл. 2). К побочным эффектам дазатиниба, потенциально связанным с этой мишенью, относятся кожная сыпь (см. табл. 1) и интерстициальная болезнь легких [65]. Прием босутиниба также приводит к развитию кожной сыпи (III–IV степени у 8% больных) [53].

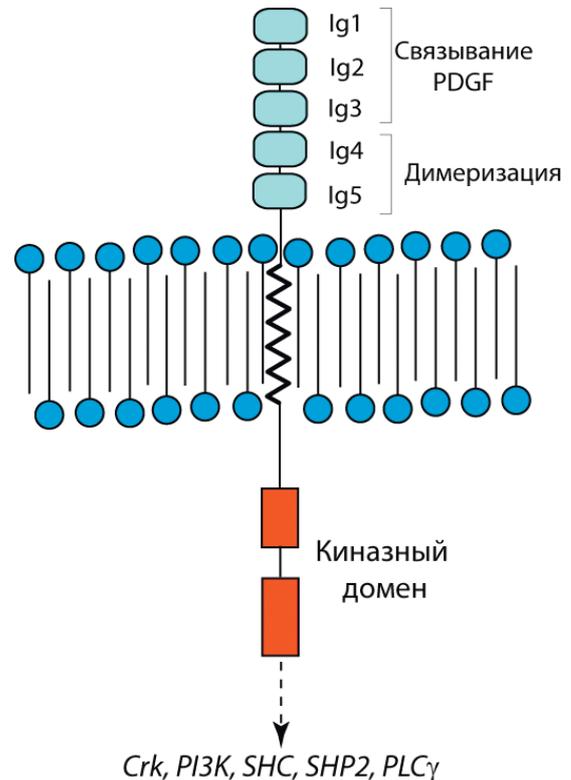


Рис. 5. Схематическая структура киназ семейства PDGFR

PDGFRA, PDGFRB

PDGFR (Platelet-derived growth factor receptor) — семейство рецепторных тирозинкиназ, связывающих внешнеклеточные лиганды PDGFA, PDGFB, PDGFC и PDGFD, играют ключевую роль в эмбриональном развитии, клеточной пролиферации, выживании и хемотаксисе клеток. Семейство включает две родственные киназы: PDGFR α [66] и PDGFR β [67].

Структура

Внеклеточные домены PDGFR-киназ содержат пять иммуноглобулиновых повторов Ig1–Ig5, из которых домены Ig1–Ig3 отвечают за связывание лиганда, а домены Ig4 и Ig5 — за димеризацию. Внутриклеточный киназный домен разделен на две части (рис. 5) [68, 69]. Связывание лигандов (в виде димеров) приводит к гомо- или гетеродимеризации PDGFR, активации внутриклеточных киназных доменов и последующему фосфорилированию остатков цитоплазматического домена, создающему сайты связывания сигнальных белков и адаптеров, запускающих сигнальные каскады. Оба рецептора могут запускать одни и те же основные сигнальные пути, включая RAS/MAPK, PI3K и PLC γ [68].

Функции

В литературе имеется большое количество экспериментальных данных, указывающих на важную роль киназ PDGFR в развитии млекопитающих [68, 70]. В то же время наилучшее представление о физиологической роли PDGFR во взрослом организме дает анализ побочных эффектов, возникающих при применении ингибиторов этих киназ. Наиболее распространенный побочный эффект ингибиторов PDGFR — плевральный выпот. Его развитие отмечено как при терапии низкомолекулярными ингибиторами [71, 72], так и при использовании блокирующих

рецептор антител [73]. Известно, что PDGFR экспрессируются в перicyтах и играют ключевую роль в ангиогенезе и поддержании тканевого интерстициального давления, что может объяснять данный побочный эффект [74].

Другим побочным эффектом ингибиторов PDGFR является гипофосфатемия, приводящая к нарушению костей. Известно, что PDGFR α встречается в остеопрогениторных клетках и остеобластах, а PDGF-AA и PDGF-BB стимулируют репликацию и миграцию остеобластов у крыс *in vivo*. Кроме того, имеются указания на то, что PDGF-BB стимулирует резорбцию костей остеокластами опосредованно через PDGFR β . В результате действие иматиниба в качестве ингибитора PDGFR приводит к нарушению метаболизма костей, включая их резорбцию и образование [75, 76].

Активность ингибиторов Abl в отношении PDGFR

Киназы PDGFR α и PDGFR β эффективно ингибируются иматинибом ($IC_{50} < 100$ нмоль/л), нилотинибом, дазатинибом и понатинибом (см. табл. 2). Нарушения в метаболизме костной ткани были отмечены для всех препаратов данного ряда, а развитие плеврального выпота — характерный побочный эффект дазатиниба [52, 65, 77].

Рyк2

Рyк2 — Proline-rich tyrosine kinase 2 — рецепторная протеинтирозинкиназа, регулирующая реорганизацию актинового цитоскелета, клеточную поляризацию, клеточную миграцию и адгезию, а также ремоделирование (перестройку) костной ткани [78].

Структура

К настоящему времени структура полноразмерной Рyк2 не изучена, однако описаны трехмерные структуры отдельных доменов Рyк2. Белок состоит из N-концевого FERM-домена, центрального каталитического домена, C-концевого домена фокальной адгезии (FAT), а также большого количества богатых пролином участков (Proline Rich, PR1–PR3), расположенных между этими доменами (рис. 6). FERM-домен образован 330 аминокислотными остатками и представляет собой клеверообразную структуру, содержащую три модуля (А, В и С). FERM-домен отвечает за образование как белок-мембранных, так и белок-белковых контактов (например, с кальций-связывающим белком кальмодулином, белками семейства Nig). Эти взаимодействия играют значительную регуляторную роль в функционировании Рyк2-киназы. Так, замена FERM-домена Рyк2 на FERM-домен FAK-киназы приводит к увеличению каталитической активности Рyк2 и скорости фосфорилирования ее клеточных субстратов.

Фосфорилирование остатка Tyr402 приводит к появлению сайта связывания для белков, содержащих SH2-домены (белки Src, p85). Их связывание, в свою очередь, вызывает фосфорилирование остатков Tyr579 и Tyr580 в активационной петле киназного домена, что обеспечивает максимальную киназную активность Рyк2.

За киназным доменом следует два богатых пролином участка (PR2 и PR3), которые обеспечивают связывание Рyк2 с SH3-содержащими белками (ASAP1, PSGAP, PRAP). Фокальный адгезионный домен (FAT) обеспечивает эффективную локализацию Рyк2 в фокальных адгезиях (белковых комплексах, обеспечивающих формирование внутриклеточного ответа на сигналы из внеклеточного матрикса) [79].

Функции

Киназа Рyк2 участвует в процессе активации тромбоцитов — важном этапе тромбообразования. Показано, что воздействие ряда активаторов (тромбина, коллагена, эpineфрина и аденозиндифосфата) на тромбоциты приводит к быстрому фосфорилированию Рyк2, опосредованному РКС-киназой (протеинкиназой С) [80, 81]. Нокаут гена *Pyk2* у мышей приводил к значительному (практически в 2 раза) увеличению времени стенозирования сосудов в модели тромбоза бедренной артерии. Кроме того, при нокауте гена *Pyk2* отмечено существенное повышение выживаемости животных в модели тромбоза, вызванной инъекцией смеси коллагена и эpineфрина. Дальнейшие исследования *ex vivo* показали, что нокаут Рyк2 не приводит к снижению числа тромбоцитов, однако влияет на их функциональность: агрегация Рyк2-/- тромбоцитов под действием тромбина проходит значительно слабее, чем активация тромбоцитов контрольных животных [82].

Рyк2 также играет значительную роль в функционировании клеток иммунной системы. Макрофаги Рyк2-/- мышей медленнее реагируют в ответ на стимуляцию хемокином SDF1 α по сравнению с нативными макрофагами. Кроме того, эти макрофаги не способны мигрировать в ответ на воздействие хемокинов, что дополнительно подтверждается *in vivo* значительным (> 2 раз) снижением числа инфильтрированных макрофагов в области подкожного введения каррагинана [83]. Нокаут гена *Pyk2* приводит к значительному снижению степени дегрануляции в нейтрофилах (выделение MMP9 и миелопероксидазы) при стимуляции pRGD. В экспериментах *in vivo* (подкожное инфицирование *S. aureus*, характеризующееся значительным участием нейтрофилов) количество бактерий у Рyк2-/- мышей в местах введения значительно превышало таковое у мышей дикого типа [84].

Нокаут гена *Pyk2* у мышей приводит к развитию остеопороза, вызванного снижением способности остеокластов к резорбции костной ткани [85]. В другой работе [86] авторы также наблюдали значительное увеличение костной массы у мыши в результате нокаута Рyк2, однако они не обнаружили снижения резорбтивной активности остеокластов. Причиной усиленного формирования костной ткани в данном случае была повышенная остеогенетическая дифференцировка клеток костного мозга у Рyк2-нокаутных животных по сравнению с контрольными животными.

Предположение о роли Рyк2-киназы при различных видах рака (раке легкого, простаты, молочной железы)



Рис. 6. Схематическое представление доменов Рyк2 [79]

высказывалось на основании высокого уровня экспрессии данного белка в соответствующих опухолях, а также ввиду эффективности некоторых ингибиторов Ptk2 в ксенографтных моделях рака простаты [87]. В то же время точное значение Ptk2 в онкологии не установлено.

Активность ингибиторов Abi в отношении Ptk2

Киназа Ptk2 играет существенную роль в таких физиологических процессах, как тромбообразование, иммунный ответ и постоянство состава и свойств костной ткани. Среди ИТК Ptk2 эффективно ингибируется понатинибом ($IC_{50} < 100$ нмоль/л) и босутинибом (см. табл. 2). К побочным эффектам понатиниба, потенциально связанным с воздействием «off-target» на данную мишень, относятся гемorragии/кровотечения (III–IV степени у 5 % пациентов), инфекции (1–10 %), а также оссалгии (1–3 %) [52]. Прием босутиниба может сопровождаться артралгией (III–IV степени у 1 % пациентов) [53].

TIE2

TIE2 (Tunica Interna Endothelial Cell Kinase) — рецепторная протеинтирозинкиназа, расположенная на поверхности эндотелиальных клеток. Связывается с ангиопоэтинами 1, 2 и 4, регулирует ангиогенез, выживание эндотелиальных клеток, а также их пролиферацию, миграцию, адгезию и распространение [88].

Структура

TIE2-киназа относится к трансмембранным белкам и состоит из внутриклеточного киназного домена и нескольких эктодоменов (рис. 7). Иммуноглобулиновые домены Ig1, Ig2 и Ig3 совместно с тремя EGF-доменами (EGF1, EGF2 и EGF3) образуют стреловидную структуру, на конце которой находится Ig2, непосредственно участвующий в связывании лиганда — ангиопоэтина. Из-за мультивалентности ангиопоэтина его связывание приводит к сближению нескольких TIE2-рецепторов, что, в свою очередь, запускает процесс перекрестного фосфорилирования их внутриклеточных киназных доменов [89]. Фосфорилирование вызывает активацию TIE2, которая затем связывается с рядом внутриклеточных белков (GRB2, eNOS, SHP2) и инициирует различные биохимические пути (RAS/RAF/MEK/ERK, NF- κ B, PI3K/AKT) и биологические процессы, такие как воспаление, а также миграцию, пролиферацию и выживание эндотелиальных клеток [90].

Функции

TIE2-киназа экспрессируется эндотелиальными клетками. Основную роль TIE2-киназа играет в процессе формирования сосудов у развивающегося организма. Нокаут гена *TIE2* приводит к нарушению формирования нормальной сосудистой сетки и бывает летальным на стадии эмбриона [91].

Однако существенное значение TIE2 имеет и в последующем поддержании нормального состояния сосудов во взрослом организме [92, 93]. С одной стороны, связывание ангиопоэтина 1 с TIE2 запускает каскад биохимических реакций с участием киназ PI3K/AKT, заканчивающийся фосфорилированием (и ингибированием) транскрипционного фактора Foxo1. Данный транскрипционный фактор повышает экспрессию генов,

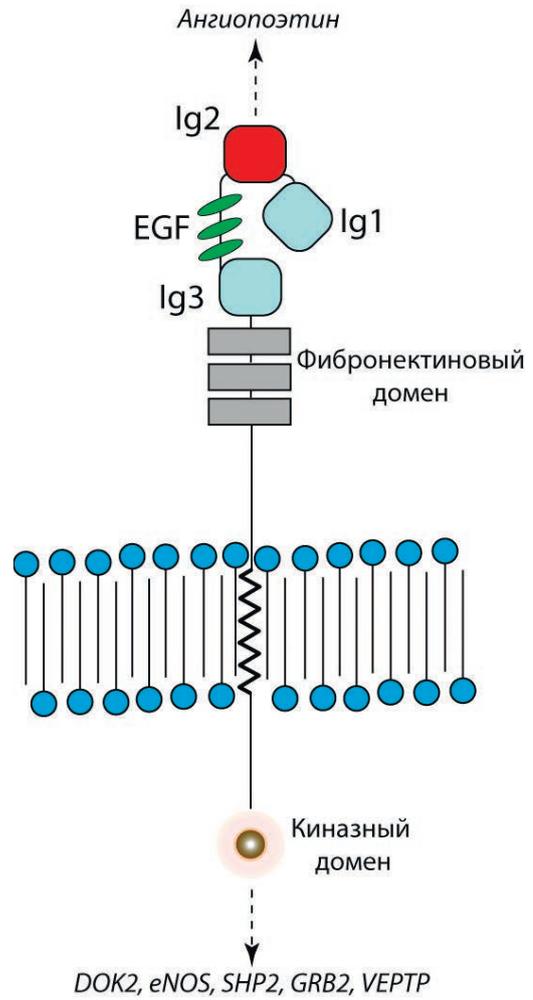


Рис. 7. Структура киназы TIE2

связанных с апоптозом эндотелиальных клеток и их дестабилизацией/ремоделированием. Таким образом, активация TIE2 приводит к выживанию эндотелиальных клеток. С другой стороны, TIE2 участвует в ангиогенезе посредством активации пути FAK/ERK1/2. Кроме того, экспрессия данной киназы значительно повышена в эндотелии тканей, для которых характерен выраженный ангиогенез (матка, яичники), а также при заживлении ран [94]. Предполагается, что TIE2 имеет значение в васкуляризации солидных опухолей [90].

Таким образом, ингибирование TIE2 может приводить к кровотечениям, служащим побочным эффектом большинства ингибиторов ангиогенеза [95], и изменению АД.

Активность ингибиторов Abi в отношении TIE2

Киназа TIE2 играет важную роль в развитии и функционировании сердечно-сосудистой системы. Среди клинических ИТК Abi TIE2 эффективно ингибируется понатинибом ($IC_{50} < 100$ нмоль/л) (см. табл. 2). К побочным эффектам понатиниба, потенциально вызванным нарушением функционирования эндотелиальных клеток из-за воздействия на данную мишень, относятся гемorragии/кровотечения (III–IV степени у 5 % пациентов) и гипертензия (2 %) [52]. Кроме того, следует отметить, что TIE2 служит мишенью для нилотиниба: IC_{50} около 3 мкмоль/л [16], концентрация препарата в плазме составляет около 2–4 мкмоль/л. Киназа TIE2 за счет воздействия на клетки эндотелия может обуславливать

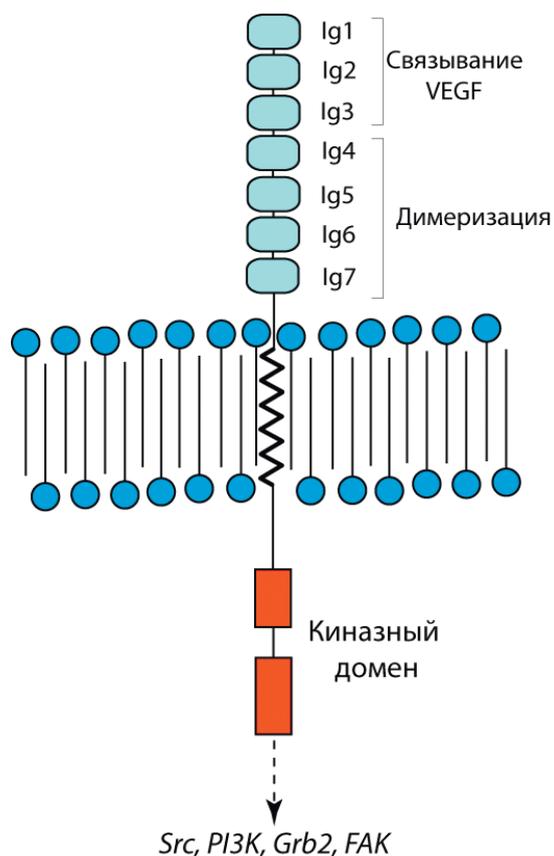


Рис. 8. Схематическая структура киназы семейства VEGFR

повышение АД и окклюзионную болезнь артерий, развитие которой отмечено при применении понатиниба [77] и нилотиниба [96].

VEGFR1/2/3

VEGFR (Vascular endothelial growth factors receptor) — семейство рецепторных тирозинкиназ, связывающих факторы роста VEGF и PGF. Семейство включает три киназы: VEGFR1 (FLT-1), VEGFR2 (KDR) и VEGFR3 (FLT-4). Они имеют существенное значение в развитии сосудистой системы, ангиогенезе, а также функционировании эндотелиальных клеток [97–99].

Структура

Киназы семейства VEGFR имеют достаточно близкую структуру и состоят из внеклеточного, трансмембранного и внутриклеточного каталитического доменов (рис. 8). Внеклеточный домен образован семью иммуноглобулиноподобными доменами (Ig1–Ig7), причем домены Ig1, Ig2 и Ig3 отвечают за связывание лиганда, в то время как домены Ig4, Ig5, Ig6 и Ig7 участвуют в структурных перегруппировках, необходимых для димеризации и активации белка [100]. Внутриклеточный домен состоит из так называемого околосмембранного домена (juxtamembrane domain), который необходим для активации следующего за ним киназного домена [101]. Киназный домен, в свою очередь, разделен на два субдомена участком из 70 аминокислот. Связывание мультивалентного лиганда внеклеточным доменом приводит к димеризации VEGFR, в результате чего происходит сближение, перекрестное фосфорилирование и активация

внутриклеточных доменов. Активированные домены VEGFR1 взаимодействуют с белками PI3K, PLC γ , Grb2; VEGFR2 — с PLC γ и Shb; VEGFR3 — с PKC и PI3K. Эти взаимодействия влияют на различные биологические процессы, такие как миграция и пролиферация клеток, изменение проницаемости сосудов за счет активации эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), васкуло- и ангиогенез [102].

Функции

Киназы семейства VEGFR играют ключевую роль в ангиогенезе на ранних стадиях развития организма. Нокаут VEGFR2 приводит к гибели эмбриона мыши из-за отсутствия роста эндотелиальных клеток и образования новых сосудов, а также из-за очень слабо выраженного гемопоэза, в то время как нокаут VEGFR1 эмбрионально летален из-за избыточного роста эндотелиальных клеток и дезорганизации кровеносных сосудов [103].

Высокая выраженность ангиогенеза в солидных опухолях привела к активному использованию ингибиторов VEGFR при онкологических заболеваниях. Несмотря на значительную эффективность данного вида воздействия, он имеет охарактеризованные и связанные с механизмом действия побочные эффекты. Доклинические исследования показали, что систематическое введение ингибиторов VEGFR здоровым лабораторным мышам приводит к быстрому сокращению числа капилляров в различных органах (легких, поджелудочной железе, щитовидной железе и трахее), а также гибели эндотелиальных клеток [104].

Наиболее распространенным побочным эффектом ингибиторов VEGFR является гипертензия, вызванная снижением активности нижестоящей мишени VEGFR — eNOS и, как следствие, уменьшением выработки вазодилатора NO и сужением сосудов. Снижение числа капилляров и гибель гломерулярных эндотелиальных клеток приводят к протеинурии, которая также часто наблюдается при применении анти-VEGF-терапии. К другим побочным эффектам, связанным с данным видом лечения, относятся перфорация стенки кишки, кровотечения и тромбозы, а также нарушения деятельности сердца и щитовидной железы [104].

Детальный анализ побочных эффектов ингибиторов киназ [105] показал, что ингибиторы ангиогенеза вызывают нарушения в работе сердечно-сосудистой системы, включая гипертензию, удлинение интервала QT (прямая связь с воздействием на белки калиевых ионных каналов hERG не установлена, однако, по данным применения ингибиторов VEGFR, этот эффект отмечен), тромбозы и кровотечения, нейтропению и тромбоцитопению, гипофосфатемия, а также повышение уровня липазы.

Активность ингибиторов Abl в отношении VEGFR

Среди клинических ингибиторов Abl все киназы семейства VEGFR эффективно ингибируются понатинибом (IC₅₀ < 100 нмоль/л) (см. табл. 2). К побочным эффектам понатиниба, потенциально связанным с ингибированием VEGFR, относятся гипертензия (III–IV степени у 2% пациентов), геморрагии/кровотечения (5%), тромбозы (8%), сердечная недостаточность (4%), панкреатит (6%), миелосупрессия (48%) [52], протеинурия (33%) [38].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время при ХМЛ применяются препараты 1-го (иматиниб) и 2-го поколений (дазатиниб, нилотиниб, босутиниб), а также единственный зарегистрированный за рубежом препарат 3-го поколения — понатиниб, эффективный в отношении мутантной формы Bcr-Abl T315I. Стимулом к разработке препаратов, следующих за иматинибом, была все возрастающая потребность в преодолении резистентности, вызванной вторичными мутациями Bcr-Abl. Однако наряду с повышением эффективности нельзя не отметить общую тенденцию к снижению селективности (избирательности) при переходе от препаратов 1-го поколения к препаратам 2-го и 3-го поколений (см. рис. 1 и табл. 2), что в целом отражается на изменении профиля безопасности лекарственных средств. Так, например, недавно было прекращено клиническое исследование EPIC (NCT01650805) III фазы по сравнению понатиниба и иматиниба у пациентов с впервые выявленным Ph+ ХМЛ из-за высокого риска артериальных тромбозов (до 12%) и других сердечно-сосудистых осложнений в группе понатиниба. Одной из причин этого спектра нежелательных эффектов понатиниба может быть, согласно данным настоящего обзора, чрезмерное ингибирование киназ семейства VEGFR, TIE2, RYK2. Тем не менее нельзя исключить влияние нецелевого ингибирования и других киназ, вовлеченность которых в развитие нежелательных побочных эффектов еще не изучена.

Стремление найти баланс между эффективностью и селективностью терапии у больных ХМЛ отражено в современных рекомендациях, в которых учтена возможность выбора лечения в соответствии с мутационным статусом, а также принят во внимание профиль токсичности применяемых в клинической практике ингибиторов тирозинкиназ [4, 106].

Разработка новых препаратов для лечения ХМЛ ведется и в настоящее время. Среди клинически исследуемых ингибиторов Bcr-Abl можно отметить соединения DCC-2036 [22] и данусертиб [24]. Согласно данным доклинических исследований, указанные ингибиторы эффективны в отношении мутантной формы Bcr-Abl T315I, обуславливающей резистентность к препаратам второй линии более чем в 50% наблюдений [107], и более селективны, чем понатиниб. Повышенной селективностью в сравнении с понатинибом и дазатинибом обладает также отечественный ингибитор PF-114 [26], способный ингибировать мутантную форму T315I и находящийся в настоящее время на стадии доклинических исследований. Высокая избирательность действия этих соединений вместе с их эффективностью при резистентности к ИТК2 позволяет надеяться, что в скором времени среди препаратов третьей линии терапии ХМЛ появятся новые, обладающие улучшенным профилем безопасности лекарственные средства.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие скрытых конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Chartier M., Chenard T., Barker J. et al. Kinome Render: a stand-alone and web-accessible tool to annotate the human protein kinome tree. *Peer J.* 2013; 1: e126.

2. Soverini S., Hochhaus A., Nicolini F.E. et al. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood* 2011; 118(5): 1208–15.

3. Кудев С.И., Вельченко М.В. Значение анализа мутаций гена BCR-ABL в оптимизации таргетной терапии хронического миелолейкоза. *Клин. онкогематол.* 2008; 1(3): 190–9.

[Kutsev S.I., Velchenko M.V. Significance of analysis of BCR-ABL gene mutations in optimization of target therapy for chronic myeloid leukemia. *Klin. onkogematol.* 2008; 1(3): 190–9. (In Russ.).]

4. Чельшева Е.Ю., Шухов О.А., Лазарева О.В. и др. Мутации гена BCR-ABL при хроническом миелолейкозе. *Клин. онкогематол.* 2012; 5(1): 13–21.

[Chelysheva Ye.Yu., Shukhov O.A., Lazareva O.V. et al. BCR-ABL gene mutations in chronic myeloid leukemia. *Klin. onkogematol.* 2012; 5(1): 13–21. (In Russ.).]

5. Lombardo L.J., Lee F.Y., Chen P. et al. Discovery of N-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-(6-(4-(2-hydroxyethyl)-piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-ylamino)thiazole-5-carboxamide (BMS-354825), a dual Src/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. *J. Med. Chem* 2004; 47(27): 6658–61.

6. Weisberg E., Manley P.W., Breitenstein W. et al. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell* 2005; 7(2): 129–41.

7. Golaz J.M., Arndt K., Etienne C. et al. SKI-606, a 4-anilino-3-quinoline carbonitrile dual inhibitor of Src and Abl kinases, is a potent antiproliferative agent against chronic myelogenous leukemia cells in culture and causes regression of K562 xenografts in nude mice. *Cancer Res* 2003; 63(2): 375–81.

8. O'Hare T., Shakespeare W.C., Zhu X. et al. AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer Cell* 2009; 16(5): 401–12.

9. Mian A.A., Badura S., Rafiei A. et al. PF-114, a novel selective pan-Bcr/Abl inhibitor for Philadelphia chromosome positive (Ph+) leukemia, effectively targets T315I and the other resistance mutants. *European Hematologic Association, Stockholm, Sweden, June 13–16, 2013: S1177.*

10. Anastassiadis T., Deacon S.W., Devarajan K. et al. Comprehensive assay of kinase catalytic activity reveals features of kinase inhibitor selectivity. *Nat. Biotechnol.* 2011; 29(11): 1039–45.

11. Saglio G., Kim D.W., Issaragrisil S. et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362(24): 2251–9.

12. Kantarjian H., Shah N.P., Hochhaus A. et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362(24): 2260–70.

13. Davis M.J., Hunt J.P., Herrgard S. et al. Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity. *Nat. Biotechnol.* 2011; 29(11): 1046–51.

14. Martins D.H., Wagner S.C., Dos Santos T.V. et al. Monitoring imatinib plasma concentrations in chronic myeloid leukemia. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2011; 33(4): 302–6.

15. Demetri G.D., Lo Russo P., MacPherson I.R. et al. Phase I dose-escalation and pharmacokinetic study of dasatinib in patients with advanced solid tumors. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15(19): 6232–40.

16. Manley P.W., Drucekes P., Fendrich G. et al. Extended kinase profile and properties of the protein kinase inhibitor nilotinib. *Biochem. Biophys. Acta* 2010; 1804(3): 445–53.

17. Bradeen H.A., Eide C.A., O'Hare T. et al. Comparison of imatinib mesylate, dasatinib (BMS-354825), and nilotinib (AMN107) in an N-ethyl-N-nitrosourea (ENU)-based mutagenesis screen: high efficacy of drug combinations. *Blood* 2006; 108(7): 2332–8.

18. Remsing Rix L.L., Rix U., Colinge J. et al. Global target profile of the kinase inhibitor bosutinib in primary chronic myeloid leukemia cells. *Leukemia* 2009; 23(3): 477–85.

19. Cortes J.E., Kantarjian H.M., Brummendorf T.H. et al. Safety and efficacy of bosutinib (SKI-606) in chronic phase Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia patients with resistance or intolerance to imatinib. *Blood* 2011; 118(17): 4567–76.

20. Schrock A.B., Gozgit J.M., Rivera V. The pan-BCR-ABL inhibitor ponatinib inhibits viability of gatekeeper mutant BCR-ABL T315I cells with greater potency than a nilotinib/MEK inhibitor combination. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18: Abstract B15.

21. Sonnichsen D., Dorer D.J., Cortes J. et al. Analysis of the potential effect of ponatinib on the Qtc interval in patients with refractory hematological malignancies. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2013; 71(6): 1599–607.

22. Chan W.W., Wise S.C., Kaufman M.D. et al. Conformational control inhibition of the BCR-ABL1 tyrosine kinase, including the gatekeeper T315I mutant, by the switch-control inhibitor DCC-2036. *Cancer Cell* 2011; 19(4): 556–68.

23. Fiskus W., Smith C.C., Smith J. et al. Activity of Allosteric, Switch-Pocket, ABL/FLT3 Kinase Inhibitor DCC2036 Against Cultured and Primary AML Progenitors with FLT-ITD or FLT3 Kinase Domain Mutations. 53rd ASH Annual Meeting and Exposition, 2011.

24. Fancelli D., Moll J., Varasi M. et al. 1,4,5,6-tetrahydropyrido[3,4-c]pyrazoles: identification of a potent Aurora kinase inhibitor with a favorable antitumor kinase inhibition profile. *J. Med. Chem.* 2006; 49(24): 7247–51.

25. Steeghs N., Eskens F.A., Gelderblom H. et al. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the aurora kinase inhibitor danusertib in pa-

- tients with advanced or metastatic solid tumors. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(30): 5094–101.
26. *Ruthardt M.* PF-114, a novel selective PAN BCR/ABL inhibitor for Philadelphia chromosome-positive (Ph+) leukemia, effectively targets T315I and other resistance mutant. 15th International Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy, 2013.
 27. Uniprot for BRAF. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/P15056>.
 28. *Davies H., Bignell G.R., Cox C. et al.* Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417(6892): 949–54.
 29. *Pratilas C.A., Xing F., Solit D.B.* Targeting oncogenic BRAF in human cancer. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 2012; 355: 83–98.
 30. *Roskoski R.Jr.* RAF protein-serine/threonine kinases: structure and regulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010; 399(3): 313–7.
 31. *Chang F., Steelman L.S., Lee J.T. et al.* Signal transduction mediated by the Ras/Raf/MEK/ERK pathway from cytokine receptors to transcription factors: potential targeting for therapeutic intervention. *Leukemia* 2003; 17(7): 1263–93.
 32. *Wellbrock C., Karasarides M., Marais R.* The RAF proteins take centre stage. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2004; 5(11): 875–85.
 33. *Freeman A.K., Ritt D.A., Morrison D.K.* Effects of Raf dimerization and its inhibition on normal and disease-associated Raf signaling. *Mol. Cell* 2013; 49(4): 751–8.
 34. *Sabbatino F., Wang Y., Wang X. et al.* Emerging BRAF inhibitors for melanoma. *Exp. Opin. Emerg. Drugs* 2013; 18(4): 431–43.
 35. *Boussemer L., Routier E., Mateus C. et al.* Prospective study of cutaneous side-effects associated with the BRAF inhibitor vemurafenib: a study of 42 patients. *Ann. Oncol.* 2013; 24(6): 1691–7.
 36. *Huang V., Hepper D., Anadkat M. et al.* Cutaneous toxic effects associated with vemurafenib and inhibition of the BRAF pathway. *Arch. Dermatol.* 2012; 148(5): 628–33.
 37. *Hey F., Pritchard C.* A new mode of RAF autoregulation: a further complication in the inhibitor paradox. *Cancer Cell* 2013; 23(5): 561–3.
 38. FDA, Risk Assessment And Risk Mitigation Review(S) for Iclusig (ponatinib), 2012.
 39. *Drucker A.M., Wu S., Busam K.J. et al.* Rash with the multitargeted kinase inhibitors nilotinib and dasatinib: meta-analysis and clinical characterization. *Eur. J. Haematol.* 2013; 90(2): 142–50.
 40. Uniprot for c-FMS. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/P07333>.
 41. *Bourette R.P., Rohrschneider L.R.* Early events in M-CSF receptor signaling. *Growth Factors* 2000; 17(3): 155–66.
 42. *Zaidi M.* Skeletal remodeling in health and disease. *Nat. Med.* 2007; 13(7): 791–801.
 43. *Kimura K., Kitaura H., Fujii T. et al.* An anti-c-Fms antibody inhibits osteoclastogenesis in a mouse periodontitis model. *Oral Dis.* 2013 [Epub ahead of print].
 44. *Nurmio M., Joki H., Kallio J. et al.* Receptor tyrosine kinase inhibition causes simultaneous bone loss and excess bone formation within growing bone in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2011; 254(3): 267–79.
 45. *Hamilton J.A.* Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8(7): 533–44.
 46. *Paniagua R.T., Chang A., Mariano M.M. et al.* c-Fms-mediated differentiation and priming of monocyte lineage cells play a central role in autoimmune arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2010; 12(1): R32.
 47. *Lim A.K., Ma F.Y., Nikolic-Paterson D.J. et al.* Antibody blockade of c-fms suppresses the progression of inflammation and injury in early diabetic nephropathy in obese db/db mice. *Diabetologia* 2009; 52(8): 1669–79.
 48. *Baay M., Brouwer A., Pauwels P. et al.* Tumor Cells and Tumor-Associated Macrophages: Secreted Proteins as Potential Targets for Therapy. *Clin. Dev. Immunol.* 2011; 2011: 12.
 49. *Ovadia S., Insogna K., Yao G.Q.* The cell-surface isoform of colony stimulating factor 1 (CSF1) restores but does not completely normalize fecundity in CSF1-deficient mice. *Biol. Reprod.* 2006; 74(2): 331–6.
 50. *Salmassi A., Mettler L., Jonat W. et al.* Circulating level of macrophage colony-stimulating factor can be predictive for human in vitro fertilization outcome. *Fertil. Steril.* 2010; 93(1): 116–23.
 51. *Narayanan K.R., Bansal D., Walla R. et al.* Growth failure in children with chronic myeloid leukemia receiving imatinib is due to disruption of GH/IGF-1 axis. *Pediatr. Blood Cancer* 2013; 60(7): 1148–53.
 52. Iclusig (ponatinib) prescribing information.
 53. Bosulif (Bosutinib) prescribing information.
 54. Uniprot for EGFR. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/P00533>.
 55. *Hynes N.E., Lane H.A.* ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat. Rev. Cancer* 2005; 5(5): 341–54.
 56. *Reuter C.W., Morgan M.A., Eckardt A.* Targeting EGF-receptor-signalling in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Br. J. Cancer* 2007; 96(3): 408–16.
 57. *Lenz H.J.* Anti-EGFR mechanism of action: antitumor effect and underlying cause of adverse events. *Oncology (Williston Park)* 2006; 20(5 Suppl. 2): 5–13.
 58. *Perez-Soler R.* Can rash associated with HER1/EGFR inhibition be used as a marker of treatment outcome? *Oncology (Williston Park)* 2003; 17(11 Suppl. 12): 23–8.
 59. *Murillas R., Larcher F., Conti C.J. et al.* Expression of a dominant negative mutant of epidermal growth factor receptor in the epidermis of transgenic mice elicits striking alterations in hair follicle development and skin structure. *EMBO J.* 1995; 14(21): 5216–23.
 60. *Yano S., Kondo K., Yamaguchi M. et al.* Distribution and function of EGFR in human tissue and the effect of EGFR tyrosine kinase inhibition. *Anticancer Res.* 2003; 23(5A): 3639–50.
 61. *Lee Y., Shim H.S., Park M.S. et al.* High EGFR gene copy number and skin rash as predictive markers for EGFR tyrosine kinase inhibitors in patients with advanced squamous cell lung carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18(6): 1760–8.
 62. *Perez-Soler R., Delord J.P., Halpern A. et al.* HER1/EGFR inhibitor-associated rash: future directions for management and investigation outcomes from the HER1/EGFR inhibitor rash management forum. *Oncologist* 2005; 10(5): 345–56.
 63. *Takeda K., Hida T., Sato T. et al.* Randomized phase III trial of platinum-doublet chemotherapy followed by gefitinib compared with continued platinum-doublet chemotherapy in Japanese patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a west Japan thoracic oncology group trial (WJTOG0203). *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(5): 753–60.
 64. Erlotinib(Iressa) prescribing information.
 65. Sprycel (dasatinib) prescribing information.
 66. Uniprot for PDGFRA. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/P16234>.
 67. Uniprot for PDGFRB. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/P09619>.
 68. *Hoch R.V., Soriano P.* Roles of PDGF in animal development. *Development* 2003; 130(20): 4769–84.
 69. *Shim A.H., Liu H., Focia P.J. et al.* Structures of a platelet-derived growth factor/propeptide complex and a platelet-derived growth factor/receptor complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2010; 107(25): 11307–12.
 70. *Andrae J., Gallini R., Betsholtz C.* Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev.* 2008; 22(10): 1276–312.
 71. *Eckhardt S.G., Rizzo J., Sweeney K.R. et al.* Phase I and pharmacologic study of the tyrosine kinase inhibitor SU101 in patients with advanced solid tumors. *J. Clin. Oncol.* 1999; 17(4): 1095–104.
 72. *Kuonen B.C., Giaccone G., Ruyter R. et al.* Dose-finding study of the multitargeted tyrosine kinase inhibitor SU6668 in patients with advanced malignancies. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11(17): 6240–6.
 73. *Jayson G.C., Parker G.J., Mullanitha S. et al.* Blockade of platelet-derived growth factor receptor-beta by CDP860, a humanized, PEGylated di-Fab', leads to fluid accumulation and is associated with increased tumor vascularized volume. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23(5): 973–81.
 74. *Kelly K., Swords R., Mahalingam D. et al.* Serosal inflammation (pleural and pericardial effusions) related to tyrosine kinase inhibitors. *Target Oncol.* 2009; 4(2): 99–105.
 75. *Berman E., Nicolaidis M., Maki R.G. et al.* Altered bone and mineral metabolism in patients receiving imatinib mesylate. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354(19): 2006–13.
 76. *O'Sullivan S., Naot D., Callon K. et al.* Imatinib promotes osteoblast differentiation by inhibiting PDGFR signaling and inhibits osteoclastogenesis by both direct and stromal cell-dependent mechanisms. *J. Bone Miner. Res.* 2007; 22(11): 1679–89.
 77. Tasigna (nilotinib) prescribing information.
 78. Uniprot for PYK2. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q14289>.
 79. *Lipinski C.A., Loftus J.C.* Targeting Pyk2 for therapeutic intervention. *Exp. Opin. Ther. Targets* 2010; 14(1): 95–108.
 80. *Raja S., Avraham S., Avraham H.* Tyrosine phosphorylation of the novel protein-tyrosine kinase RAFTK during an early phase of platelet activation by an integrin glycoprotein IIb-IIIa-independent mechanism. *J. Biol. Chem.* 1997; 272(16): 10941–7.
 81. *Ohmori T., Yatomi Y., Asazuma N. et al.* Involvement of proline-rich tyrosine kinase 2 in platelet activation: tyrosine phosphorylation mostly dependent on alphaIIb beta3 integrin and protein kinase C, translocation to the cytoskeleton and association with Shc through Grb2. *Biochem. J.* 2000; 347(Pt. 2): 561–9.
 82. *Canobbio I., Cipolla L., Consonni A. et al.* Impaired thrombin-induced platelet activation and thrombus formation in mice lacking the Ca(2+)-dependent tyrosine kinase Pyk2. *Blood* 2013; 121(4): 648–57.
 83. *Okigaki M., Davis C., Falasca M. et al.* Pyk2 regulates multiple signaling events crucial for macrophage morphology and migration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2003; 100(19): 10740–5.
 84. *Kamen L.A., Schlessinger J., Lowell C.A.* Pyk2 is required for neutrophil degranulation and host defense responses to bacterial infection. *J. Immunol.* 2011; 186(3): 1656–65.
 85. *Gil-Henn H., Destaing O., Sims N.A. et al.* Defective microtubule-dependent cytosome organization in osteoclasts leads to increased bone density in Pyk2(-/-) mice. *J. Cell Biol.* 2007; 178(6): 1053–64.
 86. *Buckbinder L., Crawford D.T., Qi H. et al.* Proline-rich tyrosine kinase 2 regulates osteoprogenitor cells and bone formation, and offers an anabolic treatment approach for osteoporosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2007; 104(25): 10619–24.
 87. *Eleniste P.P., Bruzzaniti A.* Focal adhesion kinases in adhesion structures and disease. *J. Signal Transduct.* 2012; 2012: 296450.
 88. Uniprot for Angiotensin-1 receptor. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q02763>.
 89. *Barton W.A., Tzvetkova-Robev D., Miranda E.P. et al.* Crystal structures of the Tie2 receptor ectodomain and the angiotensin-2-Tie2 complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2006; 13(6): 524–32.

90. Huang H., Bhat A., Woodnutt G. et al. Targeting the ANGPT-TIE2 pathway in malignancy. *Nat. Rev. Cancer* 2010; 10(8): 575–85.
91. Sato T.N., Tozawa Y., Deutsch U. et al. Distinct roles of the receptor tyrosine kinases Tie-1 and Tie-2 in blood vessel formation. *Nature* 1995; 376(6535): 70–4.
92. Jones N., Voskas D., Master Z. et al. Rescue of the early vascular defects in Tek/Tie2 null mice reveals an essential survival function. *EMBO Rep.* 2001; 2(5): 438–45.
93. Peters K.G., Kontos C.D., Lin P.C. et al. Functional significance of Tie2 signaling in the adult vasculature. *Rec. Prog. Horm. Res.* 2004; 59: 51–71.
94. Fukuhara S., Sako K., Noda K. et al. Angiopoietin-1/Tie2 receptor signaling in vascular quiescence and angiogenesis. *Histol. Histopathol.* 2010; 25(3): 387–96.
95. Elice F., Rodeghiero F. Side effects of anti-angiogenic drugs. *Thromb. Res.* 2012; 129(Suppl. 1): S50–3.
96. Aichberger K.J., Herndlhofer S., Scherthaner G.H. et al. Progressive peripheral arterial occlusive disease and other vascular events during nilotinib therapy in CML. *Am. J. Hematol.* 2011; 86(7): 533–9.
97. Uniprot for VEGFR1. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/P17948>.
98. Uniprot for VEGFR2. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/P35968>.
99. Uniprot for VEGFR3. Available from: <http://www.uniprot.org/uniprot/P35916>.
100. Leppanen V.M., Tvorogov D., Kisko K. et al. Structural and mechanistic insights into VEGF receptor 3 ligand binding and activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2013; 110(32): 12960–5.
101. Stüttfeld E., Ballmer-Hofer K. Structure and function of VEGF receptors. *IUBMB Life* 2009; 61(9): 915–22.
102. Olsson A.K., Dimberg A., Kreuger J. et al. VEGF receptor signalling — in control of vascular function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006; 7(5): 359–71.
103. Takahashi H., Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin. Sci. (London)* 2005; 109(3): 227–41.
104. Kamba T., McDonald D.M. Mechanisms of adverse effects of anti-VEGF therapy for cancer. *Br. J. Cancer* 2007; 96(12): 1788–95.
105. Dy G.K., Adjei A.A. Understanding, recognizing, and managing toxicities of targeted anticancer therapies. *CA Cancer J. Clin.* 2013; 63(4): 249–79.
106. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* 2013; 122(6): 872–84.
107. Soverini S., Colarossi S., Gnani A. et al. Resistance to dasatinib in Philadelphia-positive leukemia patients and the presence or the selection of mutations at residues 315 and 317 in the BCR-ABL kinase domain. *Haematologica* 2007; 92(3): 401–4.
108. Гусарова Г.А., Туркина А.Г., Колошейнова Т.И. и др. Клинические аспекты применения нилотиниба при лечении больных хроническим миелолейкозом в хронической фазе. *Гематол. и трансфузиол.* 2012; 4: 3–11.
- [Gusarova G.A., Turkina A.G., Kolosheynova T.I. et al. Clinical aspects of nilotinib administration in management of patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. *Gematol. i transfuziol.* 2012; 4: 3–11. (In Russ.)].
109. Лазарева О.В., Костина И.Э., Туркина А.Г. Лекарственно-индуцированный пневмонит: редкое осложнение терапии иматиниба мезилатом у больных хроническим миелолейкозом. *Клин. онкогематол.* 2010; 3(1): 47–52.
- [Lazareva O.V., Kostina I.Ye., Turkina A.G. Drug-induced pneumonitis: rare complication of imatinib mesylate therapy in patients with chronic myeloid leukemia. *Klin. onkogematol.* 2010; 3(1): 47–52. (In Russ.)].
110. Виноградова О.Ю., Туркина А.Г., Воронцова А.В. и др. Применение дазатиниба у больных в хронической стадии хронического миелолейкоза, резистентных либо не переносящих терапию иматинибом. *Тер. арх.* 2009; 7: 41–6.
- [Vinogradova O.Yu., Turkina A.G., Vorontsova A.V. et al. Dasatinib administration to patients with chronic phase of chronic myeloid leukemia, who are resistant or intolerant to dasatinib. *Ter. arkh.* 2009; 7: 41–6. (In Russ.)].

А.А. Зейфман — кандидат химических наук, ведущий инженер, старший специалист.

Е.Ю. Чельшева — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-консультативного отделения химиотерапии миелопрлиферативных заболеваний.

А.Г. Туркина — доктор медицинских наук, профессор, руководитель научно-консультативного отделения химиотерапии миелопрлиферативных заболеваний.

Г.Г. Чиллов — кандидат химических наук, научный сотрудник, генеральный директор.

Адрес для переписки: Г.Г. Чиллов, 119991, Ленинский просп., д. 47, Москва, Российская Федерация или 119530, ул. Генерала Дорохова, д. 18/2, Москва, Российская Федерация, e-mail: ghermes@ruspharmtech.ru

