

ФГУ «НИИ онкологии
им. Н.Н.Петрова
Росмедтехнологий»
Санкт-Петербург

ПОИСКИ ПУТЕЙ ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

С.А. Проценко

Необходимо стремление исследователей к поиску путей индивидуализации лечения, основанных на понимании механизмов ангиогенеза, апоптоза, канцерогенеза и идентификации прогностических молекулярно-биологических маркеров

За последние два десятилетия произошел несомненный прогресс в клинической онкологии. С появлением новых противоопухолевых препаратов с принципиально иными механизмами действия расширился контингент больных, получающих специфическую терапию, улучшилось качество их жизни, а по некоторым нозологическим формам увеличилась ее продолжительность. Так, при метастатическом раке ободочной кишки медиана продолжительности жизни с 6 месяцев в 80-годы возросла до 20 месяцев в 2000-х годах [17].

Однако, несмотря на имеющиеся успехи, смертность от злокачественных новообразований за последние годы остается высокой и не имеет тенденции к снижению. Большинство онкологических больных нуждаются в проведении лекарственной терапии.

К сожалению, современная противоопухолевая терапия имеет ряд существенных недостатков, одним из которых является *эмпирический характер* ее назначения. На сегодняшний день отсутствуют абсолютные признаки чувствительности, резистентности опухоли к цитостатикам. Назначение противоопухолевой терапии основывается на основных фенотипических характеристиках, таких как: локализация первичной опухоли, гистологический тип и степень ее дифференцировки, общее состояние больного, характер распространения опухолевого процесса и т.д. [21]. Определение тактики после проведенной радикальной операции, а также при диссеминации опухолевого процесса, несомненно, осложняется *отсутствием надежных прогностических факторов эффективности и токсичности лечения*. Так, назначение адьювантной химиотерапии при колоректальном раке основывается на наличии поражения регионарных лимфоузлов и значении уровня раковоэмбрионального антигена. Однако известно, что у половины больных, радикально прооперированных по поводу колоректального рака, в течение первых 5-10 лет выявляются отдаленные метастазы [42]. Проводить или не проводить химиотерапию больным без метастазов в регионарных лимфоузлах (стадия Dukes B)? Вопрос дискуссионный. В таких случаях для определения лечебной тактики может быть полезным знание прогностических молекулярных маркеров.

К существенным недостаткам противоопухолевой терапии следует отнести и *ограниченную эффективность цитостатиков*; диапазон их активности колеблется от 20 до 80%. Максимальная эффективность наблюдается у ограниченной группы препаратов, таких как таксаны, производные платины, таргетные препараты. При этом частота побочных явлений, нередко угрожающих жизни больного, остается достаточно высокой. Знание молекулярно-генетической характеристики пациента позволило бы индивидуализировать дозу препарата и уменьшить риск появления токсических реакций.

Еще одним немаловажным недостатком противоопухолевой терапии является высокая стоимость препаратов. Стоимость курса лечения современными препаратами достигает десятков тысяч долларов в месяц. Ожидается, что разработка маркеров химиочувствительности новообразований поможет уменьшить затраты на терапию за счет более обоснованного использования дорогостоящих лекарств [21].

Принимая во внимание вышеизложенное, становится понятным стремление исследователей к поиску путей индивидуализации лечения, основанных на понимании механизмов ангиогенеза, апоптоза, канцерогенеза и идентификации прогностических молекулярно-биологических маркеров.

Молекулярно-биологические маркеры, как прогностические факторы, условно можно разделить на две большие группы:

- токсичности лечения (DPD для фторпиримидинов, UGT1A1 для иринотекана)
- эффективности лечения (стандартные: рецепторы стероидных гормонов, HER2, CD20, C kit и экспериментальные).

Прогностические факторы токсичности противоопухолевой терапии

Фторпиримидины. Механизм противоопухолевого действия 5-фторурацила (5-ФУ) связан с угнетением фермента тимидилат-синтетазы (TS). Активный метаболит 5-ФУ, 5-фтор-2'-дезоксифуридин-монофосфат (FdUMP), взаимодействует с TS в присутствии ко-фактора, 5,10-метилен-тетрагидрофолат (CH_2FH_4). [30, 35], образуя тройной комплекс, что в итоге приводит к блокированию *de novo* синтеза дезокситимидинмонофосфата, являющегося одним из предшественников ДНК. В результате этих сложных биохимических процессов прекращается синтез новых молекул ДНК в ядре опухолевой клетки, что приводит к ее гибели (рис. 1).

Разрушение 5-ФУ до уровня фторпиримидиновых нуклеотидов осуществляется в основном в печени под действием фермента дигидропиримидин-дегидрогеназы (DPD), уровень которого обуславливает токсичность 5-ФУ. Нормальная активность DPD наблюдается у 95% населения, у 3-5% - функция DPD снижена, а у 0,1% отсутствует полностью. Полный дефицит DPD может быть ассоциирован с церебральной дисфункцией. Пониженная активность DPD не сопровождается какими-либо клиническими проявлениями; однако, при лечении 5-ФУ подобные пациенты могут испытывать тяжелейшие токсические реакции [12]. Многие, хотя далеко не все, случаи дефицита DPD объясняются инактивирующей мутацией в соответствующем гене. К сожалению, мутации DPD могут располагаться в любой части гена, поэтому для проведения молекулярного анализа требуется полное секвенирование гена [52]. Несмотря на то, что применение стандартных дозировок

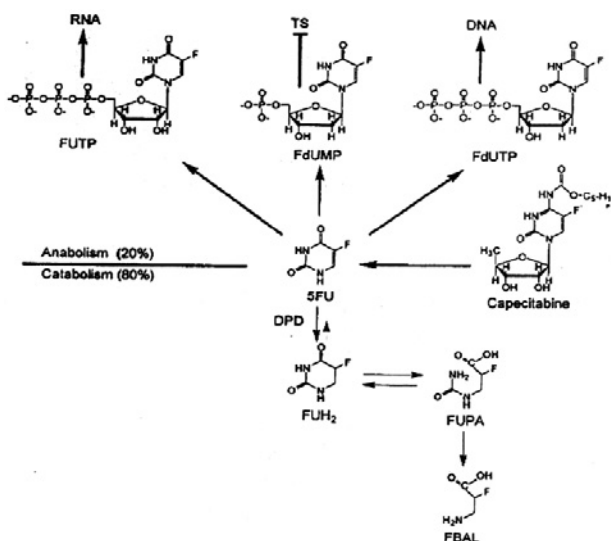


Рис. 1. Метаболизм 5-фторурацила

5-ФУ при врожденном дефекте DPD может привести к летальному исходу, рутинный скрининг подобных аномалий пока не включён в стандарты клинической онкологии. Единственным фактором, ограничивающим внедрение данного молекулярного теста, является высокая стоимость секвенирования ДНК [21].

Иринотекан (кампто CPT-11). Иринотекан представляет собой полусинтетический аналог растительного алкалоида камптотецина. В основе механизма противоопухолевого действия иринотекана лежит его способность блокировать фермент топоизомеразу I, которая участвует в процессе репликации и транскрипции ДНК, разворачивая для этого на время двухнитевую спираль ДНК. Связываясь с топоизомеразой I, иринотекан стабилизирует ДНК в развернутом состоянии, что приводит к ее разрывам. В печени иринотекан превращается в активный метаболит 7-этил-10-гидроксикамптотецина (SN-38), обладающий в 1000 раз большим сродством к ферменту, чем сам иринотекан. SN-38 выделяется с желчью и, всасываясь из кишечника обратно в кровь, также «работает» как ингибитор топоизомеразы. Физиологическая инактивация SN-38 осуществляется посредством глюкуронидации, выполняемой ферментом уридин-дифосфат-глюкуронозил-трансферазой 1A1 (UGT1A1) [22]. Один из полиморфизмов фермента UGT1A1 заключается в вариации количества ТА повторов в промоторной области гена. Большинство людей гомозиготны по аллелю (ТА)₆, ассоциированному с нормальной экспрессией UGT1A1. Некоторые индивидуумы гетеро- или гомозиготны по варианту (ТА)₇ (UGT1A1*28), который характеризуется сниженной транскрипцией гена (5-20% людей) [7]. В то время как аллель UGT1A1*28 характерен преимущественно для представителей белой расы, у азиатов низкоактивный вариант UGT1A1 связан с полиморфизмом G211A (Gly71Arg) [23].

Большинство исследователей сходятся на том, что присутствие вариантных аллелей гена UGT1A1 сопряжено с повышенной токсичностью иринотекана [38]. Воспроизводимость подобных наблюдений привела к тому, что тест на полиморфизм UGT1A1 получил поддержку FDA. Для пациентов, которые гомозиготны по аллелю UGT1A1*28, рекомендуется снижение стартовой дозировки препарата. В то же время, многие специалисты обсуждают целесообразность увеличения дозы иринотекана у носителей нормального генотипа UGT1A1 [38, 51,21]. Выявление аллеля UGT1A1*28 возможно с помощью ПЦР-теста в специализированном учреждении.

Прогностические факторы эффективности противоопухолевой терапии

следует разделить на две группы: стандартные и экспериментальные.

К *стандартным* относятся наиболее изученные на сегодняшний день рецепторы стероидных гормонов (эстрогенов и прогестеронов), рецепторы эпидермального фактора роста HER-2, CD20, C-kit.

Экспериментальные маркеры эффективности противоопухолевой терапии представлены следующей группой: мутации EGFR, экспрессия ERCC1, DPD, TS, TP (тимидинфосфорилазы), β -тубулина, микросателлитная нестабильность.

Стандартные прогностические факторы эффективности противоопухолевой терапии

Статус гормональных рецепторов при раке молочной железы. Как и для многих таргетных препаратов назначение гормонотерапии при раке молочной железы (РМЖ) допустимо только при наличии мишени в опухолевой ткани: эстрогеновых (ER) и прогестероновых рецепторов (PR). Многолетний опыт показывает, что наибольшая эффективность антиэстрогеновой терапии наблюдается, если опухоль экспрессирует и ER, и PR [28]. Однако известно, что до 15% ER-позитивных опухолей молочной железы не отвечают на лечение тамоксифеном, а наоборот при приеме препарата отмечается бурный рост опухоли. Благодаря достижениям современной фармакогенетики доказано, что помимо статуса мишени как таковой, ответ на лечение препаратами может опосредоваться другими молекулярными характеристиками опухоли. Так, гиперэкспрессия онкогена HER-2 ассоциирована с пониженным эффектом антиэстрогеновой терапии даже в случае ER(+)/PR(+) РМЖ [11].

G. Arpino с соавторами в 2004 году опубликовали результаты широкомасштабного анализа клинико-биологических особенностей опухолей и эффективности адъювантной гормонотерапии тамоксифеном у 40 тысяч больных РМЖ, положительных по эстрогеновым рецепторам (ER+) и отрицательных по рецепторам прогестерона (PR-). Результаты исследования подтвердили опубликованные ранее сообщения, что опухоли с ER(+) PR(-) характеризуются частой гиперэкспрессией HER-2 и низкой чувствительностью к тамоксифену [5].

На материале восьми адъювантных исследований группы FASG доказано, что отсутствие PR наряду с пременопаузальным статусом является независимым прогностическим фактором повышенного риска развития контралатерального РМЖ. Такие больные нуждаются в тщательном маммографическом скрининге [43, 2].

Исследование K. Jirstrom с соавт. (2005) стало впечатляющим примером индивидуальных различий в ответе на таргетную терапию в зависимости от статуса молекул-модификаторов. Доказано, что негативный эффект тамоксифена на течение РМЖ строго коррелирует с присутствием амплификации онкогена *cyclin D1*. Данное открытие может привести к коренному пересмотру стандартов назначения тамоксифена. Не вызывает сомнения, что больные с увеличенной копийностью гена *cyclin D1* должны либо получать в качестве гормональной терапии антиэстрогеновые препараты альтернативного механизма действия (например, ингибиторы ароматазы), либо вовсе воздерживаться от применения антагонистов эстрогенового сигнального каскада [24].

Рецептор эпидермального фактора роста (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR) HER-2/neu играет ключевую роль в процессах клеточного деления, естественной смерти опухолевой клетки, миграции, метастазировании, ангиогенеза. EGFR присутствует в нормальных или избыточных количествах на поверхности опухолевых клеток при РМЖ, немелкоклеточном раке легкого, плоскоклеточном раке головы и шеи, раке желудка, пищевода, предстательной железы, колоректальном раке и др. На сегодняшний день определение уровня экспрессии HER-2/neu при РМЖ является стандартом. Гиперэкспрессия/амплификация HER-2/neu обнаруживается у 20–30% больных РМЖ и является признаком высокоагрессивного течения и плохого прогноза, а также резистентности к лекарственной (химиотерапии, гормонотерапии) и лучевой терапии [1, 3, 37].

Трастузумаб (герцептин) – гуманизированное моноклональное антитело против белковых *трансмембранных рецепторов факторов роста HER-2/neu или c-erbB2*. Целесообразность назначения трастузумаба определяется только на основании повышенной экспрессии рецепторов HER-2/neu на поверхности опухолевой клетки. Для определения экспрессии может использоваться как свежий опухолевый материал, так и парафиновые блоки. Стандартом считается иммуногистохимический метод. Трастузумаб применяется исключительно при условии амплификации и/или гиперэкспрессии онкогена HER-2/neu. В случае умеренной экспрессии (++) рекомендуется проведение молекулярно-генетического теста (FISH), который позволяет выявить амплификацию гена. Назначение трастузумаба показано только при положительном FISH тесте. Обладая небольшой самостоятельной противоопухолевой активностью, трастузумаб показал способность увеличивать выживаемость больных метастатическим раком молочной железы с гиперэкспрессией HER-2/neu. В результате проведенного рандомизированного исследования на 469 больных метастатическим раком молочной железы с гиперэкспрессией HER-2/neu показано, что добавление трастузумаба повышает эффективность химиотерапии [13]. В настоящее время комбинация паклитаксел + трастузумаб рекомендована FDA в качестве химиотерапии I линии метастатического РМЖ с гиперэкспрессией HER-2/neu [21].

CD20 как антиген-мишень. CD20 – трансмембранный поверхностный антиген, который экспрессируется только предшественниками В-клеток и зрелыми В-клетками, и участвует в регуляции роста и дифференцировки В-лимфоцитов [45].

Антиген CD20 обладает рядом свойств, которые делают его привлекательной мишенью для терапии неходжкинских лимфом (НХЛ) моноклональными антителами. CD20 интенсивно экспрессируется более, чем на 95% клеток В-клеточных НХЛ, но отсутствует на поверхности стволовых клеток, нормальных зрелых плазматических клеток и клеток других нормальных тканей. CD20 присутствует на поверхности злокачественных плазматических клеток у 20% больных множественной миеломой, 50% больных

с плазмоклеточным лейкозом и у 75-100% больных с макроглобулинемией Вальденстрема [47].

Ритуксимаб (мабтера) – химерное моноклональное антитело направленного специфического действия против антигена CD20, эффективно снижает число циркулирующих В-клеток. Механизм действия ритуксимаба включает следующие элементы: комплемент-зависимую цитотоксичность, антитело-зависимую клеточную цитотоксичность, индукцию апоптоза. Это первое антитело, зарегистрированное для лечения В-клеточных CD20+ НХЛ. Эффективность ритуксимаба в сочетании с химиотерапией СНОР в качестве первой линии (режим R-СНОР) при В-клеточных CD20+ НХЛ достигает 100%, при резистентной форме заболевания – 50% [50, 53, 10]. Учитывая характер заболевания, высокую чувствительность к противоопухолевой терапии, становится очевидным, насколько важна верификация диагноза НХЛ.

Экспрессия c-kit (CD117). Большинство рецепторов факторов роста представлено тирозинкиназными рецепторами, каждый из которых имеет экстрацеллюлярную часть, ответственную за соединение с фактором роста или другим лигандом, трансмембранную часть и интрацеллюлярную часть, представленную ферментом тирозинкиназой С. Выключение функции рецептора возможно за счет блокирования экстрацеллюлярной части рецептора моноклональными антителами или ингибирования активности тирозинкиназы С. Ингибиторами активности тирозинкиназы С рецепторов EGFR являются такие препараты, как Гефитиниб (иресса) и Эрлотиниб (тарцева). Определение мутации EGFR как фактора чувствительности к гефитинибу носит на сегодняшний день пока экспериментальный характер, что описано ниже. Иматиниб мезилат (Гливек) является селективным ингибитором мутантной тирозинкиназы С трех видов:

- химерного белка BCR-ABL при хроническом миелолейкозе с положительной филадельфийской хромосомой и при остром лимфобластном лейкозе;
- рецепторов c-kit при гастроинтестинальных стромальных опухолях;
- рецептора к фактору роста, выделенных из тромбоцитов (PDGF) – изучается при раке предстательной железы и глиоме [3, 18, 21].

Показаниями к применению Иматиниба мезилата являются: хронический миелолейкоз, гастроинтестиналь-

ные стромальные опухоли (GIST) и зарегистрированная в последние годы дерматофибросаркома протуберанс. Наиболее частой причиной назначения Иматиниба мезилата в онкологической практике является GIST, диагностируемые ранее как лейомиосаркомы, лейомиомы.

GIST- группа опухолей мезенхимальной природы, происходящих из интестициальных клеток Cajal. GIST составляют от 0,1 до 13,9% от всех опухолей желудочно-кишечного тракта (наиболее частая локализация – желудок, тонкая кишка). Диагностируются иммуногистохимическим методом: наличие *экспрессии c-kit (CD117)* на поверхности опухолевой клетки [41]. Повышенная экспрессия c-kit является патогномичным признаком для GIST. В случае CD117 отрицательных опухолей рекомендуется молекулярная диагностика на KIT и PDGF мутации. До недавних пор хирургический метод был основным в лечении стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. Применение химиотерапии и лучевой терапии с адьювантной или лечебной целью малоэффективно. Новые возможности для лечения GIST открылись с появлением препаратов, блокирующих патогенетические механизмы неконтролируемого опухолевого роста. Иматиниб мезилат – единственный препарат, эффективный для лечения больных с GIST [3, 8, 41]. Представленные в 2006 году на ASCO результаты исследований продемонстрировали не только высокую эффективность Иматиниба мезилата, но и значительное улучшение выживаемости больных GIST [8] (табл. 1).

Экспериментальные маркеры эффективности противоопухолевой терапии

Мутации EGFR как маркера чувствительности к ингибиторам тирозинкиназ. Механизм действия Гефитиниба (ирессы) основан на избирательном ингибировании активности тирозинкиназы С рецепторов EGFR, и препарат не обладает ингибирующим эффектом на тирозинкиназу С других рецепторов. Появление Гефитиниба (ирессы) как нового таргетного ингибитора EGFR представлялось решающим событием для лечения немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Данные ожидания основывались на сведениях о частой гиперэкспрессии EGFR при раке легкого [20].

Таблица 1
Результаты лечения Иматинибом мезилатом (Гливек) (Blanke C.D. et al., ASCO, 2006)

Эффективность, выживаемость	Результаты
ПР+ЧР+длительная стабилизация	78-85%
Медиана времени до прогрессирования	18 мес.
1-летняя выживаемость без прогрессирования	73-85%
2-летняя выживаемость без прогрессирования	78%
Медиана выживаемости	около 3 лет

Примечание: ПР – полный регресс, ЧР – частичный регресс

Первые клинические исследования (IDEAL: Iressa Dose Evaluation in Advanced Lung Cancer) эффективности Gefитиниба проведены у больных метастатической формой НМРЛ, резистентных к стандартной химиотерапии. В исследование IDEAL-1 включались больные, получившие, как минимум одну линию химиотерапии (препараты платины), в IDEAL-2 – две линии (производные платины и доцетаксел) [3, 9]. Согласно рандомизации больные получали Gefитиниб по 250 или 500 мг ежедневно до признаков прогрессирования или выраженной токсичности. Результаты исследований оказались обнадеживающими: противоопухолевый эффект продемонстрирован у 9-19% ранее леченных больных НМРЛ при медиане выживаемости максимально 7,9 месяцев (табл. 2).

Преимущества суточной дозы 500мг не выявлено. Положительный субъективный ответ отмечен уже в первые дни приема препарата у 35-40% больных как косвенный признак эффективности Gefитиниба.

Обнадеживающие результаты исследований IDEAL-1 и IDEAL-2 послужили основанием для проведения рандомизированных исследований III фазы INTACT (Iressa Non-Small-Cell Lung Cancer Trial Assessing Combination Treatment). В клинические испытания были включены больные НМРЛ, не получавшие ранее химиотерапию. Gefитиниб применялся в комбинации с цитостатиками: в IDEAL-1 с гемцитабином и цисплатином, в IDEAL-2 – с карбоплатином и паклитакселом. Результаты исследований оказались ошеломляющими: добавление Gefитиниба к проводимой химиотерапии не привело к повышению эффективности и не отличалось от назначения плацебо. Некоторые исследователи объясняли этот факт тем, что при назначении цитостатиков, действие которых направлено на быстро пролиферирующие клетки, не остается точки приложения для Gefитиниба. Другими было высказано предположение о необходимости исследования уровня экспрессии EGFR при назначении Gefитиниба по аналогии с назначением препарата трастузумаб при гиперэкспрессии HER-2/neu. Применение Gefитиниба в клинических испытаниях IDEAL-1 и IDEAL-2 не зависело от уровня экспрессии EGFR.

«Загадка» Gefитиниба была раскрыта в середине 2004г, когда три исследовательских коллектива независимо друг от друга установили, что ответ на применение препарата при НМРЛ ассоциирован с присутствием небольшой интрагенной мутации EGFR в опухолевой ДНК [20].

Частота мутаций EGFR, ассоциированной с высокой чувствительностью опухоли к Gefитинибу, встречается лишь в 10% случаев рака легкого у лиц европейской расы и в 25% у выходцев из стран Азии. Эта закономерность объясняет неожиданные разногласия в результатах первых клинических испытаний, продемонстрировавших заметно лучшую эффективность Gefитиниба в Японии по сравнению с США [34]. Мутации EGFR проявляют выраженную гистологическую специфичность: наблюдаются исключительно в аденокарциномах легкого, особенно в бронхоальвеолярных карциномах. В опухолях других локализаций мутации EGFR практически не обнаруживаются [20].

Выявление мутаций EGFR возможно в условиях клиники, для этого используется метод аллель-специфической ПЦР. В качестве источника ДНК допустимо использовать не только свежееудаленную опухоль, но и архивный гистологический материал. Определение мутаций EGFR, ассоциированных с эффективностью Gefитиниба, осуществляется в НИИ онкологии им. проф. Н.Н.Петрова в течение последних двух лет и подтвердило ранее установленные закономерности. К настоящему времени в НИИ онкологии им. проф. Н.Н.Петрова проведен молекулярно-генетический анализ на предмет наличия мутации EGFR у 92 пациентов с НМРЛ, преимущественно с аденокарциномой. Мутации EGFR выявлены у 17 больных. Gefитиниб назначен 9 больным диссеминированной формой рака легкого в качестве первой-второй линии терапии. Контингент больных был достаточно тяжелым: общее состояние как средней тяжести, так и тяжелое с клиническими симптомами заболевания наблюдалось у большинства пациентов, метастатическое поражение двух и более органов отмечено в 90% случаев. Практически у всех больных (у 8 из 9) прием Gefитиниба характеризовался быстрым симптоматическим ответом. Высокой оказалась и эффективность лечения: частичный регресс опухоли составил 67%, стабилизация – 22% при медиане длительного безрецидивного периода более 8 месяцев (диапазон 2-18 месяцев) и отсутствии тяжелых токсических реакций.

Клинические исследования Эрлотиниба (тарцевы) также продемонстрировали важную роль амплификации гена EGFR в формировании чувствительности к тирозинкиназным ингибиторам соответствующего рецептора [48].

Таким образом, идентификация мутаций, сенситизирующих новообразования лёгкого к действию ингибиторов тирозинкиназ, может принципиально изменить стратегию разработки новых таргетных препаратов. Длительное

Таблица 2
Результаты исследований IDEAL-1 и IDEAL-2

Исследования	IDEAL-1		IDEAL-2	
	250мг	500мг	250мг	500мг
Доза Gefитиниба	250мг	500мг	250мг	500мг
Кол-во больных	105	105	102	114
Эффективность	18%	19%	12%	9%
Симптоматический эффект	40%	37%	43%	35%
Медиана выживаемости	7,6 мес.	7,9 мес.	6,5 мес.	5,9 мес.

время в качестве предпочтительных опухолевых мишеней рассматривались те молекулы, которые гиперэкспрессируются в опухолях по сравнению с нормальными тканями. Клинический опыт первых лет XXI века показывает, что мутированные онкобелки могут оказаться значительно более предпочтительными мишенями по сравнению с теми молекулами, изменения для которых представлены лишь количественными различиями [20].

Индивидуализация назначения фторпиримидинов. В настоящее время наиболее изучены молекулярные маркеры эффективности лечения фторпиримидинами: DPD, TS, TP. Многочисленными исследованиями установлена четкая связь между уровнем экспрессии TS в опухоли и ответом на лечение 5-ФУ: эффективность терапии фторпиримидинами обратно пропорциональна величине TS. С. Leichman с соавт. (1997) показал, что в группе больных колоректальным раком с низким значением TS объективный ответ был достигнут у 50% пациентов, в то время как при высокой экспрессии этого фермента только в 5% случаев [27]. Аналогичная зависимость между низким уровнем TS и эффективностью химиотерапии 5-ФУ была подтверждена С. Aschele (2002) (табл. 3).

Частота объективных ответов, время до прогрессирования и общая выживаемость больных были выше при низком уровне TS [6].

Заслуживает внимание исследование Y. Shirota с соавт. (2001), в котором установлено, что оксалиплатин может снижать уровень внутриопухолевой активности TS. Данный факт объясняет высокую эффективность комбинации FOLFOX у больных метастатическим КРР, ранее получавших химиотерапию в режиме 5-ФУ+ЛВ. Следовательно, использование оксалиплатина в сочетании с 5-ФУ позволяет преодолеть химиорезистентность, вызванную гиперэкспрессией TS [40].

В исследованиях А. Paradiso (2001) было обнаружено, что высокая концентрация TS в ткани рака толстой кишки коррелирует с противоопухолевой активностью иринотекана [33].

Таким образом, уровень экспрессии TS может рассматриваться не только молекулярным маркером, прогнозирующим эффективность терапии фторпиримидинами, но и фактором, способствующим правильному выбору цитостатика. Однако имеющиеся разногласия по поводу значимости TS как маркера чувствительности к химиотерапии фторпиримидинами небесспорны: не у всех больных с низким уровнем экспрессии TS отмечается выраженный терапевтический ответ. Причиной этого может быть наличие других генов в опухолевых клетках, определяющих ответ на 5-ФУ и его производные.

Следует отметить, что уровень TS не является постоянной величиной, его значение в первичной и метастатической опухоли различно. Поэтому при выборе тактики лечения распространенных форм опухоли предпочтительнее проводить анализ метастатической ткани. Libra et al. (2004) показано, что уровень экспрессии TS может увеличиваться и в процессе лечения фторпиримидинами; предполагается, что активация транскрипции гена TS является одним из механизмов приобретённой резистентности к 5-ФУ [29]. Кроме того, прогностическая значимость статуса TS зависит от множества обстоятельств клинического характера. В частности, в то время как при метастатическом распространении онкологического процесса улучшенные результаты лечения фторпиримидинами наблюдаются у больных с пониженным содержанием TS, обратная закономерность отмечается в отношении тех пациентов, которые проходят адъювантное лечение теми же препаратами. Подобное противоречие принято объяснять фундаментальными биологическими различиями между сформировавшимся макроскопическим метастатическим очагом и единичными опухолевыми клетками [15]. Примечательно, что избыток TS может быть компенсирован локальной доставкой цитостатика. В частности, при метастазах печени, экспрессирующих значительное количество TS, рекомендуется внутривенная артериальная инфузия 5-ФУ [16]. И, наконец, предиктивная значимость TS зависит от того, назначаются ли фторпиримидины в качестве монотерапии или в комбинации с другими цитостатиками [19].

Рядом исследователей на сегодняшний день доказана **предиктивная значимость ферментов DPD и TP**. Низкое содержание DPD коррелирует с чувствительностью опухоли к фторпиримидинам [49]. Экспрессия DPD может снижаться в процессе злокачественной трансформации [26], что создаёт определённое «терапевтическое окно» для действия фторурацила и его производных.

Фермент TP не только участвует в метаболизме азотистых оснований ДНК, но и способствует процессам сосудобразования, так как по структуре и функции идентичен тумор-ассоциированному фактору ангиогенеза и тромбоцитарному эндотелиальному фактору роста. Высокий уровень экспрессии TP отмечается при многих солидных опухолях: РМЖ, колоректальном раке, раке желудка, мочевого пузыря, яичников, почек - и коррелирует с неблагоприятным прогнозом и низким ответом на стандартную 5-ФУ, содержащую химиотерапию. В то же время высокая экспрессия TP может свидетельствовать о чувствительности опухоли к пероральным фторпиримидинам, в частности к капецитабину, так как именно TP

Таблица 3
Эффективность 5-ФУ в зависимости от уровня экспрессии TS при КРР (Aschele C. et al., 2002)

Показатель	Низкий уровень TS (n=27)	Высокий уровень TS (n=21)	P
Объективный ответ	67%	24%	0,003
Время до прогрессирования	9,6 мес.	6,2 мес.	0,005
Общая выживаемость	18,4 мес.	15,4 мес.	0,02

конвертирует капецитабин в активную форму. Таким образом, высокая внутриопухолевая активность ТР может, с одной стороны, способствовать прогрессии онкологического заболевания, а с другой - избирательности действия пероральных форм фторпиримидинов [4, 30, 46]. Следует отметить, что успешное назначение фторпиримидинов зависит скорее не от одного какого-либо параметра, а от комбинации нескольких маркеров. Так, чувствительность к капецитабину определяется низким уровнем DPD и TS, высоким уровнем ТР. Комбинация низкого уровня DPD и низкого уровня TS определяет чувствительность опухоли к 5-ФУ. Последнее утверждение доказано результатами первого проспективного исследования С. Smorenburg с соавт. (2006). В исследование включено 58 ранее нелеченных пациентов с диссеминированной формой рака толстой кишки. Выбор химиотерапии первой линии основывался на молекулярном анализе опухоли: больным с низкой экспрессией TS и DPD назначался 5-ФУ с лейковорином, при прогрессировании – комбинация оксалиплатина и иринотекана [44]. В группе В больным с повышенным уровнем TS и/или DPD проводилась перекрестная с группой А химиотерапия: в начале комбинация оксалиплатина и иринотекана, а при прогрессировании – 5-ФУ с лейковорином. Частота объективного ответа в первой группе оказалась в 2 раза выше и составила 35% (табл. 4).

К сожалению, результаты исследования не подтвердили высокую эффективность (до 70%) химиотерапии фторпиримидинами при низком уровне DPD и TS, доказанную ретроспективными испытаниями Авторами исследования высказано мнение о необходимости проведения рандомизированных исследований по изучению предиктивных маркеров на больших популяциях.

Индивидуализация назначения таксанов Механизм противоопухолевого действия таксанов направлен на микротрубочки митотического веретена, построенные из глобулярного белка тубулина. Тубулин представляет собой димерный белок, состоящий из двух сходных, но не идентичных субъединиц – альфа-тубулина и бета-тубулина. Таксаны, связываясь со свободным тубулином, повышают скорость и степень его полимеризации, стимулируют сборку микротрубочек, стабилизируют сформировавшиеся микротрубочки, препятствуют деполимеризации тубулина и распаду микротрубочек, а также вызывают индукцию p53 независимого апоптоза. Таксаны нарушают функционирование клетки при митозе (М-фаза) и в интерфазе.

Несколько исследований показали, что резистентность опухолевых клеток к препаратам, воздействующим на микротрубочки, обусловлена гиперэкспрессией β-тубулина класса III. Экспериментальными и клиническими исследованиями установлено, что гиперэкспрессия β-тубулина ассоциируется с резистентностью опухоли к таксанам и может являться предиктивным фактором при некоторых солидных новообразованиях: РМЖ, раке яичников, легкого, желудка. Низкий уровень экспрессии β-тубулина коррелирует с эффективностью таксанов [14, 32, 39].

Эффективность винорельбина при лечении немелкоклеточного рака легкого также выше при условии низкого уровня экспрессии β-тубулина в опухолевой ткани [39].

ERCC1 и терапия препаратами платины. Механизм действия производных платины связан с нарушением функции нитей ДНК и образованием внутри- и межспиральных сшивок, в результате чего нарушается структура и подавляется синтез ДНК. В меньшей степени происходит ингибирование синтеза РНК. Основная роль в восстановлении структуры ДНК после повреждающего воздействия платины отводится нуклеотидной эксцизионной репарации (NER: nucleotide excision repair). Ключевым ферментом репарации ДНК является ERCC1. Многочисленные исследования демонстрируют взаимосвязь между низким уровнем экспрессии ERCC1 и ответом опухоли на цисплатин, карбоплатин или оксалиплатин при злокачественных опухолях яичников, пищевода, желудка, толстой кишки, лёгкого [25, 31]. R. Rosell с соавт. (2005) на основании предварительных результатов проспективного клинического исследования указывает на целесообразность определения уровня ERCC1 для выбора комбинации: доцетаксел + цисплатин или доцетаксел + гемцитабин при планировании лечения метастатического рака лёгкого [36].

Заключение

Совершенно очевидно, что эмпирический подход к выбору противоопухолевой терапии устаревает. Новые знания о функционировании опухолевой клетки, выявление мишеней для воздействия лекарственных препаратов, недостаточная эффективность цитостатиков мотивируют к поиску путей индивидуализации специфической терапии на основе молекулярных маркеров. Очевидно, что это не решит все проблемы противоопухолевой терапии, однако не вызывает сомнения, что использование молекулярных тестов позволяет индивидуализировать лечение для подавляющего большинства больных.

Таблица 4
Эффективность химиотерапии и уровень экспрессии TS и DPD при колоректальном раке (Smorenburg С. et al., 2006)

Эффективность	Группа А низкий уровень TS и DPD (n=31)	Группа В высокий уровень TS и/или DPD (n=22)	P
Частичный регресс	35%	18%	0,20
Стабилизация	45%	45%	
Прогрессирование	19%	32%	
Не оценено	0%	5%	

Литература

1. Моисеенко В.М. Возможности моноклональных антител в лечении злокачественных опухолей // Практическая онкология. – 2002. – т. 3, №4. – С.253-261.
2. Стенина М.Б. Рак молочной железы: некоторые важные научные события и выводы последних лет // Практическая онкология. – 2006. – т.6, №1. – С.26-32.
3. Тюляндин С.А. Первые результаты клинического применения ингибиторов передачи внутриклеточных сигналов // Практическая онкология. – 2002. – т. 3. – №4. – С.236-245.
4. Adlard J.W., Richman S.D., Seymour M.T., Quirke P. Prediction of the response of colorectal cancer to systemic therapy // Lancet. Oncol. – 2002. – Feb. 3(2). – P.75-82.
5. Arpino G., Weiss H., Lee A. et al. Estrogen receptor positive (ER+), progesterone receptor negative (PR-) breast cancer new insights into molecular mechanisms and clinical implication // Breast cancer research and treatment // 27th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium. – 2004. – Vol.88 (Suppl) . – Abstr.105.
6. Aschele C., Lonardi S., Monfardini S. Thymidylate Synthase expression as a predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy in advanced colorectal cancer // Cancer. Treat. Rev. – 2002. – Feb. 28(1). – P.27-47.
7. Beutler E., Gelbart T., Demina A. Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Jul.7. – Vol.95(14). – P.8170-8174.
8. Blanke C.D., Joensuu H., Demetri G.D. et al. Outcome of advanced gastrointestinal stromal tumor patient treated with imatinib mesylate: Four-year follow-up of phase II randomized trial // ASCO. – 2006. – Abstr.7. Gastrointestinal cancers symposium.
9. Ciardiello F., De Vita F., Orditura M., Tortora G. The role of EGFR inhibitors in nonsmall cell lung cancer // Curr. Opin. Oncol. – 2004. – Vol.16. – P.130-135.
10. Coiffier B., Lepage E., Briere J., et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma // N. Engl. J. Med. – 2002. – Vol.346. – P.235-242.
11. De Laurentiis M., Arpino G., Massarelli E. et al. A meta-analysis on the interaction between HER-2 expression and response to endocrine treatment in advanced breast cancer // Clin. Cancer Res. – 2005. – Jul 1. – Vol.11(13). – P.4741-4748.
12. Dervieux T., Meshkin B., Neri B. Pharmacogenetic testing: proofs of principle and pharmacoeconomic implications // Mutat. Res. – 2005. – Jun. 3. – Vol.573 (1-2). – P.180-94.
13. Eiermann W. Trastuzumab combined with chemotherapy for the treatment of HER2-positive metastatic breast cancer: pivotal trial data // Ann. Oncol. – 2001. – Vol.12. – Suppl.1. – P.57-62.
14. Ferrandina G., Zannoni G.F., Martinelli E., Paglia A., Gallotta V., Mozzetti S., Scambia G., Ferlini C. Class III beta-tubulin overexpression is a marker of poor clinical outcome in advanced ovarian cancer patients // Clin. Cancer Res. – 2006. – May 1. – Vol.12(9). – P.2774-2779.
15. Formentini A., Henne-Bruns D., Kornmann M. Thymidylate synthase expression and prognosis of patients with gastrointestinal cancers receiving adjuvant chemotherapy: a review // Langenbecks. Arch. Surg. – 2004. – Oct. 389(5). – P.405-413.
16. Gonen M., Hummer A., Zervoudakis A. et al. Thymidylate synthase expression in hepatic tumors is a predictor of survival and progression in patients with resectable metastatic colorectal cancer // J. Clin. Oncol. – 2003. – Feb 1. – 21(3). – P.406-412.
17. Grothey S., Jordan K., Kellner O. et al. Capecitabine/irinotecan (CapIri) and capecitabine/oxaliplatin (CapOx) are active second line protocols in patients with advanced colorectal cancer.(ACRC) after failure of first-line combination therapy: result of randomized phase II study // Proc. ASCO. – 2004. – Abstr.3534.
18. Guilbot F. Indications for imatinib mesylate therapy and clinical management // Oncologist. – 2004. – Vol.9(3). – P.271-281.
19. Ichikawa W., Takahashi T., Suto K. et al. Thymidylate synthase predictive power is overcome by irinotecan combination therapy with S-1 for gastric cancer // Brit. J. Cancer. – 2004. – Oct. 4. – Vol.91(7). – P.1245-1250.
20. Imyanitov E.N., Kuligina E.Sh., Belogubova E.V. et al. Mechanisms of lung cancer // Drug Discov. Today: Dis. Mech. – 2005. – Vol. 2. – P.213-223.
21. Imyanitov E.N., Moiseyenko V.M. Molecular-based choice of cancer therapy: realities and expectations // Clin. Chim. Acta. – 2007, Apr. – Vol. 379 (1-2). – 1-13. Epub. – 2007, Jan 18.
22. Innocenti F., Ratain M.J. "Irinogenetics" and UGT1A: from genotypes to haplotypes // Clin Pharmacol Ther. – 2004, Jun. – Vol.75(6). – P.495-500.
23. Innocenti F., Vokes E.E., Ratain M.J. Irinogenetics: what is the right star? // J. Clin. Oncol. – 2006. – May 20. – Vol.24(15). – P.2221-2224.
24. Jirstrom K., Stendahl M., Ryden L. et al. Adverse effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer with cyclin D1 gene amplification // Cancer. Res. – 2005. – Sep 1. – Vol.65(17). – P.8009-8016.
25. Joshi M.B., Shiota Y., Danenberg K.D., Conlon D.H. et al. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer // Clin. Cancer Res. – 2005. – Mar 15. – Vol.11(6). – P.2215-2221.
26. Kidd E.A., Yu J., Li X. et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer // Clin. Cancer Res. – 2005. – Apr 1. – Vol.11(7). – P.2612-2619.

27. *Leichman C.G., Lenz H.J., Leichman L. et al.* Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin // *J. Clin. Oncol.* – 1997. – Oct.15(10). – P. 3223-3229.
28. *Leo A., Cardoso F., Durbecq V. et al.* Predictive molecular markers in the adjuvant therapy of breast cancer: state of the art in the year 2002 // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2002b. – Aug;7(4). – P.245-253.
29. *Libra M., Navolanic P.M., Talamini R. et al.* Thymidylate synthetase mRNA levels are increased in liver metastases of colorectal cancer patients resistant to fluoropyrimidine-based chemotherapy // *BMC Cancer.* – 2004. – Mar 25. –Vol.4. – P.11.
30. *Longley D.B., Harkin D.P., Johnston P.G.* 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies // *Nat. Rev. Cancer.* – 2003, May. – Vol.3(5). – P.330-338.
31. *Lord R.V., Brabender J., Gandara D. et al.* Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer // *Clin. Cancer. Res.* – 2002, Jul. – Vol.8(7). – P.2286-2291.
32. *Mozzetti S., Ferlini C., Concolino P. et al.* Class III beta-tubulin overexpression is a prominent mechanism of paclitaxel resistance in ovarian cancer patients // *Clin. Cancer. Res.* – 2005. – Jan 1. – Vol.11(1). – P.298-305.
33. *Paetz J.G., Janne P.A., Lee J.C. et al.* EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy // *Science.* – 2004. – Vol.304. – P.1497-1500.
34. *Paradiso A., Simone G., Lena M. et al.* Expression of apoptosis-related markers and clinical outcome in patients with advanced colorectal cancer // *Brit. J. Cancer.* – 2001. – Mar 2. –Vol.84(5). – P.651-658.
35. *Robert J., Morvan V., Smith D. et al.* Predicting drug response and toxicity based on gene polymorphisms // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2005, Jun. – Vol.54(3). – P.171-196.
36. *Rosell R., Cobo M., Isla D. et al.* Applications of genomics in NSCLC // *Lung Cancer.* – 2005. – Dec. – Vol.50 (Suppl 2). – P.S33-40.
37. *Ross J., Fletcher J., Linette G. et al.* The Her-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy // *Oncologist.* – 2003. – Vol.8(4). – P.307-325.
38. *Rouits E., Boisdron-Celle M., Dumont A. et al.* Relevance of different UGT1A1 polymorphisms in irinotecan-induced toxicity: a molecular and clinical study of 75 patients // *Clin. Cancer. Res.* – 2004. – Aug 1. – Vol.10(15). – P.5151-5159.
39. *Seve P., Isaac S., Tredan O. et al.* Expression of class III beta-tubulin is predictive of patient outcome in patients with non-small cell lung cancer receiving vinorelbine-based chemotherapy // *Clin. Cancer. Res.* – 2005. – Aug 1. – Vol.11(15). – P.5481-5486.
40. *Shiroya Y., Stoehlmacher J., Brabender J. et al.* ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Dec 1. – Vol.19(23). – P.4298-4304.
41. *Silva M., Reid R.* Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST): C-kit Mutation, CD117 Expression, Differential Diagnosis and Targeted therapy with Imatinib // *Pathology Oncol. Res.* – 2003. – Vol.9(1). – P.13-16.
42. *Simmonds P.C.* Palliative chemotherapy for advanced colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. Colorectal Cancer Collaborative Group // *BMJ.* – 2000. – Sep 2. – Vol.321(7260). – P.531-535.
43. *Simon N., Monnier A., Namer et al.* Prognostic factors of contralateral breast cancer (CBC) in 3653 early cancer (EBC): 9-year follow-up results of French Adjuvant Study Group (FASG) trials // *Proc.ASCO.* – 2004. – Vol.23. – Abstr.551.
44. *Smorenburg C., Peters G., van Groeningen C. et al.* Phase II study of tailored chemotherapy for advanced colorectal cancer with either 5-fluorouracil and leucovorin or oxaliplatin and irinotecan based on the expression of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase // *Ann. Oncol.* – 2006, Jan. – Vol.17(1). – P.35-42.
45. *Tedder T.F., Engel P.* CD20: A regulator of cell-cycle progression of B lymphocytes // *Immunol. Today.* – 1994. – Vol.15. – P.450-454.
46. *Toi M., Atiqur Rahman M., Bando H., Chow L.W.* Thymidine phosphorylase (platelet-derived endothelial-cell growth factor) in cancer biology and treatment // *Lancet. Oncol.* – 2005, Mar. – Vol.6(3). – P.158-166.
47. *Treon S.P., Kelliher A., Keele B. et al.* Expression of serotherapy target antigens in Waldenstrom's macroglobulinemia: therapeutic applications and consideration // *Semin. Oncol.* – 2003. – Vol.30. – P.248-252.
48. *Tsao M., Sakurada A., Cutz J. et al.* Erlotinib in lung cancer - molecular and clinical predictors of outcome // *New. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol.353. – P.133-144.
49. *van Kuilenburg A.B.* Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil // *Europ. J. Cancer.* – 2004, May. – Vol.40(7). – P.939-950.
50. *Vose J., Link B., Grossbard M. et al.* Phase II study of rituximab in combination with CHOP chemotherapy in patients with previously untreated aggressive non-Hodgkin's lymphoma // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol.19. – P.389-397.
51. *Walgren R.A., Meucci M.A., McLeod H.L.* Pharmacogenomic discovery approaches: will the real genes please stand up? // *J. Clin. Oncol.* – 2005, Oct 10. – Vol.23(29). – P.7342-7349.
52. *Watters J.W., McLeod H.L.* Cancer pharmacogenomics: current and future applications // *Biochim Biophys Acta.* – 2003. – Mar 17. – Vol.1603(2). – P.99-111.
53. *Younes A., McLaughlin P., Hagemester F. et al.* Addition of rituximab to taxol plus topotecan (TTR) improves response rate and complete remission rate in patients with relapsed/refractory aggressive B-cell lymphoma // *Ann. Oncol.* – 2002. – Vol.13 (Suppl.2). – P.74.