
Таргетная терапия солидных опухолей

ПРАКТИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО
ПО СОВРЕМЕННЫМ МЕТОДАМ ЛЕЧЕНИЯ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Под редакцией

А. Руссо,

Р. Роселля,

К. Рольфо

Перевод с английского под редакцией
профессора В.А. Горбуновой



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2019

Содержание

Предисловие к изданию на русском языке	6
Авторы	7
Список сокращений и условных обозначений	12
1. Введение	17
2. Онкогенная аддикция солидных опухолей	18
3. Клинические испытания и фармакологические свойства молекулярных таргетных препаратов	23
4. Биомаркеры как прогностические, предиктивные и суррогатные конечные точки	50
5. Оценка ответа на таргетную терапию при лечении злокачественных опухолей	63
6. Таргетная терапия HER2-позитивного рака молочной железы	81
7. Роль ингибиторов поли(АДФ)-рибозополимеразы в лечении рака молочной железы с тройным негативным фенотипом	103
8. Таргетная терапия плоскоклеточного рака головы и шеи	114
9. Таргетная терапия немелкоклеточного рака легкого	123
10. Таргетная терапия рака желудка	138
11. Таргетная терапия рака поджелудочной железы	172
12. Таргетная терапия гепатоцеллюлярного рака	185
13. Таргетная терапия колоректального рака	198
14. Таргетная терапия гастроинтестинальных стромальных опухолей	219
15. Таргетная терапия рака почки	263
16. Таргетная терапия меланомы	283
17. Таргетная терапия рака предстательной железы	303
18. Таргетная терапия костных метастазов	331
Предметный указатель	354

Клинические испытания и фармакологические свойства молекулярных таргетных препаратов

3

Э. Джованнетти, Е. Гальвани¹

Введение

Основные понятия молекулярной таргетной терапии

Фармакологию можно рассматривать как науку о взаимодействии веществ с живыми системами посредством молекулярных механизмов и химических превращений, в частности путем связывания с регуляторными факторами и ингибирования/активирования физиологических процессов в организме [1]. Основной функцией медицинской фармакологии — науки, изучающей лекарственные вещества, является применение веществ в терапевтических целях. Уже в течение многих десятилетий для лечения злокачественных новообразований используется цитотоксическая (то есть вызывающая гибель клеток) терапия, получившая название «химиотерапия» [2]. При распространенном опухолевом процессе у ряда онкологических пациентов химиотерапия может

привести к излечению (при герминогенных опухолях, мелкоклеточном раке легкого и опухолях яичников). В то же время при большинстве солидных опухолей химиотерапия не является радикальным методом, но значительно увеличивает выживаемость без прогрессирования процесса (ВБП). Такие результаты способствовали изучению адьювантной химиотерапии, приводящей к увеличению продолжительности жизни при различных новообразованиях, и стимулировали дальнейшие ее исследования при различных клинических ситуациях. Более того, при раке прямой кишки и анального канала, желудка и пищевода, мочевого пузыря, молочной железы, опухолях головы и шеи, а также при остеогенных и мягкотканых саркомах ряд наиболее активных химиотерапевтических схем используется и в неoadьювантном режиме [3], что позволяет уменьшить размеры новообразования и, следовательно, улучшить результаты хирургического лечения, а также сохранить функцию жизненно важных органов.

Тем не менее химиотерапия — метод неселективный. Большинство противоопухолевых препаратов являются токсичными не только для злокачественных, но и для функционально важных нормальных клеток: поражаются популяции быстро делящихся клеток, а именно кроветворной системы, кожи,

¹ E. Giovannetti, E. Galvani
Department of Medical Oncology, VU University
Medical Center, Cancer Center Amsterdam —
CCA room 1.52, De Boelelaan 1117, Amsterdam,
HV 1081, The Netherlands
e-mail: e.giovannetti@vumc.nl;
elisa.giovannetti@gmail.com

E. Galvani
e.galvani@vumc.nl; e-mail: elena.galvani1@gmail.com

эпителий желудочно-кишечного тракта. Развивающиеся в результате побочные эффекты усугубляются трудностями прогнозирования эффективности терапии у конкретного пациента. Данное неудовлетворительное положение вещей, с одной стороны, и развитие технологий секвенирования генома, с другой, привели к интенсивным исследованиям и разработке более специфичных и менее токсичных противоопухолевых препаратов, способных блокировать рост и прогрессирование опухоли путем взаимодействия со специфичными молекулами, вовлеченными в данные процессы [4].

Поскольку учеными данные молекулы были названы «молекулярными мишенями», таргетную противоопухолевую терапию иногда называют «молекулярной таргетной терапией» или схожими «именами». Некоторые полученные результаты уже нашли свое применение в клинической практике, еще большее количество в настоящее время находится на стадии доклинических испытаний. Общим для всех таргетных препаратов является их способность взаимодействовать с определенными молекулами опухолевых клеток, что в разной степени увеличивает селективность их токсических эффектов. Как следствие, при определении у опухоли молекулярной мишени до начала терапии обеспечивается большой диагностический потенциал в прогнозировании эффективности лечения и персонализации терапии. В идеале противоопухолевый препарат должен уничтожать злокачественные клетки без поражения нормальных тканей. К сожалению, ни одно из доступных в настоящий момент лекарственных средств не соответствует данному критерию, а их использование в клинической практике сопровождается множеством трудностей, в том числе появлением

новых токсических эффектов [5], потребностями в биомаркерах, валидации генетических тестов и развитии методов молекулярной визуализации опухолей. Учитывая вышесказанное, цель настоящей главы — осветить достижения трансляционной медицины в совокупности с критическим взглядом на фармакологию (фармакодинамику, фармакокинетику и фармакогенетику), а также на клинические испытания (в том числе возникающие трудности) таргетных агентов для терапии солидных опухолей.

За рамками клинико-морфологического фенотипирования: новые фармакологические мишени для персонализированного лечения

Для грубой оценки прогноза при многих злокачественных новообразованиях используются такие факторы, как стадия заболевания, общее состояние больного, возраст и наличие сопутствующей патологии. Они являются суррогатными маркерами клинического поведения и могут быть полезны в выборе противоопухолевой терапии и прогнозировании течения болезни [6]. Например, после проведенного лечения по поводу НМРЛ IIIA стадии наличие метастазов в медиастинальных лимфатических узлах и общее количество пораженных лимфатических узлов являются важными неблагоприятными прогностическими факторами [7]. Также значительно снижается выживаемость при вовлечении в процесс висцеральной плевры. В действительности инвазия в висцеральную плевру наиболее часто наблюдается в случае биологически более агрессивных опухолей и, согласно многофакторному анализу, является независимым предиктором неблагоприятного прогноза у пациентов с НМРЛ вне зависимости от

поражения лимфатических узлов [8]. Таким образом, при большинстве солидных опухолей выбор терапевтической стратегии основывается на типе, стадии новообразования и общем состоянии пациента.

Согласно некоторым данным, эффективность и токсичность лечения также определяются гистологическим подтипом опухоли. Зависимость терапевтической эффективности от морфологии опухоли была доказана на примере пеметрекседа при распространенном или метастатическом НМРЛ. Согласно III фазе клинических исследований более высокие показатели выживаемости при применении схемы цисплатин/пеметрексед, нежели цисплатин/гемицитабин, наблюдались только у пациентов с неплоскоклеточным раком, в то время как у пациентов с плоскоклеточным раком результаты оказались противоположными [9]. Данное исследование было регистрационным, и Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA — USA Food and Drug Administration) и Европейским медицинским агентством (EMA — European Medicines Agency) пеметрексед был разрешен в качестве химиотерапии первой линии при распространенном неплоскоклеточном НМРЛ.

Тем не менее в лечении ряда злокачественных новообразований в последние годы был отмечен революционный прорыв. Этому способствовало появление новых препаратов, имеющих специфическую мишень — молекулярный фактор, определяющий поведение опухоли. В основу таргетной терапии легли достижения в понимании ключевых клеточных сигнальных путей и генетических факторов, приводящих к возникновению и прогрессии новообразования [10]. Исследования геномной характеристики

опухолей подчеркнули важность «драйверных» соматических повреждений, активирующих ключевые онкопротеины, которые и дают начало опухолевому росту. В отношении таких онкоген-зависимых опухолей была выявлена эффективность монотерапии препаратами, предназначенными для подавления соответствующих ключевых онкогенов [11]. К широко известным примерам относятся иматиниб — ИТК — при с-kit положительных гастроинтестинальных стромальных опухолях, трастузумаб — гуманизированное моноклональное антитело к рецептору человеческого эпидермального фактора роста 2-го типа (HER-2, от Human Epidermal growth factor Receptor) — при HER-2 положительном РМЖ, сунитиниб — мульти-таргетный ИТК, воздействующий на оба сигнальных пути ангиогенеза (рецепторы VEGF и PDGFR), а также непосредственно на пути, активируемые онкогенами (рецептор фактора стволовых клеток и рецептор FMS-подобной тирозинкиназы-2) при метастатическом почечно-клеточном раке (ПКР). Функция EGFR может быть ингибирована как моноклональными антителами, так и малыми молекулами, способными связываться с тирозинкиназным доменом. Цетуксимаб — моноклональное антитело, конкурируя с лигандами, блокирует внеклеточный домен EGFR, что приводит к ингибированию рецептора. Данный препарат разрешен для лечения распространенного колоректального рака, а также в качестве терапии первой линии в комбинации с химиотерапией на основе платины у пациентов с EGFR-положительным НМРЛ при удовлетворительном общем состоянии пациента [12, 13]. (Показанием для НМРЛ с активирующими мутациями EGFR являются ИТК EGFR гефитиниб, эрлотиниб и афатиниб, утвержденные

регуляторными органами по этому показанию. Цетуксимаб не одобрен для лечения НМРЛ, хотя в исследовании FLEX была показана его эффективность в сочетании с химиотерапией. — *Прим. науч. ред.*)

Гефитиниб, ИТК EGFR, был одобрен FDA и EMA в качестве предварительной терапии как альтернатива химиотерапии на поздних стадиях НМРЛ при наличии активирующих мутаций в гене *EGFR* [14]. В качестве поддерживающей терапии также может быть использован еще один ИТК EGFR — эрлотиниб: препарат с управляемой токсичностью и высокой эффективностью. Кроме того, эрлотиниб и гефитиниб являются единственными препаратами с доказанной эффективностью, разрешенными в качестве третьей линии терапии у пациентов с НМРЛ [15]. (Еще один ИТК EGFR афатиниб уже появился в клинической практике, он предпочтителен перед предшествующими в случаях мутации Del 19 и отсутствии мутации T790M при ре-биопсии в качестве последующей терапии НМРЛ с активирующими мутациями. — *Прим. науч. ред.*)

Другим примером таргетной терапии является антиангиогенный препарат бевацизумаб. Данное моноклональное антитело в комбинации с карбоплатином-паклитакселом или другими схемами химиотерапии на основе платины было одобрено в качестве терапии первой линии у пациентов с неплоскоклеточным раком [16]. Совсем недавно ингибитор киназы анапластической лимфомы (ALK — anaplastic lymphoma kinase) кризотиниб был разрешен FDA для лечения местно-распространенного или метастатического НМРЛ, экспрессирующего химерный ген *EML4-ALK* [17]. Кроме того, был открыт целый ряд других молекулярных нарушений, включающий в себя мутацию в гене *PIK3CA*, гиперэкспрес-

сию *IGF-1R*, амплификацию или гиперэкспрессию *c-MET*, а также нарушения в ключевых сигнальных путях, таких как RAS/RAF/MEK и фосфоинозитид-3-киназа (PI3K)/Akt/mTOR [18]. В настоящий момент на стадии клинических испытаний находятся несколько препаратов, способных взаимодействовать с данными молекулами. Среди них ингибитор BRAF сорафениб, ингибитор Src/Abk дазатиниб и ряд других [11–19].

Основные мишени и фармакодинамика таргетных противоопухолевых препаратов

Фармакодинамика — наука, изучающая биохимическое и физиологическое влияние лекарственных средств на организм, в том числе механизм действия и взаимосвязь эффекта с концентрацией препарата. Анализ фармакодинамики особенно важен в клинических испытаниях фазы I для определения возможности препарата достичь мишени и оказать ожидаемый эффект. В сравнении с традиционными неспецифическими цитотоксичными агентами, имеющими очень узкое терапевтическое окно, крутую кривую зависимости доза—токсичность и эффективность, таргетные препараты, как правило, менее токсичны, имеют более широкое терапевтическое окно и эффективность, больше связанную с ингибированием роста, нежели с уменьшением размера опухоли. Таким образом, на примере характерных таргетных агентов различных классов в этой главе описаны основные фармакологические мишени и механизмы действия данных лекарственных средств, включая возможные предложения по оптимизации фармакологических исследований с целью улучшения разработки лекарственных препаратов в контексте онкологической помощи [20].

Таргетные препараты, влияющие на рецепторы факторов роста

Рецепторные тирозинкиназы играют важную роль в развитии животных организмов. С дерегуляцией ферментов данного семейства связано развитие ряда заболеваний, в том числе злокачественных опухолей. Наиболее изучена роль семейства рецепторов ERBB/HER

в патогенезе рака молочной железы, желудка, легкого, головы и шеи, толстой и прямой кишки. Известно четыре вида рецепторов HER-семейства: ERBB1/HER1 (также известный как EGFR), HER2/Neu/ERBB2, HER3/ERBB3 и HER4/ERBB4. Их активация происходит путем димеризации при связывании лиганда (рис. 3.1). Нарушение данного процесса может наблюдаться при различных опухолях [21].

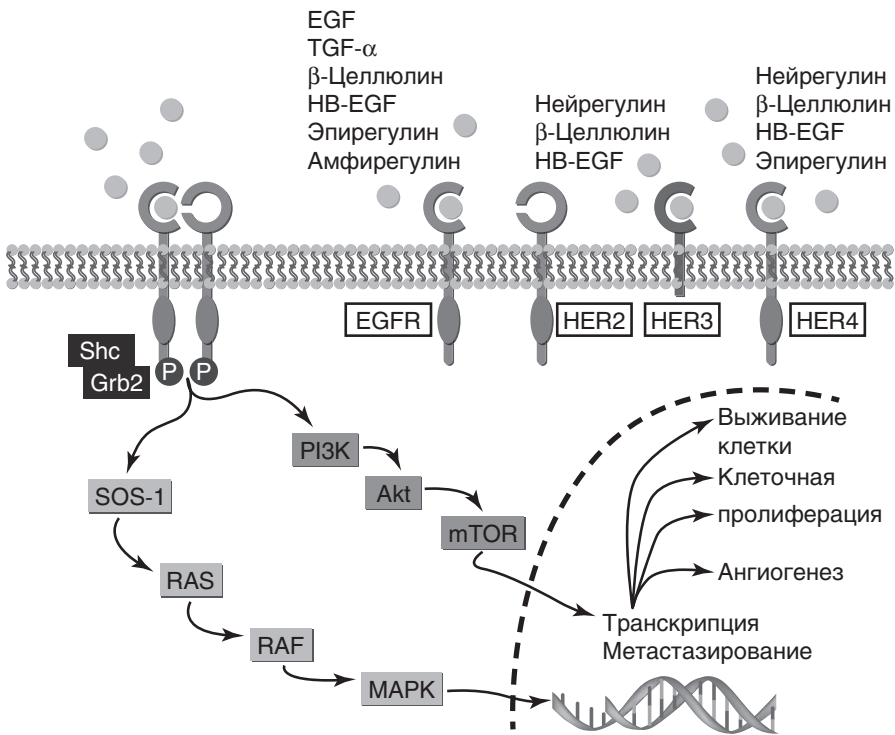


Рис. 3.1. Сигнальные пути рецептора эпидермального фактора роста: сигнальные пути и рецепторные тирозинкиназы, вовлеченные в канцерогенез при немелкоклеточном раке легкого. Akt — протеинкиназа B; EGF — эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor); EGFR — рецептор эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor); HB-EGF — гепарин-связывающий EGF (heparin binding EGF); MAPK — митоген-активируемая протеинкиназа (mitogen-activated protein kinase); PI3K — фосфатидилинозитол-3-киназа (phosphatidylinositol-3-kinase); RAF — v-raf 1 — гомолог вирусного онкогена мышинной лейкемии 1 (murine leukemia viral oncogene homolog 1); RAS — ретровирус-ассоциированные ДНК-последовательности (Rasretrovirus-associated DNA sequences); SOS — гомолог регуляторного белка дрозофилы (son of sevenless); TGF — трансформирующий фактор роста (transforming growth factor); mTOR — мишень рапамицина у млекопитающих (mammalian target of rapamycin); VEGF — фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor); Grb2 — белок 2, связанный с рецепторами факторов роста (growth factor receptor-bound protein 2)

Учитывая связь данных рецепторов с канцерогенезом, было испытано множество различных подходов при разработке таргетных к HER-семейству препаратов, но лекарственные средства только двух групп успешно прошли клинические испытания — антитела к внеклеточному домену рецептора и малые молекулы, взаимодействующие с внутриклеточным доменом.

В настоящее время для терапии солидных опухолей разрешены три моноклональных антитела к данному типу рецепторов: цетуксимаб и панитумумаб к EGFR и трастузумаб к HER2. Цетуксимаб — химерное моноклональное анти-EGFR-антитело (состоит из константного домена человека и вариабельного домена мыши), в то время как панитумумаб — полностью гуманизированное антитело. Трастузумаб — гуманизированное антитело, в котором человеческие последовательности заменяют все последовательности грызуна, за исключением региона, определяющего комплементарность и ответственность за связывание с HER2 [22]. В основе механизма действия данной группы лекарственных средств лежит множество процессов, часть из которых зависимы от распознаваемого антителами региона соответствующего рецептора. Считается, что общим для всех указанных препаратов являются стимуляция эндоцитоза HER и удаление данных рецепторов с поверхности клетки [23], что, в свою очередь, приводит к подавлению сигнального каскада.

Другим важным механизмом является стимуляция противоопухолевого иммунитета. Роль иммунного ответа, опосредованного через Fc-рецептор, была продемонстрирована в эксперименте на FcγRIII-дефицитных мышцах. Потеря лейкоцитами этого рецептора или нарушение его функции приводит

к значительному ослаблению противоопухолевого эффекта трастузумаба *in vivo*, что свидетельствует о Fc-рецептор-зависимом механизме действия данного препарата [24].

Иммунным ответом также объясняются клинические преимущества при использовании комбинации антител к одной молекуле, взаимодействующих с разными ее эпитопами, например трастузумаба и пертузумаба при РМЖ [25].

Подобным образом кожная сыпь, являющаяся маркером активности цетуксимаба, может быть связана с воспалительным ответом, опосредованным цитотоксическим действием препарата. Цетуксимаб и панитумумаб взаимодействуют с третьим субдоменом EGFR, являющимся регионом связывания EGF. Тем самым нарушается докинг лиганда и, как следствие, блокируется активация рецептора. Трастузумаб взаимодействует с четвертым субдоменом HER2, но не предотвращает индуцируемую лигандом олигомеризацию и активацию, а снижает способность других HER-рецепторов активировать сигнальный каскад при гетеродимеризации с HER2 [26].

Такой вывод был сделан на основе исследования, в котором в условиях воздействия трансмембранного фактора роста из субсемейства херегулина опухоль была чувствительна к трастузумабу даже при отсутствии гиперэкспрессии HER2. Как уже упоминалось выше, также недавно была продемонстрирована клиническая эффективность пертузумаба. Данное моноклональное антитело связывается со вторым субдоменом HER2 и препятствует димеризации рецептора [27].

Существуют и другие противоопухолевые эффекты антител к HER-рецепторам. Препараты данной группы могут вызывать арест клеточного цикла

за счет индукции транскрипции ингибитора циклин-зависимых киназ p27, а также подавлять ангиогенез [28]. Кроме того, путем неизвестного на данный момент механизма трастузумаб и цетуксимаб нарушают процесс репарации ДНК, благодаря чему способны усиливать противоопухолевый эффект ДНК-повреждающих агентов, таких как цисплатин [29].

В настоящее время трастузумаб разрешен к применению в комбинации с химиотерапией на основе таксанов в качестве адъювантной терапии РМЖ, а также для лечения пациенток с метастатическим РМЖ. Согласно клиническому исследованию, добавление к паклитакселу трастузумаба при метастатическом РМЖ увеличивает показатели выживаемости [30]. Следует отметить, что при одновременном применении трастузумаба с антрациклинами в рамках того же исследования было отмечено развитие неприемлемой кардиотоксичности, препятствующей использованию данной комбинации. Сочетания трастузумаба с другими группами химиопрепаратов, включая винорелбин, гемцитабин или капецитабин, в ряде клинических исследований II фазы показали различную эффективность [31, 32]. В схемах адъювантной терапии трастузумаб комбинировали с таксанами и режимами на основе платины, избегая одновременного приема совместно с антрациклинами. Кроме того, существует возможность монотерапии после завершения химиотерапии с общей продолжительностью лечения 1 год [33]. При раке желудка (РЖ) применение трастузумаба недавно было разрешено для лечения метастатических форм в комбинации с цисплатином и фторпиримидином[®]. Увеличение показателей выживаемости при добавлении трастузумаба к химиотерапии было выявлено в третьей фазе

рандомизированного клинического исследования [34].

Что касается моноклональных антител к EGFR (цетуксимаб и панитумумаб), то их применение разрешено для лечения метастатического колоректального рака при отсутствии мутации в гене *K-RAS* — в виде монотерапии или в комбинации с химиотерапией [35]. При наличии мутаций в данной молекуле наблюдается резистентность к ингибиторам EGFR, таким образом, применение данных методов ограничено у пациентов с опухолями с диким типом *K-RAS*. Наиболее часто данные антитела применяются в сочетании с оксалиплатином, иринотеканом и химиотерапии на основе фторурацила [36]. На основании улучшения показателей выживаемости цетуксимаб также был одобрен в комбинации с лучевой терапией для лечения местно-распространенного рака головы и шеи, а также при наличии метастатического поражения в сочетании с химиотерапией на основе платины. Как можно заметить, большинство перечисленных антител используются совместно с химиотерапией и наиболее часто на основе платины [37].

Вторым типом таргетных препаратов, используемых в клинической практике, являются малые молекулы — ИТК. Подавление киназной активности осуществляется путем их связывания с внутриклеточной областью рецептора. Данная группа лекарственных средств вызывает повышенный интерес в связи с высокой биодоступностью при пероральном приеме. Кроме того, они способны подавлять активность рецепторов с молекулярными повреждениями, например при усечении внеклеточного домена, что препятствует действию анти-HER-антител [38]. В основе механизма действия всех ИТК лежит конкуренция с аденозинтрифосфатом (АТФ) за АТФ-

связывающий внутриклеточный домен рецептора. Подавление тирозинкиназной активности является эффективным подходом для лечения различных опухолей с патологической активацией HER-рецепторов. Так, ИТК EGFR эрлотиниб и gefитиниб включены в схемы лечения пациентов с распространенным НМРЛ, а ИТК EGFR и HER2 лапатиниб одобрен в комбинации с капецитабином для лечения метастатического РМЖ (на основе результатов клинического исследования, свидетельствующих об увеличении ВВП процесса по сравнению с монотерапией капецитабином) [39]. Кроме того, лапатиниб разрешен для лечения гормон-рецепторположительного метастатического РМЖ при наличии гиперэкспрессии HER2 в сочетании с летрозолом [40]. В настоящее время проводится еще ряд исследований по оценке роли данной малой молекулы в адьювантной терапии в комбинации с трастузумабом и/или химиотерапией.

В четырех крупных клинических исследованиях III фазы не было выявлено каких-либо преимуществ комбинации ИТК EGFR с химиотерапией первой линии. Однако открытие соматических мутаций в гене *EGFR* с последующим ретроспективным анализом и проспективными исследованиями в определенной группе пациентов позволили объяснить причины неудачи и определить стадию для более специфичного применения этих препаратов [14, 15]. Основываясь на данных о небольшом увеличении общей выживаемости (ОВ), стоит отметить, что эрлотиниб также разрешен для лечения метастатического рака поджелудочной железы. Тем не менее такое небольшое преимущество ставит под сомнение целесообразность его использования в клинической практике [41].

В зависимости от прочности взаимодействия все HER-ИТК делятся на

два типа. Обратимые ингибиторы, к которым относятся эрлотиниб, gefитиниб и лапатиниб, встраиваются в АТФ-связывающий карман рецептора и высвобождаются из него после выведения препарата из организма. В противоположность им такие ингибиторы, как нератиниб[®] или канертиниб[®], связываются с рецептором необратимо, таким образом нарушая его функцию даже после элиминации лекарственного средства из организма. В последнем случае восстановление HER-рецептора зависит от способности клетки синтезировать его вновь. Эффективность необратимых ингибиторов *in vitro* выше, чем обратимых. Тем не менее последние могут быть менее токсичны [42]. Ожидается, что в будущем, кроме конкурентных ингибиторов связывания АТФ, появятся неконкурентные или селективные ингибиторы к мутантным формам рецептора, которые помогут преодолеть резистентность к имеющимся на данный момент препаратам.

Накопленный опыт использования ИТК EGFR при раке легкого свидетельствует о том, что мутации, приводящие к изменению аффинности АТФ-связывающего кармана, лежат в основе механизма развития резистентности к ингибиторам HER. В частности, примерно у 50% пациентов с НМРЛ, изначально отвечавших на ИТК EGFR, возникает вторичная мутация, главным образом T790M в 20-м экзоне, приводящая к развитию резистентности. В связи с данной перестройкой аффинность АТФ к АТФ-связывающему карману становится выше, чем у ИТК, благодаря чему внутриклеточный АТФ вытесняет ингибиторы из данного сайта [43]. Для преодоления резистентности разрабатываются ИТК нового поколения. Примерами необратимых ингибиторов являются афатиниб (BIBW 2992), дако-

митиниб[®] (PF-00299804) и нератиниб[®] (НКI-272). Эффективность афатиниба в настоящее время оценивается по результатам фазы IIb/III клинического испытания, в которое были включены пациенты с метастатическим раком легкого после прогрессирования на фоне первой или второй линии химиотерапии и гефитиниба либо эрлотиниба. В недавно проведенном исследовании было выявлено значимое увеличение ВБП в популяции пациентов с наличием мутаций в EGFR [44].

В вышеупомянутых исследованиях было отмечено, что от большинства таргетных препаратов не приходится ожидать клинической эффективности в отношении общей популяции больных. В связи с этим традиционные исследования фазы I/II не могут разграничить, какие из веществ способны влиять на предполагаемую мишень, а какие нет. В противоположность им клинические фармакодинамические исследования позволяют судить о способности потенциального терапевтического агента воздействовать на молекулярную мишень и определить на основании данных о влиянии таргетных препаратов на злокачественные опухоли у человека, какие из препаратов заслуживают проведения полноценного клинического исследования. В частности, фаза 0 фармакодинамических исследований в совокупности с измерением достигнутой концентрации потенциального лекарства в биоптате опухоли при неудачной попытке модификации мишени предоставляют важную информацию об исследуемом веществе [45]. Таким образом, возможно определить, что является причиной отсутствия противоопухолевого эффекта: неспособность препарата достичь опухоли или неспособность воздействовать на мишень, несмотря на адекватную концентрацию

в опухолевой ткани. Цель фазы 0 фармакодинамического клинического исследования — получить доказательства активности препарата в отношении необходимой молекулярной мишени. В связи с этим результаты оценки фармакодинамики могут являться первичным, а иногда и единственным объектом на данном этапе протокола. Этот факт отражается в сдвиге парадигмы с классических корреляционных клинических исследований на исследования с новым дизайном, при которых оценка фармакодинамики препарата осуществляется на ранних фазах с использованием фрагментов ткани для доказательства индукции препаратом молекулярных изменений.

Тем не менее фаза 0 исследований с фармакодинамическими конечными точками нуждается в надежном, валидированном методе оценки способности препарата модифицировать свою молекулярную мишень. Поэтому методология до инициации клинических исследований должна быть оптимизирована и стандартизирована на доклинических моделях с использованием клинических методов забора, обработки и хранения тканевых образцов [46]. Данная процедура позволит, например, установить, достаточно ли количества ткани, получаемой путем чрескожной биопсии иглой 18-го калибра, для точной оценки эффекта на молекулярную мишень, или подтвердить, что интервенционные радиологические процедуры на данный эффект не влияют. Для проведения указанных тестов необходимы значительные ресурсы, сложные и чувствительные инструменты, а также многопрофильная группа специалистов, что ограничивает возможность проведения фазы 0 исследований лишь в небольшом числе научных учреждений.

Таргетные препараты к ключевым молекулам в нисходящих сигнальных путях

Несмотря на многообещающие результаты использования таргетных препаратов к рецепторам факторов роста в виде увеличения ожидаемой продолжительности жизни у определенной группы пациентов, возможности предотвращать развитие резистентности все еще ограничены. Расширение знаний о ключевых компонентах нисходящих путей, например PI3K/AKT/mTOR и фактор роста гепатоцитов-Met, делает их привлекательными молекулярными мишенями при разработке новых препаратов, способных ослабить резистентность или вовсе предотвратить ее развитие. В частности, недавно опубликованные данные доклинических исследований свидетельствуют о том, что использование комбинаций ингибиторов различных сигнальных путей представляет наиболее эффективную терапевтическую стратегию, поскольку помогает обойти явление невосприимчивости к лечению [47, 48]. В связи с этим в данном разделе будут кратко освещены каскады митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК — mitogen-activated protein kinase), одни из наиболее изученных сигнальных путей, вовлеченных в процесс опухолевой прогрессии, а также недавние достижения в разработке их ингибиторов, которые могут быть успешно использованы в качестве противоопухолевых агентов. Так, сигнальный путь ERK1/2МАРК (обычно называемый каноническим МАРК-каскадом) состоит из трех киназ: МАР-киназы (МАРККК) (A-Raf, B-Raf и Raf-1), двух МАРКК (киназа МАРКЕРK1/2, MEK1/2) и двух терминальных МАРК (ERK1/2). Существующие данные подтверждают, что

данный сигнальный путь представляет не просто трехуровневый каскад передачи сигнала от поверхности клетки к ядру, а включает в себя множество белков-посредников, представляющих собой целую пространственно-временную сеть из активаторов и ингибиторов [49]. Вслед за активацией поверхностного рецептора адаптерные белки (например, Grb2 — белок-2, связанный с рецептором фактора роста) активируют гуанозинтрифосфатазы Ras семейства (K-Ras, N-Ras, H-Ras). Активированные белки Ras, в свою очередь, связывают и активируют киназы семейства Raf. Согласно каноническому МАРК-каскаду, связывание Ras является достаточным для активации B-Raf, в то время как для активации Raf-1 (C-Raf) и A-Raf необходима более сложная цепочка превращений. После активации все белки семейства Raf способны активировать MEK-белки, но наиболее эффективным в данном случае является B-Raf. Raf-киназы связываются с MEK и за одно взаимодействие фосфорилируют два остатка серина. У млекопитающих описано две изоформы MEK (MEK1/2), как правило, принимаемые за один белок вследствие их высокой структурной идентичности. Однако в недавно проведенном анализе были выявлены некоторые различия в их регуляции [50, 51].

Более того, за последние десятилетия традиционный взгляд на канонический МАРК-каскад как на простую ось передачи сигнала от рецепторов факторов роста через Ras, Raf, MEK и ERK был значительно пересмотрен. Основанием для этого послужило описание множества пространственно-временных модуляторов данного сигнального пути. Прежде всего было доказано существование нескольких каркасных белков, каждый из которых способен изменять активность и локализацию ERK 1/2.

Уже давно основным каркасным белком каскада был признан киназный супрессор Ras-1 (KSR1), способный связывать все киназы данного пути, таким образом, ускоряя и поддерживая передачу сигнала [52]. Другие протеины данной группы, такие как Sef, IQGAP1 и LSP1, способны перемещать компоненты канонического каскада MAPK в различные компартменты клетки. Кроме того, описано множество ингибиторов/модуляторов отдельных компонентов данного сигнального пути, включая белок ингибитор Raf-киназы (RKIP), блокирующий Raf-опосредованное фосфорилирование MEK путем нарушения физического взаимодействия Raf-MEK. Интересно отметить, что уровень RKIP снижен в метастазах, это указывает на его возможную роль в подавлении опухолевого роста [53]. Однако, согласно недавнему исследованию, данный белок может оказывать влияние на обеспечение синергетического эффекта Raf-ингибитора сорафениба и эрлотиниба при терапии НМРЛ [54].

В опухолях, как правило, нарушается регуляция нескольких участников канонического MAPK-каскада, а также вышележащих активаторов. Кроме того, к конститутивной активации данного сигнального пути могут приводить различные драйверные мутации. Наиболее известные aberrации связаны с конститутивной активацией белков семейства Ras и Raf. Такие мутации к настоящему времени подробно описаны. Среди трех генов человека семейства Ras на долю KRAS приходится наибольшее число перестроек (например, около 85% форм рака поджелудочной железы имеют мутантный KRAS). Большинство соматических мутаций наблюдается в 12-м кодоне 2-го экзона. 12-й кодон дикого типа кодирует остаток глицина, что обеспечивает минимум простран-

ственных затруднений внутри ГТФ-гидролизующего кармана. Ряд миссенс-мутаций приводит к образованию аминокислотного остатка с боковыми цепями, что нарушает способность белка к гидролизу ГТФ, конститутивно активирующему молекулу. Реже встречаются мутации в 61-м кодоне (3-й экзон) и 146-м кодоне (4-й экзон) [55]. Среди семейства Raf наибольшее число значимых мутаций приходится на ген *BRAF* (кодирующий B-raf). До 90% перестроек происходит в 600-м кодоне, что приводит к замене валина на глутаминовую кислоту (мутация V600E) (ингибиторы BRAF V600 вемурафениб, дабрафениб, дабрафениб + траметиниб применяются для лечения меланомы, а также при наличии данной мутации и НМРЛ. — *Прим. науч. ред.*). Остаток валина играет ключевое значение в поддержании B-raf в неактивном состоянии. Таким образом, мутантный B-Raf приводит к Ras-независимой активации MEK. Данный механизм не является очевидным для A-Raf или C-Raf, что связано с более высокой базальной киназной активностью B-Raf. В действительности серин в позиции 445 в B-Raf уже конститутивно фосфорилирован, в то время как в гомологичном C-Raf для трансдукции сигнала аминокислотный остаток еще нуждается в фосфорилировании. Образование мутантного B-raf рассматривается как возможное иницирующее событие в развитии меланомы [56]. В генах, кодирующих MEK и ERK, мутации возникают гораздо реже. Было отмечено, что с небольшой частотой при меланоме, раке легкого и колоректальном раке обнаруживается перестройка в 2-м экзоне гена *MAP2K1*, кодирующего MEK1 [57, 58].

Обнаруживаемые с высокой частотой в опухолевых клетках aberrации в сигнальном пути ERK послужили сильным

толчком к разработке лекарственных средств, подавляющих активность компонентов данного каскада. В частности, первой наиболее привлекательной мишенью стали белки семейства Ras, поскольку они активируют целый ряд нисходящих путей выживания. В последние десятилетия возможность ингибирования Ras была протестирована путем нарушения посттрансляционных модификаций данных белков. Другой мишенью являются киназы Raf. Сорафениб — первый разрешенный для применения в клинической практике ингибитор B-Raf — оказался неселективным и в настоящее время рассматривается как мультикиназный ингибитор, реализующий свою противоопухолевую активность в основном за счет подавления проангиогенных рецепторных киназ — VEGFR 2, 3 (рецепторов фактора роста эндотелия сосудов 2-го и 3-го типа), β -рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFRB) и c-kit [59]. Более селективным ингибитором B-Raf является вемурафениб, способный подавлять активность V600E мутантного белка. Данный препарат одобрен в 2011 г. FDA в качестве терапии первой линии при метастатической или неоперабельной меланоме у пациентов — носителей мутаций в гене *BRAF* [60] (при наличии мутации BRAF V600 в НМПЛ в Российской Федерации одобрена комбинация дабрафениба с траметинибом. — *Прим. науч. ред.*).

Другой перспективной мишенью в данном каскаде является MEK. Наличие у данного белка уникальной активационной петли делает его ингибиторы особо специфичными [61]. Кроме того, поскольку ERK1/2 находится в тесном взаимодействии с MEK1/2, ингибирование MEK предоставляет ценную возможность воздействовать и на ERK, для которых, в свою очередь, специфиче-

ских ингибиторов не описано. У двух первых открытых ингибиторов данного класса (PD98059[®] и U0126[®]) был выявлен большой потенциал, но плохой фармакологический профиль. Затем был получен препарат для перорального применения CI-1040[®] (PD184352), высокая активность которого была отмечена в I фазе исследований. Тем не менее в связи с неудовлетворительными фармакокинетическими свойствами его разработка была прервана на фазе II [62]. После этого были разработаны препараты II поколения — PD0325901[®] и селуметиниб[®] (AZD6244, ARRY-142886). PD0325901[®] превосходил CI-1040[®] по своей активности в 50 раз, но в связи с высокой токсичностью его разработка была остановлена [63]. II фаза исследования селуметиниба[®] у пациентов с меланомой, НМПЛ и колоректальным раком была завершена. Эффективность данного препарата была сопоставима с существующей стандартной терапией, но не превосходила ее, хотя предполагается, что эффективность может быть выше у пациентов с мутантным B-Raf [64].

Интересно отметить: недавно было высказано предположение, что ингибиторы B-Raf и MEK могут обладать дополнительным терапевтическим эффектом, а именно способностью контролировать активность спящих метастатических клеток [65]. Предполагается, что данное неактивное состояние клеток связано с низкой экспрессией ERK и высокой p38. В этой связи применение ингибиторов ERK во время периода ремиссии может обеспечивать дополнительный контроль над спящими клетками, в то время как ингибиторы p38 стоит использовать с осторожностью, поскольку они могут потенцировать развитие метастазов [65]. Тем не менее стратегии, направленные на активацию

p38 и подавление JNK, могут стимулировать TRAIL-индуцированный апоптоз при НМРЛ [66].

Ингибиторы ангиогенеза

Опухолевый ангиогенез представляет собой многоступенчатый процесс формирования новых кровеносных сосудов из предсуществующей сосудистой сети. Благодаря наличию у новообразований такой способности, злокачественные клетки могут покидать первичный очаг, попадать в циркуляцию и мигрировать к другим органам. Для ряда опухолей способность к новообразованию сосудов (оцениваемая по их плотности) является важной прогностической характеристикой, в том числе для оценки метастатического потенциала [67]. Роль ангиогенеза в прогрессии заболевания и метастазировании определяет его привлекательность в качестве терапевтической мишени. Одним из основных факторов, способствующих формированию сосудистой сети у млекопитающих, являются гликопротеины семейства VEGF. В него входят пять белков: VEGF-A (наиболее часто называемый VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D (также известный как FIGF) и плацентарный фактор роста (PlGF или PGF). Данные лиганды способны связывать и активировать три рецепторные тирозинкиназы, известные как VEGFR-1 (или FLT-1), VEGFR-2 (или KDR) и VEGFR-3 (или FLT-4). VEGFR-2 в основном экспрессируется клетками сосудистой сети и является ключевым медиатором VEGF-индуцируемого ангиогенеза. Активация данного и нисходящего сигнальных путей способствует новообразованию сосудистого русла за счет влияния на ряд процессов: пролиферацию, выживание, миграцию и инвазию эндотелиальных клеток, повышение проницаемости

предсуществующих сосудов, стимулирование хемотаксиса и перемещения из костного мозга клеток-предшественников [68]. Кроме того, VEGF за счет иммуносупрессивного действия, а также посредством аутокринного влияния (стимуляция выживания, миграции и инвазии злокачественных клеток) может выступать и как фактор роста самой опухоли. Принимая во внимание все его вышеописанные функции, было приложено немало усилий для разработки лекарственных средств для лечения рака, мишенью которых стал бы данный сигнальный каскад. В частности, были получены антитела к VEGF и VEGFR, растворимые и гибридные рецепторы VEGF, а также VEGF-селективные ИТК [68].

Бевацизумаб — гуманизированное мышиное антитело, которое связывает и ингибирует VEGF. В настоящее время препарат разрешен FDA в качестве терапии первой линии у пациентов с метастатическим колоректальным раком. Решение было принято на основании рандомизированного исследования III фазы, в которое были включены 813 пациентов с метастатическим колоректальным раком, ранее не получавших лечение. В рамках данного исследования все участники получали терапию по схеме IFL (иринотекан, фторурацил болюсно и лейковорин[®]), при этом одна половина из них в комбинации с бевацизумабом, а вторая — с плацебо. В группе пациентов, получавших таргетный препарат, наблюдалось значимое увеличение медианы ОВ почти на 5 мес (20,3 против 15,6 мес), чему соответствовало отношение рисков (ОР) развития летального исхода 0,66 ($p < 0,001$) или, другими словами, снижение риска смерти на 34%. Медиана ВВП в группах IFL + бевацизумаб и IFL + плацебо составила 10,6 и 6,2 мес

соответственно. Добавление к схеме бевацизумаба сопровождалось также увеличением частоты развития ответа на терапию (44,8 против 34,8%; $p=0,004$) и медианы продолжительности ремиссии (10,4 против 7,1 мес) [69]. Недавно проводилось исследование эффективности и безопасности бевацизумаба в комбинации с химиотерапией первой линии на основе оксалиплатина [по схеме XELOX (капецитабин + оксалиплатин) или FOLFOX-4 (фторурацил/фолиевая кислота + оксалиплатин)]. В данном исследовании в группе, получавшей бевацизумаб, было получено статистически значимое увеличение медианы ВВП заболевания. Однако статистически значимого увеличения ОБ или частоты ремиссий при добавлении моноклонального антитела не наблюдалось [70].

Эффективность бевацизумаба в комбинации с химиотерапией второй линии в режиме FOLFOX-4 при метастатическом колоректальном раке была оценена в рамках исследования Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) E3200. В фазе III исследования 829 пациентов с иринотекан-рефрактерной опухолью были случайным образом распределены в три группы: получающих терапию по схеме FOLFOX-4 + бевацизумаб; только FOLFOX-4 или только бевацизумаб.

Медиана ОБ составила соответственно 12,9; 10,8 (ОР летального исхода 0,75; $p=0,0011$) и 10,2 мес, медиана ВВП 7,3; 4,7 (ОР прогрессии = 0,61; $p < 0,0001$) и 2,7 мес, а частота ответа (ЧО) на терапию 22,7; 8,6 и 3,3%. Таким образом, комбинация из химиотерапии и таргетного агента превзошла две другие схемы по всем критериям оценки эффективности [71].

В связи с этим 20 июня 2006 г. бевацизумаб был одобрен FDA для лече-

ния метастатического колоректального рака в комбинации с внутривенной химиотерапией второй линии на основе фторурацила.

При комбинации бевацизумаба со стандартной химиотерапией увеличивалась выживаемость пациентов с НМРЛ. В базовом исследовании фазы III ECOG 4599 пациентов с данной нозологией были рандомизированы в группы, получавшие только химиотерапию или в комбинации с моноклональным антителом. Согласно результатам исследования, добавление к схеме бевацизумаба сопровождалось увеличением ОБ с 10,3 до 12,3 мес и частоты развития ответа с 15 до 35% [72]. На основании данного исследования бевацизумаб был одобрен FDA и EMA в качестве терапии первой линии при распространенном НМРЛ [73].

В настоящее время в клиническую практику внедрены также мультикиназные ингибиторы сорафениб и сунитиниб, активные в отношении VEGFR в том числе. У пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, которым в связи с распространенностью процесса не показано радикальное лечение или проведение трансартериальной химиоэмболизации, монотерапия сорафенибом приводит к увеличению ОБ и замедляет прогрессирование заболевания [74]. Таким образом, сорафениб представляет собой существенный прогресс в лечении данных опухолей и является новым стандартом лечения такого состояния [74]. В плацебо-контролируемом исследовании фазы III было выявлено, что сорафениб увеличивает ВВП также у пациентов с распространенным светлоклеточным ПКР (медиана ВВП 5,5 мес для сорафениба против 2,8 для плацебо, ОР для группы сорафениба 0,44; $p < 0,01$) [75]. Мультикиназный ингибитор сунитиниб также был изучен на различных

видах опухолей и был одобрен FDA для лечения ПКР [76]. Сунитиниб активен в отношении тирозинкиназных доменов как PDGF-R, так и VEGFR, что приводит к снижению васкуляризации, непосредственной гибели опухолевых клеток и в конечном итоге к уменьшению опухоли. Кроме того, данный ингибитор способен подавлять рецепторную тирозинкиназу KIT, ассоциированную с развитием гастроинтестинальных стромальных опухолей. Пациентам с такими опухолями при наличии мутации в гене *KIT*, которая приводит к развитию резистентности к иматинибу, а также при непереносимости других препаратов сунитиниб рекомендован в качестве терапии второй линии.

Фармакокинетика

Большая часть информации по фармакокинетике новых таргетных агентов получена в результате экспериментов *in vitro*, доклинических испытаний на животных, исследовании межлекарственных взаимодействий и массового баланса (общее поступление, общее выведение) на здоровых добровольцах при однократном введении. Как правило, ИТК являются субстратами нескольких транспортеров лекарственных средств и ферментов биотрансформации, в части случаев подавляя их активность. В этой связи распределение и метаболизм данных веществ при достижении равновесной концентрации определяются многими параметрами и являются непредсказуемыми. Перенос результатов таких исследований в клиническую практику осложняется еще и тем, что регулярный ежедневный прием препаратов сопровождается аутоингибирующим эффектом, а следовательно, изменением фармакокинетических параметров и межлекарственных взаимодействий.

Больше всего информации доступно о тех ИТК, с момента регистрации которых прошло много времени, поэтому в следующих разделах будет освещена основная информация по фармакокинетике ИТК EGFR гефитиниба и эрлотиниба [77, 78].

Биодоступность

Растворимость как эрлотиниба, так и гефитиниба зависит от pH. Таким образом, препараты, меняющие pH желудочного сока, могут существенно снизить концентрацию ИТК EGFR в плазме крови. В этой связи необходимо избегать одновременного приема эрлотиниба/гефитиниба с блокаторами H₂-гистаминовых рецепторов или ингибиторами протонной помпы.

Биодоступность и площадь под кривой эрлотиниба могут увеличиваться при приеме препарата во время еды. Большинство онкологов рекомендуют применять эрлотиниб на пустой желудок — не менее чем за 1 ч или через 2 ч после еды. В этом случае его биодоступность составляет 60%, а при одновременном приеме с пищей почти 100%, что увеличивает выраженность побочных эффектов. Равновесная концентрация эрлотиниба достигается на 7–8-й день. Период полувыведения составляет 31 ч. В плазме и опухолевой ткани эрлотиниб распределяется в отношении 1:1. 95% препарата связывается с белками плазмы (с альбумином и α -1 кислым протеином). В связи с развитием побочных эффектов примерно 6–16% пациентов может потребоваться снижение дозы препарата. Допустимым является уменьшение дозы на 30%.

В отличие от эрлотиниба, на биодоступность гефитиниба прием пищи влияния не оказывает. При пероральном применении всасывание происходит медленно, максимальная концен-

трация в плазме достигается через 3–7 ч. Период полувыведения составляет 48 ч, биодоступность — 60%. Гефитиниб экстенсивно распределяется в тканях, связывание с белками плазмы — примерно 90%.

Метаболизм и выведение из организма

Метаболизм эрлотиниба и гефитиниба осуществляется преимущественно ферментом CYP3A4, в меньшей степени CYP3A5 и CYP1A1 [79]. Эрлотиниб метаболизируется в основном в печени различными ферментами системы цитохрома P450 (в основном CYP3A4); кроме того, катаболизм может осуществляться в кишечнике и опухолевыми клетками при раке легкого. Более того, индуцировать фермент CYP1A1 может и курение, снижая при этом экспозицию эрлотиниба [80]. Выводится эрлотиниб преимущественно с каловыми массами — более 90%, остальные 10% с мочой. Менее 2% экскретируется в неметаболизированном виде. Гефитиниб выводится также главным образом с калом и лишь 4% с мочой.

Эрлотиниб является липофильным препаратом, при этом его липофильность приблизительно в 3 раза ниже, чем у гефитиниба, что позволяет объяснить некоторые различия данных препаратов в фармакокинетике и фармакодинамике. Более высокая липофильность связана с лучшей восприимчивостью к метаболическим системам организма, повышенной экскрецией с желчью и меньшей концентрацией в плазме препарата в несвязанной форме. В действительности эрлотиниб менее подвержен действию печеночных цитохромов, с чем связана меньшая скорость его выведения.

К другим факторам, оказывающим влияние на фармакокинетику эрлоти-

ниба, относятся курение, концентрация общего билирубина и α -1 кислого гликопротеина. Повышение двух последних показателей в сыворотке связано со снижением клиренса препарата. Кроме того, в недавно проведенном исследовании были собраны интересные данные о связи фармакокинетики эрлотиниба и курения: у курильщиков экспозиция эрлотиниба снижается на 50–60%, а максимально переносимая доза увеличивается до 300 мг [80].

Фармакогенетика

Таргетные препараты не могут быть назначены всем пациентам, не принимая во внимание характеристики опухоли. В действительности активность данной группы лекарственных средств определяется различными клиническими и биологическими параметрами, например наличием активирующей мутации в гене *EGFR* для гефитиниба и эрлотиниба. Тем не менее не все свойства препаратов, включая переносимость, объясняются данными характеристиками, а поиск новых маркеров представляет широкое поле для исследований.

Привлекательной областью являются оценка генетических полиморфизмов и использование их в качестве прогностических маркеров, особенно при распространенных опухолях, когда диагноз ставится на основе биопсии, а сама опухоль не удаляется или удаляется, но после проведения химиотерапии. В таких условиях получение материала для исследования затруднено. Полиморфизмы представляют собой различные аллели одного и того же гена, передаются по наследству и, поскольку генотип является статической характеристикой, не способны изменяться при воздействии каких-либо факторов, например

химиотерапии, а также не могут отражать изменения ДНК опухоли, такие как потеря гетерозиготности. Предыдущие исследования показали отсутствие какого-либо различия при анализе однонуклеотидного полиморфизма (SNP — Single nucleotide polymorphism) в опухоли и нормальной ткани [81]. В связи с этим для анализа полиморфизмов может быть использован образец крови, а следовательно, метод легче адаптировать для клинической практики, нежели анализ генной экспрессии опухоли на микрочипах, поскольку при нем нет необходимости в проведении

биопсии с последующей лазерной микродиссекцией.

С клиническим исходом после терапии ИТК связаны полиморфизмы ряда генов, в том числе *EGFR* (рис. 3.2). Данный раздел посвящен их взаимосвязи с токсичностью и ответом на лечение gefитинибом. Тем не менее знания о влиянии данных полиморфизмов на клинический ответ потенциально могут быть расширены и на другие ИТК со схожей структурой и активностью (в числе многих из постоянно растущего списка: эрлотиниб, сорафениб, сунитиниб, иматиниб, лапатиниб, вандетаниб и канертиниб).

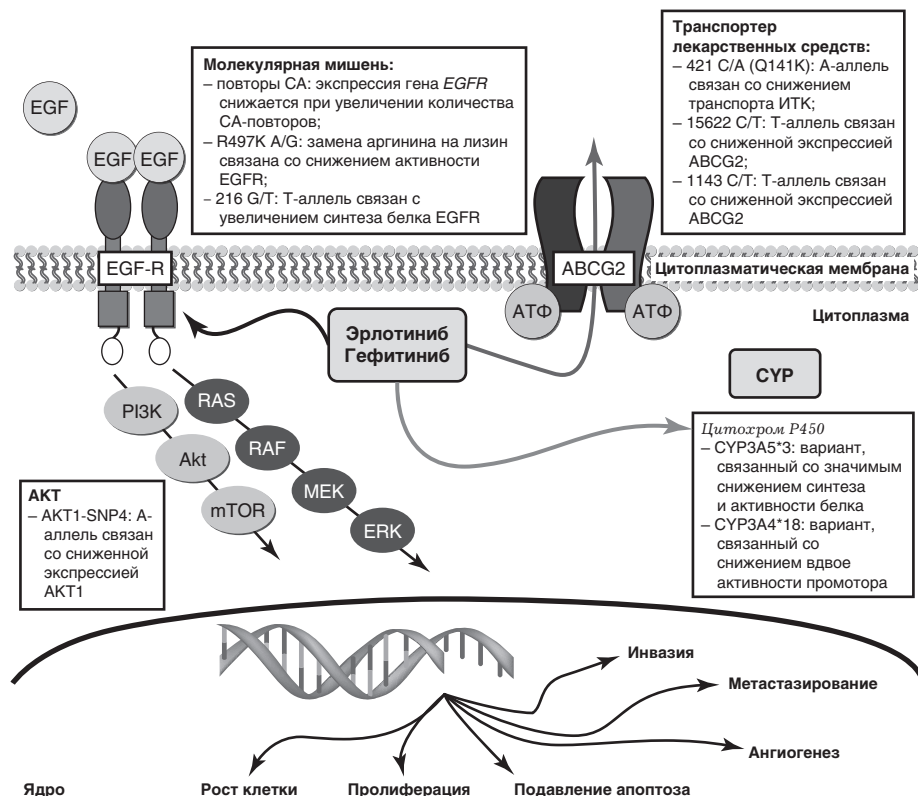


Рис. 3.2. Некоторые наиболее значимые полиморфизмы ключевых генов, влияющие на фармакокинетику и фармакодинамику ингибиторов тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста и связанные с ответом на терапию gefитинибом и эрлотинибом, а также с токсичностью данных препаратов при немелкоклеточном раке легкого (адаптировано из [109])

Оценке вариантов строения регуляторной области EGFR посвящено несколько исследований. Регуляторные области гена *EGFR* расположены в 5'-фланкирующем регионе и интроне-1, и оба полиморфизма -191C/A и -216G/T находятся в сайте начала транскрипции промоторной части гена. Полиморфизм -191C/A связан с повышением экспрессии EGFR и активности, в то время как A-G-вариант приводит к замене аргинина на лизин в кодоне 497 (R497K) и связан со снижением активности EGFR [82, 83]. Схожим образом генотип -216G/T располагается в сайте связывания транскрипционного фактора Sp1, а T-аллель ассоциирован с повышенной экспрессией мРНК EGFR [84]. Оценка роли полиморфизмов -216G/T, -191C/A и R497K была проведена у 92 белых пациентов с распространенным НМРЛ, получавших лечение гефитинибом. Вариант -216G/T был связан с увеличением ВВП, а T-аллель со значимо более высокой частотой стабилизации болезни/частичным ответом на терапию ($p=0,01$) и более высоким риском развития побочных эффектов в виде сыпи или диареи ($p=0,004$) [85]. Согласно недавно проведенному исследованию с участием 98 японских пациентов, получавших гефитиниб и прошедших скрининг на наличие мутаций в гене *EGFR* и полиморфизмы -216G/T и -191C/A, мутация в гене *EGFR* служила прогностическим фактором для оценки чувствительности к препарату, ОВ и ВВП, но между полиморфизмами -216G/T и -191C/A и клиническим ответом связи обнаружено не было [86]. В другом исследовании, включавшем 175 белых пациентов с НМРЛ, получавших гефитиниб, были проанализированы те же полиморфизмы, и значимо более низкая ЧО на терапию наблюдалась у пациентов с G-C-гаплотипом [87].

Область интрона-1 EGFR, содержащая 14–21 CA-повторов, является высокополиморфной [88]. Аллели, содержащие меньшее количество динуклеотидных CA-повторов в данном регионе (с наименьшей частотой обнаруживаются в азиатской популяции), ассоциированы с повышением транскрипции EGFR [89]. В частности, для более длинного аллеля, содержащего 21 повтор, характерно снижение экспрессии данного гена на 80% по сравнению с более коротким аллелем, содержащим 16 повторов [90, 91]. Согласно большинству исследований, лучший ответ на терапию гефитинибом у пациентов с НМРЛ отмечается при генотипе с минимальным количеством CA-повторов в гене *EGFR* [92–94]. Взаимосвязь клинических результатов с различными генетическими факторами, включая EGFR-CA-варианты, впервые была описана Ичихара (Ichihara) и соавт. у 98 японских пациентов с НМРЛ, получавших терапию гефитинибом. В данном исследовании пациенты с наличием активирующей мутации в гене *EGFR* были разделены на группы в соответствии с длиной аллелей. В группе с короткими аллелями (менее 19 CA-повторов или менее 39 при сумме двух аллелей) наблюдалась тенденция к значимо более высокой ОВ ($p=0,13$), нежели в группе с длинными аллелями (19 и более повторов или более 39 при сумме двух аллелей) [86]. В основу другой работы по оценке взаимосвязи наличия мутации в гене *EGFR*, количества CA-повторов с ответом на лечение гефитинибом положен анализ 86 корейских пациентов с распространенным НМРЛ. В этом исследовании короткими считались аллели при сумме повторов в двух аллелях 37 и ниже, а длинными — 38 и выше, при этом результаты согласовывались с предыдущей работой. Так,

чувствительность к gefитинибу и ОВ оказались зависимыми от наличия активирующей мутации в гене *EGFR*, а в группе с короткими аллелями отмечен лучший ответ на терапию и более медленное прогрессирование [92]. Аналогичные результаты были получены и в китайском исследовании Ни (Nie) и соавт. с участием 70 пациентов с НМРЛ, получавших gefитиниб: с коротким аллелем (не более 16 СА-повторов) была связана значимо большая ЧО. У таких пациентов также наблюдались более выраженная экспрессия *EGFR* и лучшая ОВ, нежели в группе с длинными аллелями. Доказательств зависимости клинических результатов от полиморфизма R497K или экспрессии *EGFR* получено не было [95]. Связь длины аллелей с ОВ и ВВП была отмечена также и в другом исследовании с участием 92 белых пациентов, получавших gefитиниб по поводу НМРЛ. Значимо лучшие результаты наблюдались в группе с числом СА-повторов 16 и менее [85]. При этом самый крупный фармакогенетический анализ (175 белых пациентов, получавших gefитиниб) не показал зависимости клинических результатов от количества повторов в 1-м интроне ни при объединении в группы с суммарным числом повторов на двух аллелях ≤ 35 и > 35 , ни при разделении на группы < 18 и ≥ 18 повторов в каждом аллеле [87].

Прогностически значимыми также являются полиморфизмы в генах, находящихся в сигнальном пути ниже, например, *AKT1* в генах, отвечающих за репарацию ДНК, или в генах, кодирующих синтез *ABCG2* — транспортера, участвующего в элиминации gefитиниба из клетки. В нескольких работах была отмечена связь гаплотипа, включающего два функциональных полиморфизма *AKT-SNP3* и *SNP4*, с более низким содержанием у белого населе-

ния в тканях белка Akt, а также с более низкой апоптотической активностью в EBV-трансформированной культуре лимфоцитов при воздействии ионизирующего излучения [96, 97]. Кроме того, в исследовании 96 белых пациентов генотип *AKT1-SNP4* A/A был связан с более низкой ОВ, при этом других потенциально неблагоприятных прогностических факторов, способных объяснить это явление в данной группе ($n=6$), не отмечалось, поскольку все основные демографические и биологические характеристики соответствовали таковым в изучаемой популяции. Более того, по данным многофакторного анализа, полиморфизм *AKT1-SNP4* также следует рассматривать как независимый прогностический признак прогрессии и риска летального исхода [81]. В недавно проведенном клиническом исследовании пациентов с раком пищевода, получавших лечение фторпиримидином[®], препаратами платины и таксанами без ИТК *EGFR*, была выявлена зависимость между развитием рецидива, значимо более низкой выживаемостью и полиморфизмами в гене *AKT1*. Аналогично в недавно проведенном корейском исследовании было отмечено, что полиморфизмы в данном гене могут быть использованы в качестве прогностических маркеров и у пациентов с ранней стадией НМРЛ. Согласно данным двух работ, варианты строения генов сигнального пути *PI3K/AKT* могут выступать в качестве предикторов ответа на терапию различными препаратами [98, 99]. Тем не менее полученные результаты все еще нуждаются в валидации на большей когорте пациентов в проспективных мультицентровых исследованиях, так же как и в дополнительных исследованиях по типу случай—контроль.

Описан ряд SNP для гена *ABCG2*, которые влияют на экспрессию, функ-

цию и локализацию соответствующего белка. ABCG2 относится к семейству АТФ-связывающих кассетных транспортеров (ABC), а его гиперэкспрессия в большинстве случаев ассоциируется с резистентностью к широкому спектру противоопухолевых препаратов, включая камптотецины, антрациклины и антифолаты. Недавно было высказано предположение о наличии взаимосвязи ИТК EGFR с ABCG2. В клинически достижимых концентрациях (≤ 1 мкмоль) гефитиниб является субстратом ABCG2, в большей же концентрации (> 1 μM) гефитиниб выступает в роли ингибитора данного транспортера [100]. Таким образом, резистентность к гефитинибу как *in vitro*, так и *in vivo* может быть вызвана экспрессией ABCG2. Кроме того, поскольку гефитиниб — препарат для перорального приема, а для ABCG2 характерна высокая экспрессия в желудочно-кишечном тракте, где он участвует в поглощении некоторых ксенобиотиков, необходимо также учитывать важную роль данного белка в абсорбции и элиминации препарата. В частности, полиморфизм ABCG2 421 С/А, приводящий к замене глутамина на лизин в 141-й позиции (Q141K), связан со снижением экспрессии и/или активности ABCG2, а также с повышением аккумуляции как гефитиниба, так и эрлотиниба [101]. Тем не менее в исследовании на тканевых матрицах, включавших 50 образцов рака легкого, зависимости между полиморфизмом ABCG2 421 С/А и экспрессией белка, а также результатом терапии гефитинибом отмечено не было [102].

Еще ряд работ был посвящен оценке взаимосвязи определенных полиморфизмов с токсичностью гефитиниба. В действительности, даже учитывая тот факт, что гефитиниб, будучи таргетным препаратом, обладает меньшим числом побочных явлений, нежели стандартные

химиотерапевтические агенты, его применение может приводить к появлению сыпи или к диарее. В настоящее время о причине развития данных эффектов известно мало, а их выраженность сильно варьирует между пациентами, что может быть объяснено фармакогенетической гетерогенностью больных. Оценке взаимосвязи генетических факторов с наличием кожной сыпи посвящена работа Хуанг (Huang) и соавт. с участием 52 пациентов с НМРЛ. Пациентов исследовали на количество СА-повторов в 1-м интроне EGFR, а также на наличие однонуклеотидных замен -216G/T, -191C/A и R521K. Среди всех полиморфизмов только длина аллелей коррелировала с частотой развития сыпи 2–3-й степени тяжести, а именно у пациентов с генотипом L/L (19–22 повтора) кожная токсичность (от умеренной до выраженной) отмечалась в 21% случаев, с генотипом S/L (15–18 повторов) — в 31%, с генотипом S/S (<15 повторов) — в 71% [104]. Следует отметить, что раннее появление сыпи 2–3-й степени тяжести было связано с чувствительностью к терапии, а не с длиной аллелей EGFR ($p=0,35$). Зависимости между данными полиморфизмами и развитием диареи обнаружено не было. В то же время в другой работе была выявлена взаимосвязь 216 G/T вариантом EGFR с значимо более высоким риском развития как сыпи, так и диареи. В исследование были включены 92 пациента с НМРЛ, получавших терапию гефитинибом [85]. Схожие результаты были получены и в исследовании авторов с участием 96 пациентов с НМРЛ, получавших гефитиниб. Диарея средней и тяжелой степени значимо чаще наблюдалась у пациентов с EGFR 191C/A, A/A, EGFR 216 G/G и R497K A/A [81]. Данные результаты могут быть объяснены патогенезом диареи, вызываемой ингибиторами EGFR. Считает-

ся, что она связана с избыточной секрецией хлоридов, то есть по своей природе является секреторной. Таким образом, диарея может быть результатом повышенной экспрессии EGFR в просвете кишки, связанной с отмеченными выше вариантами строения промоторной области данного гена [105]. В противоположность этому нарушение связывания лиганда EGFR в образцах колоректального рака было вызвано А-аллелем при полиморфизме R497К, приводящим к нарушению фосфорилирования данного рецептора. У пациентов с НМРЛ, получавших гефитиниб, Кузатис (Cusatis) и соавт. выявили выраженную зависимость между 421 С/А-вариантом ABCG2 и диареей [106]. В частности, ими было отмечено, что из 108 пациентов с ABCG2 дикого типа в гомозиготном состоянии диарея развилась только у 13 (12%), а из 16 пациентов, гетерозиготных по данному гену (с наличием 421 С/А-варианта), данный побочный эффект был отмечен у 7 (44%). Авторы предположили, что в последнем случае нарушение АТФазной активности в кишечнике совместно со сниженным уровнем соответствующего белка за счет влияния на абсорбцию и/или элиминацию гефитиниба приводят к повышению равновесной концентрации препарата, что и вызывает диарею. В то же время в исследовании на популяции из 94 белых пациентов с НМРЛ зависимости между полиморфизмом 421С/А в гене ABCG2 и развитием токсических эффектов на терапию гефитинибом обнаружено не было [102]. Тем не менее в той же популяции авторами была обнаружена связь диареи (от умеренной до тяжелой) с полиморфизмом ABCG2 15622С/Т и гаплотипом ABCG2 (1143С/Т, -15622С/Т).

В конечном счете как гефитиниб, так и эрлотиниб метаболизируются ферментами системы цитохрома, главным

образом CYP3A4, CYP3A5 и CYP1A, при этом в метаболизме эрлотиниба, но не гефитиниба, принимает участие еще CYP1A2. Поскольку гены указанных ферментов полиморфны, распределение определенных вариантов их аллелей может объяснить разницу в фармакокинетике и активности ИТК. Тем не менее *in vivo* влияние некоторых полиморфизмов на результат терапии ИТК остается в большей степени невыясненным. Согласно исследованию Рудина (Rudin) и соавт., полиморфизмы в гене CYP3A4 лишь в незначительной степени связаны с развитием сыпи при применении эрлотиниба [105]. В группе пациентов с относительно низким уровнем экспрессии CYP3A4 (А/А) отмечалась тенденция к более частому появлению сыпи, нежели у пациентов с высоким уровнем экспрессии (А/Г и Г/Г, $p=0,077$). Схожим образом полиморфизм CYP3A5 3G был сильнее связан с развитием кожной сыпи ≥ 2 -й степени тяжести ($p=0,094$, доминантная модель) и диареи любой выраженности ($p=0,062$). Наличие данных тенденций является предпосылкой для дальнейшего изучения роли полиморфизмов генов CYP3A4 и CYP3A5 в определении активности ИТК EGFR, а также других ИТК.

Подводя итог, необходимо отметить, что, несмотря на многообещающие результаты некоторых работ, небольшой размер выборки, наличие межэтнических различий, а также ретроспективный характер большинства исследований не позволяют сделать какие-либо определенные выводы касательно роли данных фармакогенетических маркеров в прогнозировании эффекта терапии или токсических реакций при назначении гефитиниба. Следует надеяться, что тщательное планирование новых проспективных исследований, расширение знаний о ключевых механизмах,

влияющих на перераспределение/активность лекарственных веществ, а также использование новых технологий, включая возможности полногеномного анализа, будут способствовать увеличению перспектив фармакогенетического анализа при изучении новых таргетных препаратов.

Заключение

Недавние открытия в биологии злокачественных новообразований позволили определить ключевые механизмы онкогенеза и потенциальные молекулярные мишени для противоопухолевой терапии. Новые таргетные препараты произвели революцию в лечении определенных типов опухолей, внесли свой вклад в улучшение выживаемости и позволили выделить подгруппы в имеющихся нозологических единицах. Например, в подгруппе с мутантным геном *EGFR* и подгруппе с химерным геном *EML4-ALK*, на долю которых приходится 15 и 4% всех аденокарцином легкого соответственно, мутационный статус определяет ответ на таргетную терапию селективными ингибиторами. Данные результаты привели к регистрации ИТК *EGFR* эрлотиниба и гефитиниба (и афатиниба. — *Прим. науч. ред.*), а также ингибитора *ALK* кризотиниба в качестве терапии первой линии у соответствующих пациентов с НМРЛ [107].

Тем не менее онкологи до сих пор сталкиваются на практике с индивидуальными различиями в действии лекарственных препаратов, а также с возникновением всевозможных механизмов устойчивости к ним, в ряде случаев общих для таргетных и химиотерапевтических агентов [108]. Одной из наиболее часто описываемых причин резистентности является возникновение вторичных мутаций в онкогене-мишени. Кроме

того, возможно существование альтернативных механизмов активации генов, лежащих в сигнальном пути ниже, или вовсе компенсаторная активация других сигнальных каскадов. Недавние исследования также пролили свет на существование обратимых, эпигенетических механизмов, например явление эпителиально-мезенхимального перехода, а также существование раковых (опухолевых) стволовых клеток. Все эти наблюдения в совокупности подчеркивают насущную необходимость в продолжении исследований по выяснению механизмов, определяющих прогрессию заболевания на фоне проводимого лечения. Это позволит преодолеть резистентность к терапии или вовсе предотвратить ее развитие у отдельных пациентов, согласно специфическим молекулярным характеристикам опухоли.

Таким образом, с целью рационализации использования современного арсенала высокоселективных таргетных противоопухолевых препаратов общепринятое морфологическое исследование опухоли должно сопровождаться точной фармакологической оценкой, включая анализ различных сигнальных путей, способствующих дерегуляции пролиферации клеток. Поскольку на передовой так называемой персонализированной медицины стоят новейшие полногеномные исследования, важным шагом в дальнейшем улучшении лечения отдельных пациентов является интеграция данных технологий в классические фармакодинамический, фармакокинетический и фармакогенетический анализы.

Список литературы

1. Brunton L., Chabner B., Knollman B. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. New York : McGraw-Hill, 2011.

2. Chabner B.A., Roberts T.G. Jr. Timeline: chemotherapy and the war on cancer // *Nat. Rev. Cancer*. 2005. Vol. 5, N 1. P. 65–72.
3. DeVita V.T. Jr, Chu E. A history of cancer chemotherapy // *Cancer Res*. 2008. Vol. 68, N 21. P. 8643–8653.
4. Krause D.S., Van Etten R.A. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy // *N. Engl. J. Med*. 2005. Vol. 353. P. 172–187.
5. Della Pina P., Vizzardi E., Raddino R., Gavazzone M. et al. Biological drugs: classic adverse effects and new clinical evidences // *Cardiovasc. Toxicol*. 2012. Vol. 12, N 4. P. 285–297.
6. Dietel M., Jöhrens K., Laffert M., Hummel M. et al. Predictive molecular pathology and its role in targeted cancer therapy: a review focusing on clinical relevance // *Cancer Gene Ther*. 2013. doi: 10.1038/cgt.2013.13.
7. Andre F., Grunewald D., Pignon J.P., Dujon A. et al. Survival of patients with resected N2 non-small-cell lung cancer: evidence for a subclassification and implications // *J. Clin. Oncol*. 2000. Vol. 18, N 16. P. 2981–2989.
8. Shimizu K., Yoshida J., Nagai K., Nishimura M. et al. Visceral pleural invasion is an invasive and aggressive indicator of nonsmall cell lung cancer // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. 2005. Vol. 130, N 1. P. 160–165.
9. Scagliotti G.V., Parikh P., von Pawel J., Biesma B. et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy naive patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer // *J. Clin. Oncol*. 2008. Vol. 26, N 21. P. 3543–3551.
10. Tsuruo T. Molecular cancer therapeutics: recent progress and targets in drug resistance // *Intern. Med*. 2003. Vol. 42, N 3. P. 237–243.
11. Gutierrez M.E., Kummar S., Giaccone G. Next generation oncology drug development: opportunities and challenges // *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2009. Vol. 6, N 5. P. 259–265.
12. Eng C. The evolving role of monoclonal antibodies in colorectal cancer: early presumptions and impact on clinical trial development // *Oncologist*. 2010. Vol. 15, N 1. P. 73–84.
13. Pirker R., Pereira J.R., Szczesna A., von Pawel J. et al.; FLEX Study Team. Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer (FLEX): an open-label randomized phase III trial // *Lancet*. 2009. Vol. 373, N 9674. P. 1525–1531.
14. Ku G.Y., Haaland B.A., de Lima Lopes G. Jr. Gefitinib vs chemotherapy as first-line therapy in advanced non-small cell lung cancer : meta-analysis of phase III trials // *Lung Cancer*. 2011. Vol. 74, N 3. P. 469–473.
15. Reck M., Mok T., Wolf J., Heigener D. et al. Reviewing the safety of erlotinib in non-small cell lung cancer // *Expert Opin. Drug Saf*. 2011. Vol. 10, N 1. P. 147–157.
16. Reck M., von Pawel J., Zatloukal P., Ramlau R. et al. Phase III trial of cisplatin plus gemcitabine with either placebo or bevacizumab as first line therapy for nonsquamous non-small-cell lung cancer : AVAIL // *J. Clin. Oncol*. 2009. Vol. 27, N 8. P. 1227–1234.
17. Gandhi L., Jänne P.A. Crizotinib for ALK-rearranged non-small cell lung cancer : a new targeted therapy for a new target // *Clin. Cancer Res*. 2012. Vol. 18, N 14. P. 3737–3742.
18. Sharma S.V., Haber D.A., Settleman J. Cell line-based platforms to evaluate the therapeutic efficacy of candidate anticancer agents // *Nat. Rev. Cancer*. 2010. Vol. 10, N 4. P. 241–253.
19. Giaccone G., Soria J.C. Targeted Therapies in Oncology. New York : Informa Healthcare; London : Taylor and Francis, 2007.
20. Soria J.C., Blay J.Y., Spano J.P., Pivrot X. et al. Added value of molecular targeted agents in oncology // *Ann. Oncol*. 2011. Vol. 22, N 8. P. 1703–1716.
21. Hynes N.E., Lane H.A. ERBB receptors and cancer : the complexity of targeted inhibitors // *Nat. Rev. Cancer*. 2005. Vol. 5, N 5. P. 341–354.
22. Weiner L.M. Building better magic bullets — improving unconjugated monoclonal antibody therapy for cancer // *Nat. Rev. Cancer*. 2007. Vol. 7, N 9. P. 701–706.
23. Sliwkowski M.X., Lofgren J.A., Lewis G.D., Hotaling T.E. et al. Nonclinical studies addressing the mechanism of action of trastuzumab (Herceptin) // *Semin. Oncol*. 1999. Vol. 26, N 4. Suppl. 12. P. 60–70.
24. Clynes R.A., Towers T.L., Presta L.G., Ravetch J.V. Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets // *Nat. Med*. 2000. Vol. 6, N 4. P. 443–446.
25. Baselga J., Cortés J., Kim S.B., Im S.A. et al.; CLEOPATRA Study Group. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer // *N. Engl. J. Med*. 2012. Vol. 366, N 2. P. 109–119.
26. Yuste L., Montero J.C., Esparís-Ogando A., Pandiella A. Activation of ErbB2 by overexpression or by transmembrane neuregulin results in differential signaling and sensitivity to

- herceptin // *Cancer Res.* 2005. Vol. 65, N 15. P. 6801–6810.
27. Baselga J., Swain S.M. Novel anticancer targets: revisiting ERBB2 and discovering ERBB3 // *Nat. Rev. Cancer.* 2009. Vol. 9, N 7. P. 463–475.
 28. Izumi Y., Xu L., di Tomaso E., Fukumura D. et al. Tumour biology : herceptin acts as an anti-angiogenic cocktail // *Nature.* 2002. Vol. 416, N 6878. P. 279–280.
 29. Pietras R.J., Poen J.C., Gallardo D., Wongvipat P.N. et al. Monoclonal antibody to HER-2/neureceptor modulates repair of radiation-induced DNA damage and enhances radiosensitivity of human breast cancer cells overexpressing this oncogene // *Cancer Res.* 1999. Vol. 59, N 6. P. 1347–1355.
 30. Slamon D.J., Leyland-Jones B., Shak S., Fuchs H. et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2 // *N. Engl. J. Med.* 2001. Vol. 344, N 11. P. 783–792.
 31. Heinemann V., Di Gioia D., Vehling-Kaiser U. et al. A prospective multicenter phase II study of oral and i.v. irinotecan plus trastuzumab as first-line therapy in HER2-overexpressing metastatic breast cancer // *Ann. Oncol.* 2011. Vol. 22, N 3. P. 603–608.
 32. Ocaña A., Pandiella A. Targeting HER receptors in cancer // *Curr. Pharm. Des.* 2013. Vol. 19, N 5. P. 808–817.
 33. Slamon D., Eiermann W., Robert N. et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer // *N. Engl. J. Med.* 2011. Vol. 365. P. 1273–1283.
 34. Bang Y.J., Van Cutsem E., Feyereislova A., Chung H.C. et al.; ToGA Trial Investigators. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial // *Lancet.* 2010. Vol. 376, N 9742. P. 687–697.
 35. Jonker D.J., O'Callaghan C.J., Karapetis C.S., Zalcberg J.R. et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer // *N. Engl. J. Med.* 2007. Vol. 357, N 20. P. 2040–2048.
 36. Van Cutsem E., Köhne C.H., Láng I., Folprecht G. et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status // *J. Clin. Oncol.* 2011. Vol. 29, N 15. P. 2011–2019.
 37. Frampton J.E. Cetuximab : a review of its use in squamous cell carcinoma of the head and neck // *Drugs.* 2010. Vol. 70, N 15. P. 1987–2010.
 38. Zhang J., Yang P.L., Gray N.S. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors // *Nat. Rev. Cancer.* 2009. Vol. 9, N 1. P. 28–39.
 39. Geyer C.E., Forster J., Lindquist D., Chan S. et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer // *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 355, N 26. P. 2733–2743.
 40. Johnston S., Phipps J. Jr, Pivot X., Lichinitser M. et al. Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2009. Vol. 27, N 33. P. 5538–5546.
 41. Sun C., Ansari D., Andersson R., Wu D.-Q. Does gemcitabine-based combination therapy improve the prognosis of unresectable pancreatic cancer? // *World J. Gastroenterol.* 2012. Vol. 18, N 35. P. 4944–4958.
 42. Galvani E., Alfieri R., Giovannetti E., Cavazzoni A. et al. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: current status and future perspectives in the development of novel irreversible inhibitors for the treatment of mutant non-small cell lung cancer // *Curr. Pharm. Des.* 2013. Vol. 19, N 5. P. 818–832.
 43. Galvani E., Giovannetti E., Sacconi F., Cavazzoni A. et al. Molecular mechanisms underlying the antitumor activity of 3-amino-propanamide irreversible inhibitors of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer // *Neoplasia.* 2013. Vol. 15, N 1. P. 61–72.
 44. Miller V.A., Hirsh V., Cadranel J., Chen Y.M. et al. Afatinib versus placebo for patients with advanced, metastatic non-small-cell lung cancer after failure of erlotinib, gefitinib, or both, and one or two lines of chemotherapy (LUXLung 1) : a phase 2b/3 randomised trial // *Lancet Oncol.* 2012. Vol. 13, N 5. P. 528–538.
 45. Doroshow J.H., Parchment R.E. Oncologic phase 0 trials incorporating clinical pharmacodynamics : from concept to the patient // *Clin. Cancer Res.* 2008. Vol. 14, N 12. P. 3658–3663.
 46. Kummar S., Doroshow J.H., Tomaszewski J.E., Calvert A.H. et al.; on behalf of the Task Force on Methodology for the Development of Innovative Cancer Therapies (MDICT).

- Phase 0 clinical trials: recommendations from the Task Force on methodology for the development of innovative cancer therapies // *Eur. J. Cancer*. 2009. Vol. 45, N 5. P. 741–746.
47. Diaz L.A. Jr, Williams R.T., Wu J., Kinde I. et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers // *Nature*. 2012. Vol. 486, N 7404. P. 537–540.
 48. Liska D., Chen C.T., Bachleitner-Hofmann T., Christensen J.G. et al. HGF rescues colorectal cancer cells from EGFR inhibition via MET activation // *Clin. Cancer Res*. 2011. Vol. 17, N 3. P. 472–482.
 49. Kolch W. Coordinating ERK/MAPK signaling through scaffolds and inhibitors // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol*. 2005. Vol. 6, N 11. P. 827–837.
 50. Alessi D.R., Saito Y., Campbell D.G., Cohen P. et al. Identification of the sites in MAP kinase kinase-1 phosphorylated by p74raf-1 // *EMBO J*. 1994. Vol. 13, N 7. P. 1610–1619.
 51. Sturgill T.W. MAP kinase : it's been longer than fifteen minutes // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2008. Vol. 371, N 1. P. 1–4.
 52. Therrien M., Michaud N.R., Rubin G.M. et al. KSR modulates signal propagation within the MAPK cascade // *Genes Dev*. 1996. Vol. 10, N 21. P. 2684–2695.
 53. Fu Z., Smith P.C., Zhang L., Rubin M.A. et al. Effects of raf kinase inhibitor protein expression on suppression of prostate cancer metastasis // *J. Natl Cancer Inst*. 2003. Vol. 95, N 12. P. 878–889.
 54. Giovannetti E., Labots M., Dekker H., Galvani E. et al. Molecular mechanisms and modulation of key pathways underlying the synergistic interaction of sorafenib with erlotinib in non-small-cell-lung cancer (NSCLC) cells // *Curr. Pharm. Des*. 2013. Vol. 19, N 5. P. 927–939.
 55. Vakiani E., Solit D.B. KRAS and BRAF: drug targets and predictive biomarkers // *J. Pathol*. 2011. Vol. 223, N 2. P. 219–229. doi: 10.1002/path.2796.
 56. Michaloglou C., Vredeveld L.C., Soengas M.S., Denoyelle C. et al. BRAFE600-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi // *Nature*. 2005. Vol. 436, N 7051. P. 720–724.
 57. Sasaki H., Hikosaka Y., Kawano O., Moriyama S. et al. MEK1 and AKT2 mutations in Japanese lung cancer // *J. Thorac. Oncol*. 2010. Vol. 5, N 5. P. 597–600.
 58. Murugan A.K., Dong J., Xie J., Xing M. MEK1 mutations, but not ERK2 mutations, occur in melanomas and colon carcinomas, but none in thyroid carcinomas // *Cell Cycle*. 2009. Vol. 8, N 13. P. 2122–2124.
 59. Wilhelm S.M., Carter C., Tang L., Wilkie D. et al. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis // *Cancer Res*. 2004. Vol. 64, N 19. P. 7099–7109.
 60. Zamboni A., Niculescu-Duvaz I., Niculescu-Duvaz D., Marais R. et al. Small molecule inhibitors of BRAF in clinical trials // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2012. Vol. 22, N 2. P. 789–792.
 61. Ohren J.F., Chen H., Pavlovsky A., Whitehead C. et al. Structures of human MAP kinase kinase 1 (MEK1) and MEK2 describe novel noncompetitive kinase inhibition // *Nat. Struct. Mol. Biol*. 2004. Vol. 11, N 12. P. 1192–1197.
 62. Rinehart J., Adjei A.A., Lorusso P.M., Waterhouse D. et al. Multicenter phase II study of the oral MEK inhibitor, CI-1040, in patients with advanced non-small-cell lung, breast, colon, and pancreatic cancer // *J. Clin. Oncol*. 2004. Vol. 22, N 22. P. 4456–4462.
 63. Wang D., Boerner S.A., Winkler J.D., Lorusso P.M. Clinical experience of MEK inhibitors in cancer therapy // *Biochim. Biophys. Acta*. 2007. Vol. 1773, N 8. P. 1248–1255.
 64. Solit D.B., Garraway L.A., Pratilas C.A., Sawai A. et al. BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition // *Nature*. 2006. Vol. 439, N 7074. P. 358–362.
 65. Sosa M.S., Avivar-Valderas A., Bragado P., Wen H.C. et al. ERK1/2 and p38 α / β signaling in tumor cell quiescence : opportunities to control dormant residual disease // *Clin. Cancer Res*. 2011. Vol. 17, N 18. P. 5850–5857.
 66. Azijli K., Yuvaraj S., van Roosmalen I., Flach K. et al. MAPK p38 and JNK have opposing activities on TRAIL-induced apoptosis activation in NSCLC H460 cells that involves RIP1 and caspase-8 and is mediated by Mcl-1 // *Apoptosis*. 2013. Vol. 18. P. 851–860.
 67. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis // *Semin. Oncol*. 2002. Vol. 29, N 6. Suppl. 16. P. 15–18.
 68. Ellis L.M., Hicklin D.J. VEGF-targeted therapy: mechanisms of anti-tumour activity // *Nat. Rev. Cancer*. 2008. Vol. 8, N 8. P. 579–591.
 69. Hurwitz H., Fehrenbacher L., Novotny W., Cartwright T. et al. Bevacizumab plus irinote-

- can, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer // *N. Engl. J. Med.* 2004. Vol. 350, N 23. P. 2335–2342.
70. Saltz L.B., Clarke S., Diaz-Rubio E., Scheithauer W. et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study // *J. Clin. Oncol.* 2008. Vol. 26, N 12. P. 2013–2019.
71. Giantonio B.J., Catalano P.J., Meropol N.J., O'Dwyer P.J. et al.; Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer : results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200 // *J. Clin. Oncol.* 2007. Vol. 25, N 12. P. 1539–1544.
72. Sandler A., Gray R., Perry M.C., Brahmer J. et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer // *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 355, N 24. P. 2542–2550.
73. Soria J.C., Mauguen A., Reck M., Sandler A.B. et al.; meta-analysis of bevacizumab in advanced NSCLC collaborative group. Systematic review and meta-analysis of randomised, phase II/III trials adding bevacizumab to platinum-based chemotherapy as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer // *Ann. Oncol.* 2013. Vol. 24, N 1. P. 20–30.
74. Keating G.M., Santoro A. Sorafenib: a review of its use in advanced hepatocellular carcinoma // *Drugs.* 2009. Vol. 69, N 2. P. 223–240.
75. Escudier B., Eisen T., Stadler W.M., Szczylik C. et al.; TARGET Study Group. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma // *N. Engl. J. Med.* 2007. Vol. 356, N 2. P. 125–134.
76. Gan H.K., Seruga B., Knox J.J. Sunitinib in solid tumors // *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2009. Vol. 18, N 6. P. 821–834.
77. van Erp N.P., Gelderblom H., Guchelaar H.J. Clinical pharmacokinetics of tyrosine kinase inhibitors // *Cancer Treat. Rev.* 2009. Vol. 35, N 8. P. 692–706.
78. Scheffler M., Di Gion P., Doroshyenko O., Wolf J. et al. Clinical pharmacokinetics of tyrosine kinase inhibitors : focus on 4-anilinoquinazolines // *Clin. Pharmacokinet.* 2011. Vol. 50, N 6. P. 371–403.
79. Li J., Zhao M., He P., Hidalgo M. et al. Differential metabolism of gefitinib and erlotinib by human cytochrome P450 enzymes // *Clin. Cancer Res.* 2007. Vol. 13, N 12. P. 3731–3737.
80. Hamilton M., Wolf J.L., Rusk J., Beard S.E. et al. Effects of smoking on the pharmacokinetics of erlotinib // *Clin. Cancer Res.* 2006. Vol. 12, N 7 Pt 1. P. 2166–2171.
81. Giovannetti E., Zucali P.A., Peters G.J., Cortesi F. et al. Association of polymorphisms in AKT1 and EGFR with clinical outcome and toxicity in non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib // *Mol. Cancer Ther.* 2010. Vol. 9, N 3. P. 581–593.
82. Nomura M., Shigematsu H., Li L., Suzuki M. et al. Polymorphisms, mutations, and amplification of the EGFR gene in non-small cell lung cancers // *PLoS Med.* 2007. Vol. 4, N 4. Article ID e125.
83. Moriai T., Kobrin M.S., Hope C., Speck L. et al. A variant epidermal growth factor receptor exhibits altered type a transforming growth factor binding and transmembrane signaling // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1994. Vol. 91, N 21. P. 10 217–10 221.
84. Liu W., Innocenti F., Wu M.H., Desai A.A. et al. A functional common polymorphism in a Sp1 recognition site of the epidermal growth factor receptor gene promoter // *Cancer Res.* 2005. Vol. 65, N 1. P. 46–53.
85. Liu G., Gurubhagavatula S., Zhou W., Wang Z. et al. Epidermal growth factor receptor polymorphisms and clinical outcomes in non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib // *Pharmacogenomics J.* 2008. Vol. 8, N 2. P. 129–138.
86. Ichihara S., Toyooka S., Fujiwara Y., Hotta K. et al. The impact of epidermal growth factor receptor gene status on gefitinib-treated Japanese patients with non-small-cell lung cancer // *Int. J. Cancer.* 2007. Vol. 120, N 6. P. 1239–1247.
87. Gregorc V., Hidalgo M., Spreafico A., Cusatis G. et al. Germline polymorphisms in EGFR and survival in patients with lung cancer receiving gefitinib // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2008. Vol. 83, N 3. P. 477–484.
88. Gebhardt F., Bürger H., Brandt B. Modulation of EGFR gene transcription by secondary structures, a polymorphic repetitive sequence and mutations — a link between genetics and epigenetics // *Histol. Histopathol.* 2000. Vol. 15, N 3. P. 929–936.
89. Amador M.L., Oppenheimer D., Perea S., Maitra A. et al. An epidermal growth factor receptor intron 1 polymorphism mediates

- response to epidermal growth factor receptor inhibitors // *Cancer Res.* 2004. Vol. 64, N 24. P. 9139–9143.
90. Gebhardt F., Zänker K.S., Brandt B. Modulation of epidermal growth factor receptor gene transcription by a polymorphic dinucleotide repeat in intron 1 // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274, N 19. P. 13 176–13 180.
91. Buerger H., Gebhardt F., Schmidt H., Beckmann A. et al. Length and loss of heterozygosity of an intron 1 polymorphic sequence of egfr is related to cytogenetic alterations and epithelial growth factor receptor expression // *Cancer Res.* 2000. Vol. 60, N 4. P. 854–857.
92. Han S.W., Jeon Y.K., Lee K.H., Keam B. et al. Intron 1 CA dinucleotide repeat polymorphism and mutations of epidermal growth factor receptor and gefitinib responsiveness in non-small-cell lung cancer // *Pharmacogenet. Genomics.* 2007. Vol. 17, N 5. P. 313–319.
93. Ma F., Sun T., Shi Y., Yu D. et al. Polymorphisms of EGFR predict clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib // *Lung Cancer.* 2009. Vol. 66, N 1. P. 114–119.
94. Dubey S., Stephenson P., Levy D.E., Miller J.A. et al.; Eastern Cooperative Oncology Group. EGFR dinucleotide repeat polymorphism as a prognostic indicator in non-small cell lung cancer // *J. Thorac. Oncol.* 2006. Vol. 1, N 5. P. 406–412.
95. Nie Q., Wang Z., Zhang G.C., An S.J. et al. The epidermal growth factor receptor intron1 (CA) n microsatellite polymorphism is a potential predictor of treatment outcome in patients with advanced lung cancer treated with gefitinib // *Eur. J. Pharmacol.* 2007. Vol. 570, N 1–3. P. 175–181.
96. Harris S.L., Gil G., Robins H., Hu W. et al. Detection of functional single-nucleotide polymorphisms that affect apoptosis // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102, N 45. P. 16 297–16 302.
97. Emamian E.S., Hall D., Birnbaum M.J., Karayiorgou M. et al. Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3beta signaling in schizophrenia // *Nat. Genet.* 2004. Vol. 36, N 2. P. 131–137.
98. Hildebrandt M.A., Yang H., Hung M.C., Izzo J.G. et al. Genetic variations in the PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway are associated with clinical outcomes in esophageal cancer patients treated with chemoradiotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2009. Vol. 27, N 6. P. 857–871.
99. Kim M.J., Kang H.G., Lee S.Y., Jeon H.S. et al. AKT1 polymorphisms and survival of early stage non-small cell lung cancer // *J. Surg. Oncol.* 2012. Vol. 105, N 2. P. 167–174.
100. Lemos C., Jansen G., Peters G.J. Drug transporters: recent advances concerning BCRP and tyrosine kinase inhibitors // *Br. J. Cancer.* 2008. Vol. 98, N 5. P. 857–862.
101. Li J., Cusatis G., Brahmer J., Sparreboom A. et al. Association of variant ABCG2 and the pharmacokinetics of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in cancer patients // *Cancer Biol. Ther.* 2007. Vol. 6, N 3. P. 432–438.
102. Lemos C., Giovannetti E., Zucali P.A., Assaraf Y.G. et al. Impact of ABCG2 polymorphisms on the clinical outcome and toxicity of gefitinib in non-small-cell lung cancer patients // *Pharmacogenomics.* 2011. Vol. 12, N 2. P. 159–170.
103. Pérez-Soler R., Saltz L. Cutaneous adverse effects with HER1/EGFR-targeted agents: is there a silver lining? // *J. Clin. Oncol.* 2005. Vol. 23, N 22. P. 5235–5246.
104. Huang C.L., Yang C.H., Yeh K.H., Hu F.C. et al. EGFR intron 1 dinucleotide repeat polymorphism is associated with the occurrence of skin rash with gefitinib treatment // *Lung Cancer.* 2009. Vol. 64, N 3. P. 346–351.
105. Rudin C.M., Liu W., Desai A., Karrison T. et al. Pharmacogenomic and pharmacokinetic determinants of erlotinib toxicity // *J. Clin. Oncol.* 2008. Vol. 26, N 7. P. 1119–1127.
106. Cusatis G., Gregorc V., Li J., Spreafico A. et al. Pharmacogenetics of ABCG2 and adverse reactions to gefitinib // *J. Natl Cancer Inst.* 2006. Vol. 98, N 23. P. 1739–1742.
107. Saintigny P., Burger J.A. Recent advances in non-small cell lung cancer biology and clinical management // *Discov. Med.* 2012. Vol. 13, N 71. P. 287–297.
108. Broxterman H.J., Gotink K.J., Verheul H.M. Understanding the causes of multidrug resistance in cancer : a comparison of doxorubicin and sunitinib // *Drug Resist. Update.* 2009. Vol. 12, N 4–5. P. 114–126.
109. Galvani E., Peters G.J., Giovannetti E. EGF receptor-targeted therapy in non-small-cell lung cancer : role of germline polymorphisms in outcome and toxicity // *Future Oncol.* 2012. Vol. 8, N 8. P. 1015–1029.