

ФГБУ «НИИ онкологии  
им. Н.Н. Петрова»  
Минздравсоцразвития РФ

# СТАНДАРТНЫЕ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРЕДИКТИВНЫЕ МАРКЕРЫ ПРИ ОПУХОЛЯХ ЖЕЛУДОЧНО- КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Е.Н. Имянитов

*Разработка  
и совершенствование  
методов полногеномного  
секвенирования  
представляется главным  
событием молекулярной  
медицины после  
изобретения ПЦР*

## Введение

Опухоли желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются одним из наилучших примеров для демонстрации как успехов, так и проблем современной лекарственной терапии. Наиболее впечатляющий прогресс наблюдается для рака толстой кишки (РТК): если всего 20 лет назад средняя выживаемость пациентов с метастатическим РТК составляла около полугода, то с появлением новых препаратов - иринотекана, оксалиплатина, бевацизумаба и анти-EGFR антител - этот показатель стал превышать двухгодичную отметку [6, 13]. 4-кратное увеличение выживаемости - это фантастический прогресс! Представим, что в последующие 20 лет представится возможным сохранить подобную тенденцию и повысить выживаемость ещё в 4 раза - до 8 лет; этого окажется уже достаточным, чтобы большинство пациентов с метастатическим РТК успевали дожить до другой, «естественной» причины окончания жизни. Негативным аспектом, значительно осложняющим лечение больных с опухолями ЖКТ, является абсолютно диспропорциональное увеличение стоимости лекарств. Если в конце 1980 гг. этот показатель составлял примерно 100 долларов США в месяц, то сейчас применение таргетных препаратов и современных средств вспомогательной терапии может предусматривать ежемесячный бюджет в размере 10000 долларов и более. Применение предиктивных маркеров, позволяющих получать информацию о спектре лекарственной чувствительности опухоли в каждом конкретном клиническом случае, направлено на достижение лучшего баланса между клинической и экономической эффективностью лечения. Ожидается, что персонализированный подбор терапии на основе молекулярных тестов предоставит возможность увеличить частоту ответов на лечение и продолжительность жизни больных. Помимо этого, отказ от заведомо безрезультатных терапевтических схем подразумевает значительную оптимизацию расходов на лекарственные препараты [18].

## РАК ТОЛСТОЙ КИШКИ

### Фторпиримидины

Фторпиримидины (5-фторурацил (5-ФУ), капецитабин) можно рассматривать как «универсальный» противоопухолевый препарат - терапевтические схемы с применением лекарственных средств этой группы получают более половины всех онкологических больных. Переносимость и эффективность фторпиримидинов в значительной мере зависят от их системного и внутриопухолевого метаболизма. Ключевым ферментом распада 5-ФУ является дигидропиримидин-дегидрогеназа (DPD, dihydropyrimidine dehydrogenase). Некоторые индивидуумы имеют наследственный дефект, в результате которого обе (отцовская и материнская) копии гена DPD не могут продуцировать нормальный белок. Подобные люди, составляющие около 0.1% популяции, характеризуются выраженной непереносимостью фторпиримидинов: первое же введение стандартной дозы 5-ФУ может привести к летальному исходу. Выявление лиц с системной инактивацией DPD требует полного секвенирования соответствующего гена. Данная разновидность молекулярно-генетического анализа до недавнего времени оставалась недоступной из-за колоссальной стоимости и трудоёмкости. Стремительное удешевление методик обнаружения мутаций вследствие появления технологий массового

параллельного секвенирования позволяет надеяться, что исключение системного дефицита DPD войдёт в стандарты предварительного обследования онкологических больных уже в течение ближайших 3-4 лет. Следует оговориться, что генетическая инактивация DPD составляет не более половины всех случаев выраженной непереносимости фторпиримидинов, поэтому даже исчерпывающий анализ нуклеотидной последовательности данного гена не гарантирует полного отсутствия серьёзных осложнений от терапии 5-ФУ [40].

Совсем другим параметром, влияющим на исход лечения 5-фторурацилом и его производными, является внутриопухолевая активность DPD. Если системный дефицит DPD, определяемый наследственной мутацией в данном гене, представляет серьёзную опасность, то низкая активность DPD в самой опухолевой ткани способствует накоплению препарата внутри новообразования. Многие опухоли имеют пониженную экспрессию DPD по сравнению с нормальными тканями – именно эта особенность карцином создаёт определённое терапевтическое окно для фторпиримидинов. Многочисленные исследования показывают, что РТК с низким содержанием DPD демонстрируют более выраженный ответ на терапию 5-ФУ [23].

Другим молекулярным фактором, ассоциированным с чувствительностью РТК к 5-фторурацилу, является фермент тимидилат-синтаза (TS, thymidylate synthase). TS считается основной мишенью 5-ФУ. Высокая внутриопухолевая экспрессия TS зачастую сопряжена с резистентностью опухоли к фторпиримидинам. Это можно объяснить тем, что терапевтическая концентрация 5-фторурацила оказывается недостаточной для связывания избыточного количества молекул TS [27].

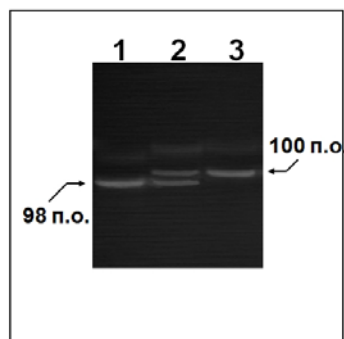
Многие исследования предиктивных маркеров ответа на лечение 5-ФУ включают другие ферменты-участники метаболизма фторпиримидинов, например OPRT (orotate phosphorybosyltransferase) [19]. В целом, развитие этой области клинической онкологии в последние годы не-

сколько приостановилось. Во-первых, 5-фторурацил и его производные стали значительно реже применяться в режиме монотерапии; соответственно, при ответе опухоли на назначение комбинации препаратов представляется затруднительным выявить, какой из компонентов лекарственной схемы оказал решающий вклад в успех лечения. Во-вторых, большинство исследователей предпочитают использовать для определения уровня экспрессии DPD, TS и других молекул наиболее простой и доступный метод – иммуногистохимию (ИГХ). К сожалению, именно ИГХ отличается плохой межлабораторной воспроизводимостью; это связано как с вариациями в спектре применяемых антител, так и со значительным субъективным компонентом в оценке интенсивности окрашивания. В-третьих, фторпиримидины являются «классическими» цитостатиками, поэтому их исследования не имеют поддержки со стороны крупных фармацевтических фирм.

### Иринотекан

Включение иринотекана – ингибитора топоизомеразы I – в стандартные схемы лечения метастатического РТК привело к драматическому увеличению выживаемости этой категории больных. Однако первые же испытания данного препарата, осуществлённые ещё в начале 1990-х гг., продемонстрировали значительную популяционную вариабельность в отношении переносимости терапии. Дальнейшие исследования установили, что одним из главных параметров, детерминирующих выраженность побочных эффектов при назначении иринотекана, является полиморфизм гена UGT1A1. UGT1A1 характеризуется популяционным разнообразием в отношении количества динуклеотидных повторов ТА в промоторной (регуляторной) области гена. Наиболее частым является аллель, содержащий 6 повторов ТА. Примерно 25-40% аллелей UGT1A1 представлены версией с 7 ТА-динуклеотидами. Примечательно, что аллель (ТА)<sub>7</sub> (часто обозначаемый как UGT1A1\*28) (рис. 1), ассоциирован с пониженной экспрессией соответствующего фермента,

## Выявление аллеля UGT1A1\*28



1 - генотип (ТА)<sub>6</sub>(ТА)<sub>6</sub> (98 п.о.)  
2 - генотип (ТА)<sub>6</sub>(ТА)<sub>7</sub> (98/100 п.о.)  
3 - генотип (ТА)<sub>7</sub>(ТА)<sub>7</sub> (100 п.о.)

Рис.1. Идентификация полиморфных аллелей гена UGT1A1

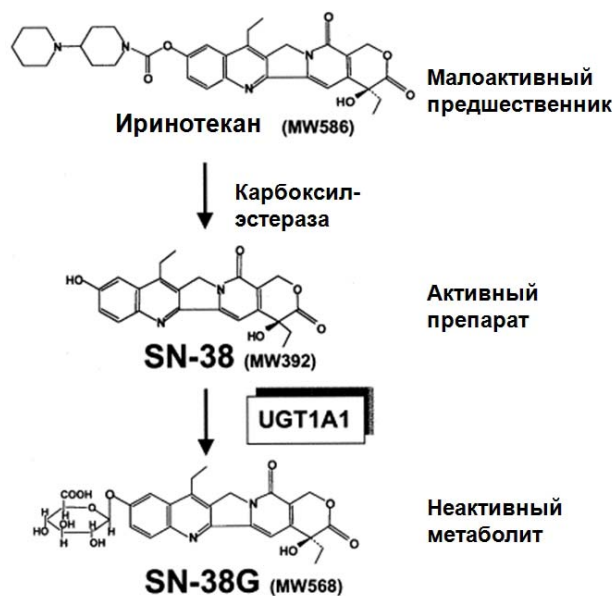


Рис.2. Метаболизм иринотекана

уридин-дифосфат-глюкуронозил-трансферазы 1A1 [19]. При гетерозиготном, и особенно при гомозиготном носительстве аллеля UGT1A1\*28 нарушается соотношение между свободной и глюкурон-конъюгированной формой SN-38; как следствие, наблюдается заметное увеличение концентрации цитостатика в организме, что сопровождается усилением побочных эффектов лечения (рис. 2).

Подавляющее большинство исследователей сходится на том, что присутствие вариантных аллелей гена UGT1A1 сопряжено с повышенной токсичностью иринотекана. Воспроизводимость подобных наблюдений привела к тому, что тест на полиморфизм UGT1A1 в 2005 г. получил официальную поддержку со стороны Food and Drug Administration (FDA) [35]. Для пациентов, которые являются гомозиготными носителями аллеля UGT1A1\*28, рекомендуется рассматривать вопрос о снижении стартовой дозировки препарата примерно на 20% [32]. Примечательно, что анализ гена UGT1A1 является первым фармакогенетическим тестом, рекомендованным к применению в терапии солидных опухолей.

Имеется небольшое число работ, посвящённых изучению не столько переносимости иринотекана, сколько анализу детерминант чувствительности РТК к этому препарату [17]. В частности, целый ряд предклинических и клинических наблюдений свидетельствует о том, что вероятность ответа на иринотекан может быть ассоциирована с внутриопухолевым уровнем экспрессии его мишени – топоизомеразы I. К сожалению, немногочисленность подобных исследований и разнородность методик определения статуса топоизомеразы I не позволяют сделать окончательных выводов по данному вопросу.

## Оксалиплатин

Оксалиплатин по своей эффективности абсолютно сопоставим с иринотеканом и в большинстве случаев может являться его альтернативой при планировании лечения. В нашей стране он применяется несколько чаще

иринотекана – подобные предпочтения со стороны пациентов и врачей связаны с более низким риском алопеции и тяжёлой диареи. Тем не менее, именно выбор между оксалиплатином и иринотеканом представляется наглядным примером клинических ситуаций, когда анализ предиктивного маркера мог бы оказаться решающим звеном в определении тактики лечения. Значительное число публикаций посвящено перспективности использования экспрессионного статуса ERCC1 – фермента репарации ДНК – для прогнозирования эффективности данного препарата. Считается, что низкий уровень ERCC1 ассоциирован с большей вероятностью ответа на лечение. Тем не менее, работы в данной области сталкиваются с такими же трудностями, как и исследования по применению фторпиримидинов [19]. Экспрессия другого популярного предиктивного маркера для производных платины – BRCA1 – при РТК пока не изучалась.

## Антитела к EGFR

Бесполезность иммуногистохимического определения уровня экспрессии EGFR

Антитела к EGFR – цетуксимаб и панитумумаб – вошли в стандарты лечения метастатического РТК в конце прошедшего десятилетия. Первые испытания этих препаратов организовывались по аналогии с наиболее успешными прототипами исследований таргетных лекарств – ингибиторов ароматазы и Герцептина. Идеология подобных клинических экспериментов предусматривает отбор на лечение только тех пациентов, опухоли которых действительно содержат белок-мишень; более того, карциномы с высокой экспрессией мишени (например, рецептора эстрогенов или тирозинкиназы HER2) обычно оказываются более чувствительными к специфическому препарату. Соответственно, наличие иммуногистохимического окрашивания опухоли по EGFR являлось обязательным условием включения больного в исследование. Однако, обработка результатов применения цетуксимаба и панитумумаба привела к совершенно неожиданным выводам: оказалось, что вероятность ответа на лечение ни в коей мере не зависит от уровня экспрессии EGFR. Более того, недавние проспективные исследования EGFR-негативных РТК выявили практически идентичные показатели эффективности анти-EGFR антител по сравнению с данными, полученными на EGFR-позитивных опухолях [5, 6, 16, 44].

Почему эффективность антагонистов EGFR не зависит от ИГХ-статуса белка-мишени?! По-видимому, в данном случае ИГХ-окрашивание не в полной мере коррелирует с ролью данного рецептора в патогенезе каждой отдельно взятой опухоли. Следует напомнить, что для тирозинкиназных рецепторов весьма характерно многообразие молекулярных изоформ. Не исключено, что доступные для ИГХ-анализа диагностические наборы не способны адекватно распознавать именно ту разновидность EGFR, которая ассоциирована с ответом на лечение. Помимо этого, сама система оценки результатов ИГХ может накладывать определённые ограничения. Это