

## Персонализированная терапия в онкологии: настоящее и будущее

М.Ю. ФЕДЯНИН

Отделение клинической фармакологии и химиотерапии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Персонализированная терапия представляет собой использование данных генетического анализа конкретного больного для выбора наиболее подходящей для заболевания терапии. Другими словами назначение правильного препарата, правильному больному, в нужное время и в нужном месте. Для определения того, какой необходим препарат (или комбинация препаратов) онкологическому больному, необходимо оценить активность сигнальных путей в клетке опухоли пациента.

Активность большого множества сигнальных путей играет важную роль в процессе канцерогенеза, прогрессирования опухоли и ответа на лечение. При разных видах злокачественных опухолей, зачастую, отмечается неодинаковая активность разных сигнальных путей в клетке. Иногда выявляется активность уникального сигнального пути в определенных опухолях, являющаяся результатом определенной, специфичной для данной опухоли, мутации. Все это является предметом изучения молекулярной онкологии.

Важной составляющей молекулярной онкологии является также исследование различий в экспрессии генов, компонентов сигнальных путей в различных опухолевых клетках. Интересным в этой связи можно считать работу исследователей из США, в которой проведено микрочипирование ДНК и одновременный анализ уровня экспрессии и статуса фосфорилирования 52 различных белков, вовлеченных в сигнальные пути 90 клеточных линий 12 различных злокачественных опухолей (1).

При проведении кластерного анализа, позволяющего разделить опухоли на различные типы на основании данных микрочипирования ДНК, выяснилось, что клеточные линии не группируются по гистологическому типу. Это объясняется тем, что активация генов изученных сигнальных путей, является общим процессом в существовании различных опухолей, культивируемых *in*

*vitro*. В тоже время удалось разделить клеточные линии опухолей в зависимости от активности белковых молекул различных сигнальных путей. По данным экспрессии и статуса фосфорилирования 30 наиболее отличающихся по экспрессии белков, выделены 2 группы клеточных линий: с повышенной активностью PI-3K-пути (phosphoinositol-3-kinase) в клеточных линиях ряда солидных опухолей, и сниженной активностью VEGF-пути (vascular endothelial growth factor) в клеточных линиях гематологических опухолей.

Другим важным наблюдением явилось наличие выраженной гетерогенности в активации EGFR-пути (epidermal growth factor receptor) между всеми клеточными линиями. Также выявлялась активация уникальных сигнальных путей, специфичных для определенных опухолей: p16B при ретинобластоме, активация EGFR-пути в клеточной линии рака поджелудочной железы. Авторы сделали вывод, что полученные данные дают важную информацию об индивидуальных особенностях определенной опухоли. А также дают представление, каким образом совмещение белковых и генных сигнатур помогает выявить комбинации биомаркеров и создать «карты» функциональных сигнальных путей в опухолевых клетках. Это в свою очередь помогает в разработке новых методов диагностики и терапии больных. В настоящее время появляются все больше и больше исследований по разработке подходов к персонализированной терапии больных с солидными опухолями.

В работе российских авторов, представленной на Российском онкологическом конгрессе в 2012 году, проведен анализ экспрессии РНК клеток биоптата опухоли больных раком мочевого пузыря (17 человек) и раком головы и шеи (40 человек). Оценена активность 74 сигнальных путей и определена возможность назначения пациентам таргетной терапии (25 препаратов,

зарегистрированных на территории РФ).

По результатам анализа, исследуемые пациенты были разделены на 2 группы, у кого таргетная терапия потенциально будет эффективна, а кому назначение таргетной терапии бесперспективно. Авторы пришли к выводу, что у большинства пациентов опухолями головы и шеи, а также части больных раком мочевого пузыря, наиболее эффективно корректирует патологические изменения в сигнальных путях препарат сунитиниб. Данное исследование было ретроспективным и было направлено на подтверждение способа оценки патологических изменений в про- и антимитотических сигнальных каскадах у онкологических пациентов, а также потенциальной способности таргетных препаратов компенсировать данные патологические изменения.

Следует согласиться с авторами, что назначение стандартной терапии всем больным не обладает достаточной эффективностью, а химиотерапия уже исчерпала свои возможности для улучшения результатов лечения больных с солидными опухолями. Появление таргетной терапии также не явилось прорывом в онкологии, так как блокирование одного рецептора сигнального пути привело к увеличению медианы продолжительности жизни от 2 недель до 4 месяцев для разных препаратов и локализаций опухоли. Персонализированный подход является кардинально новым по сравнению с традиционной терапией в онкологии, так как рассматривает заболевание у конкретного больного как отдельную нозологическую единицу, что требует и индивидуального подхода в лечении.

Для выявления группы больных, которым необходимо назначить таргетную терапию, авторы применили метод микрочипирования матричной РНК. Данная методика широко применяется для определения прогноза течения болезни, известны работы при раке мочевого пузыря и раке головы и шеи. Однако работ по предсказыванию эффективности таргетной терапии в данных нозологиях в литературе не представлено. Поэтому можно сказать, что данное исследование является в своем роде инновационным. Несмотря на всю привлекательность персонализированного подхода в онкологии, в настоящее время существует несколько моментов, препятствующих внедрению данного метода выбора терапии в клиническую практику.

Одним из таких препятствий является гетерогенность опухоли. Причем разговор идет не только о гетерогенности внутри опухоли, но и о различиях в активации тех или иных сигнальных путей в метастазах различной локализации.

Примером последнего служит работа, опубликованная в марте 2012 года в журнале *The New England Journal of Medicine* (3). Авторы изучили гетерогенность опухоли с помощью иммуногистохимического анализа, мутационного анализа и анализа экспрессии РНК. При этом было исследовано 12 образцов опухолевой ткани от одного больного раком почки: из первичной опухоли - 6 образцов, из метастазов мягких тканей передней грудной стенки - 2 образца и из метастаза в околопочечную жировую клетчатку - 1 образец. Выполнялась биопсия до начала терапии эверолимусом и после. Из 70 выявленных соматических мутаций, только 34% мутаций явились общими для всех образцов опухоли. Это показывает, что единичная биопсия первичной опухоли плохо отражает мутационный статус всего заболевания, по крайней мере, при раке почки.

Кроме этого гетерогенность опухоли была показана и при проведении анализа экспрессии РНК. Была применена сигнатура из 110 генов, предложенная в 2010 году, которая позволяла разделить больных раком почки на 2 группы: светлоклеточным раком А (благоприятный прогноз) и светлоклеточным раком В (неблагоприятный прогноз) (4). При этом в группу В вошли образцы из метастазов и одного участка из первичной опухоли.

Таким образом, определение прогноза по одному образцу из первичной опухоли может дать неправильные результаты. Авторы сделали вывод, что вследствие гетерогенности опухоли генетический анализ из одного образца может привести к недооценке всех мутационных изменений в геноме и работе сигнальных путей в опухолевых клетках. Справедливости ради, необходимо отметить, что такая гетерогенность присуща не всем опухолям. Так для рака толстой кишки в 90-95% случаях отмечается совпадение мутационного статуса генов EGFR, K-Ras, N-RAS, B-RAF между первичной опухолью и метастазами в печени (17).

Следующим препятствием к внедрению предложенного метода выбора терапии является изменение активности сигнальных путей и появление новых мутаций в геноме опухолевой клетки при проведении специфического лечения. В рассматриваемой работе авторы не указывают число больных, у которых была взята биопсия до химиотерапии или лучевой терапии, а у кого после. Однако имеется упоминание об одном больном раком мочевого пузыря, кому биопсия была выполнена после лучевой терапии. У данного пациента отмечена «аномальная» активация BRCA опосредованных механизмов репарации ДНК.

Интересно отметить, что при терапии доксорубицин-содержащими режимами изменений в активности сигнальных путей получено не было, в сравнении с больными раком мочевого пузыря у кого химиотерапия не проводилась. Исключением стал один пациент, у кого биопсия была взята после проведения 4 курсов терапии различными препаратами. По-видимому, такая находка объясняется цитостатическим характером действия химиопрепаратов, тогда как при применении таргетных препаратов в большинстве случаев возникающая резистентность связана с появлением новой мутации или активации другого сигнального пути. При этом необходимо отметить, что даже при выявлении специфической мутации в солидной опухоли, к которой имеется соответствующий таргетный препарат, в большинстве случаев разовьется резистентность.

В 2011 году опубликована работа по генетическому анализу повторных биопсий аденокарциномы легкого в процессе нескольких линий терапии. Изучены биопсии 37 больных диссеминированной аденокарциномы легкого с наличием активирующей мутации в гене EGFR (5). Резистентность к терапии первой линии анти-EGFR препаратами в 49% случаях была обусловлена возникновением мутации в гене EGFR (T790M), в 8% - амплификацией гена EGFR, в 5% - амплификацией гена MET, в 5% - мутацией в гене PI3K, в 14% - трансформацией в мелкоклеточный рак легкого, в 30% случаях механизм резистентности не был выявлен. Таким образом, при назначении таргетной терапии на основании данных генетического анализа необходимо планировать возможность последующих биопсий для выполнения повторного анализа и модификации терапии на основании его результатов.

Проведение множественных, повторных биопсий больным всегда вызывает опасение у клиницистов развитием возможных осложнений. При анализе осложнений при множественных биопсиях 142 больных, принимавших участие в исследованиях 1 и 2 фазы с таргетными препаратами, осложнения были выявлены только у 3% больных. При этом во всех случаях данные осложнения были купированы консервативно. Отметим, что у 68% больных выполнялись парные биопсии, у 32% повторные биопсии в процессе лечения (6).

Данные генетического анализа дают представление об активности, как правило, нескольких основных сигнальных путей, что требует одновременного назначения нескольких таргетных препаратов. Кроме этого блокирование одного сигнального пути может приводить к передаче

сигнала по параллельному пути, что также требует назначения нескольких препаратов. Чем больше путей мы хотим заблокировать, тем больше препаратов необходимо назначить. А это в свою очередь повышает вероятность развития непереносимости нашей терапии. Так по результатам 1 фазы исследования комбинации ингибитора PI3K и MEK1/2, 35% больных потребовалось прекращение лечения, а 51% - снижение дозы или назначение перерыва в лечении в результате токсических реакций (7). И такие результаты были получены при блокировании только 2 сигнальных путей (KRAS-RAF-MEK-ERK и PI3K- Akt - mTOR).

Назначение таргетных препаратов в монорежиме при опухолях некоторых локализаций может сопровождаться непереносимой токсичностью. А снижение дозы таргетного препарата зачастую ведет к снижению активности действующего вещества и неполному блокированию мишени. В анализируемой работе авторы, основываясь на полученных результатах, делают предположение о потенциальной эффективности назначения сунитиниба при большинстве опухолей головы и шеи. В предклинических работах показана высокая эффективность анти-VEGF препаратов при раке носоглотки (8, 9). Сунитиниб обладает высокой ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназ рецепторов к VEGF.

При проведении 2 фазы исследования по применению сунитиниба у пациентов метастатическим раком носоглотки и прогрессированием после цисплатин-содержащей химиотерапии, после включения 13 больных, набор в исследование был прекращен по причине выраженной токсичности. У 69% пациентов отмечено кровотечение из верхних отделов дыхательных путей. У 2 больных - распространение на сонную артерию, данное осложнение, вероятно как следствие распада опухоли, привело к смерти. Последующий анализ показал, что эпизоды кровотечения случались чаще у больных, кому ранее проводилась лучевая терапия (10). Снижение же дозы препарата может привести к уменьшению его эффективности. Отмечено, что сунитиниб проявляет свой ингибирующий эффект в отношении тирозинкиназных молекул клеточных рецепторов дозо-зависимым образом. В исследованиях среди пациентов с гастроинтестинальными опухолями и раком почки показано, что чем выше интенсивность дозового режима приема сунитиниба, тем продолжительнее живут больные (11, 12).

Другим зарегистрированным таргетным препаратом с анти-VEGF механизмом действия явля-

ется сорафениб. Результаты двух исследований 2 фазы по применению комбинации сорафениба с цисплатином и 5-фторурацилом и сорафениба с паклитакселом и карбоплатином при метастатическом и рецидивном раке носоглотки показывают более обнадеживающие результаты (13, 14). Контроль болезни в исследованиях достигнут у 84-90,7% пациентов. Однако редукция дозы сорафениба потребовалась у 40,7% больных в комбинации с цисплатином и 5-фторурацилом, а в комбинации с карбоплатином и паклитакселом частота осложнений 3 степени достигла 20,8%.

Таким образом, в настоящий момент необходимо накапливать данные о возможных токсических реакциях при комбинации нескольких таргетных препаратов.

Недостатком анализируемой работы может являться применение только одного метода генетического анализа – микрочипирования, с целью определения экспрессии РНК. Тогда как для более полноценной оценки генетического аппарата и активности белковых молекул – составляющих сигнальных путей, необходимо применять полный комплекс методов молекулярной онкологии. Важно учитывать мутационный статус генома опухоли, что может позволить выявить ключевые мутации и выбрать соответствующий препарат. Не всегда РНК приводит к формированию белка. Так, малые некодирующие РНК (микроРНК) регулируют экспрессию генов путем ингибирования трансляции или деградации специфических транскриптов матричной РНК. К настоящему времени выявляется большое количество микроРНК при различных опухолях (15). Белковый анализ необходим для определения наличия и концентрации белков – конечных продуктов экспрессии генов. Внедряются методы по определению активности белковых молекул (16).

Таким образом, только применение в совокупности методов молекулярной онкологии может дать четкую картину происходящих в действительности процессов в опухоли и выбора назначаемых препаратов.

Одним из наиболее сложных моментов в рассматриваемых исследованиях является математическая обработка большого массива данных даже для 1 больного. Для решения данной проблемы необходимо создание базы данных, которая включала бы в себя не только данные по белковым молекулам и их генам всех известных сигнальных путей, но и имеющихся в распоряжении клинициста лекарственных препаратов. Это было продемонстрировано в анализируемой работе. Однако в настоящее время недостаточно данных, чтобы прогнозировать ответ опухолевой

клетки на блокирование того или иного пути, прогнозировать возможную токсичность в результате лечения комбинациями таргетных препаратов. Также в онкологии невозможно применить на практике персонализированный подход, имея в арсенале только зарегистрированные таргетные препараты. Необходимо, чтобы в базу данных входила информация по всем химическим веществам, которые обладают активностью в отношении тех или иных молекул сигнальных путей. Возможно, что даже ранее «провалившиеся» в исследованиях препараты будут активны у конкретного больного. Также известно, что ряд лекарственных средств, применяемые вне онкологии, обладает способностью к блокированию тех или иных сигнальных путей, как проявление побочного действия препарата(18).

И хотя в настоящее время клиническая онкология еще далека от полноценного внедрения в практику подходов персонализированной медицины, ощутимые шаги в этом направлении делаются и в мире и в нашей стране.

## ЛИТЕРАТУРА

1. K.N.Mendes, D. Nicorici, D. Cogdell et al. Analysis of signaling pathways in 90 cancer cell lines by protein lysate array. *J. Proteome Res.*, 2007, 6 (7), pp 2753–2767.
2. Y.J. Kim, Y.S. Ha, S.K. Kim et al. Gene signatures for the prediction of response to bacillus Calmette-Guérin immunotherapy in primary pT1 bladder cancers. *Clin Cancer Res* 2010;16:2131-2137.
3. M.Gerlinger, . A.J. Rowan, S. Horswell et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 2012;366:883-92.
4. Brannon AR, Reddy A, Seiler M, et al. Molecular stratification of clear cell renal cell carcinoma by consensus clustering reveals distinct subtypes and survival patterns. *Genes Cancer* 2010;1:152-63.
5. L.V. Sequist, B. A. Waltman, D. Dias-Santagata et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med* 3, 75ra26 (2011).
6. Jung-min Lee . Feasibility and safety of sequential research-related tumor core biopsies in clinical trials with anti-angiogenic and targeted therapies. *J Clin Oncol* 30:5s, 2012 (suppl; abstr 2545).
7. Philippe Bedard. A phase Ib, open-label, multi-center, dose-escalation study of the oral pan-PI3K inhibitor BKM120 in combination with the oral MEK1/2 inhibitor GSK1120212 in patients (pts) with selected advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 30:5s, 2012 (suppl; abstr 3003).
8. Qian CN, Min HQ, Lin HL, et al. Primary study in experimental antiangiogenic therapy of nasopharyngeal carcinoma with AGM-1470 (TNP-470). *J Laryngol Otol* 1998;112:849-53.
9. Qian CN, Min HQ, Lin HL, et al. Anti-tumor effect of angiogenesis inhibitor TNP-470 on the human nasopharyngeal carcinoma cell line NPC/ HK1. *Oncology*

1999;57:36-41.

10. Hui EP, Ma BB, King AD, et al. Hemorrhagic complications in a phase II study of sunitinib in patients of nasopharyngeal carcinoma who has previously received high-dose radiation. *Ann Oncol* 2011;22:1280-7.

11. Houk B.E., Bello C.L., Michaelson M.D. et al. A population pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) analysis of exposure–response for sunitinib in metastatic renal cell carcinoma (mRCC). Presented at the 14th European Cancer Conference, 23–27. Barcelona: Spain September 2007.

12. Demetri G.D., Casale P.G., Bello C. et al. A population pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) meta-analysis of sunitinib in patients with gastrointestinal stromal tumour. Presented at the 19th International Congress on Anti-Cancer Treatment, 5–8. Paris, France February 2008.

13. G.R. Blumenschein. Final results of a phase II study of sorafenib in combination with carboplatin and paclitaxel in patients with metastatic or recurrent squamous cell cancer of the head and neck (SCCHN). *J Clin*

*Oncol* 30:5s, 2012 (suppl; abstr 5592).

14. C. Xue, S. Yat-sen. A phase II study of sorafenib in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in the treatment of recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma. *J Clin Oncol* 30:5s, 2012 (suppl; abstr 5538).

15. Kutter C., Svoboda P. Meeting report: miRNA, siRNA, piRNA. *Knowns of the unknown. RNA Biology* 5:4, 181-188; October/November/December 2008.

16. J.S. Duncan, M.C. Whittle, K.Nakamura et al. Dynamic reprogramming of the kinome in response to targeted MEK inhibition in triple-negative breast cancer. *Cell* 149, 307–321, April 13, 2012

17. Artale S, Sartore-Bianchi A, Veronese SM, et al. Mutations of KRAS and BRAF in primary and matched metastatic sites of colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2008;26(25):4217–9.

18. R.E. Kast. Epithelial ovarian cancer: A feasible plan for adjunctive treatment using simultaneous acyclovir, ambrisentan, captopril, disulfiram, fluvoxamineaugmented ramelteon, atibant, imiquimod peritoneal lavage, and plerixafor. *Journal of Cancer Therapeutics & Research* 2012.