

лина на 21% и уменьшением косвенного показателя инсулинорезистентности НОМА на 20%. Улучшение чувствительности к инсулину было положительно ассоциировано со снижением уровня триглицеридов, что соответствовало данным ряда других исследований применения аторвастатина у пациентов с метаболическим синдромом и СД2. Предположительно, снижение концентрации триглицеридов приводит к повышению утилизации глюкозы клетками и использованию ее в качестве основного энергетического субстрата, что способствует снижению инсулинорезистентности.

Следующим этапом этого исследования была отмена аторвастатина/плацебо и назначение всем пациенткам метформина в суточной дозе 1,5 г. Было показано, что предшествующая терапия аторвастатином усиливает и облегчает терапевтические эффекты метформина. Трехмесячная терапия метформинем после приема

аторвастатина приводили к снижению концентрации общего тестостерона на 31%, свободного андрогенного индекса — на 41% и повышению уровня ГСПС на 18%, в то время как улучшения данных параметров после 12 недель терапии метформинем с предшествующим приемом плацебо не отмечалось. Терапия метформинем после приема аторвастатина также сопровождалась снижением концентрации инсулина на 16%, СРБ — на 33% и уменьшением показателя НОМА на 21%. Снижение показателей инсулинорезистентности и воспаления у пациенток без предшествующей терапии аторвастатином было существенно менее значимым.

Таким образом, применение статинов у пациенток с СПЯ может иметь значимые благоприятные эффекты в нормализации целого ряда гормональных и метаболических нарушений, характерных для данного заболевания.

Метформин: терапевтическая перспектива при раке молочной железы

Metformin: a therapeutic opportunity in breast cancer

Gonzalez-Angulo A.M., Meric-Bernstam F.

Clin. Cancer. Res. 2010; 16(6): 1695–700

Регуляция роста и пролиферации клеток осуществляется множеством сигнальных механизмов, в том числе опосредованных факторами роста, доступностью питательных веществ и энергии (внутриклеточной АТФ). Сигнальные пути инсулина/инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1) активируются при доступности питательных веществ, в то время как сигнальный путь АМФ-зависимой протеинкиназы (АМПК) запускается при энергетическом голодании клеток. В организме млекопитающих инсулин стимулирует синтез жиров, белков и гликогена, а АМПК, напротив, подавляет данные биосинтетические процессы. Влияние инсулина на белковый синтез частично опосредовано активацией сигнального пути mTOR (mammalian target of rapamycin) в результате фосфорилирования белка TSC2 (tuberous sclerosis complex 2), также известного как туберин. Активация АМПК ведет к фосфорилированию других позиций молекулы TSC2 и подавлению mTOR. Таким образом, TSC2 интегрирует сигнальные пути инсулина и АМПК в целях контроля клеточного роста и выживания. Кроме того, в некоторых тканях, например в миокарде, инсулин блокирует активацию АМПК посредством стимуляции протеинкиназы Akt. Однако следует отметить, что в процессе регуляции уровня глюкозы в крови инсулин и АМПК действуют однонаправленно. Активация АМПК способствует увеличению захвата глюкозы и повышению чувствительности к инсулину в скелетных мышцах при их сокращении. В печени и жировой ткани инсулин и АМПК подавляют экспрессию ферментов глюконеогенеза, а также активацию гормон-чувствительной липазы и, таким образом, липолиз.

Сигнальный путь ИФР-1 играет важную роль в процессе нормального клеточного роста, но также известен как медиатор злокачественного фенотипа. Активация рецептора ИФР-1 ведет к фосфорилированию остатков тирозина в его киназных доменах. Это индуцирует аутофосфорилирование остатков тирозина и серина и формирование активных центров для связывания с субстратами инсулинового рецептора (insulin receptor substrates, IRS) и Src (Src — не связанная с клеточным рецептором тирозинкиназа, участвующая в процессах эмбрионального развития и клеточного роста — *Прим. переводчика*), вследствие чего происходит активация сигнальных путей фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/Akt/mTOR и RAS/RAF/митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК). Несмотря на то, что рецептор ИФР-1 не является единственным двигателем пролиферации опухолевых клеток, он необходим для онкоген-зависимой клеточной трансформации и опосредует сигналы выживания и роста клеток, которые позволяют трансформированным клеткам образовывать опухоль и переносить разъединение. Более того, результаты доклинических исследований показали, что повышение экспрессии рецептора ИФР-1 может приводить к формированию опухоли и ее метастазированию.

Активность mTOR частично регулируется клеточными уровнями энергии, питательных веществ, кислорода и факторами роста. Нарушение регуляции mTOR ведет к усилению роста и пролиферации клеток. Так, злокачественные опухоли человека часто характеризуются нарушением регуляции сигнальных путей, контролирующих активность mTOR. Например, такие характерные для рака мо-

лочной железы нарушения, как активация мутаций PIK3CA или снижение экспрессии опухолевого супрессора PTEN, могут приводить к неконтролируемому повышению активности mTOR и последующей трансляции мРНК факторов роста, ингибиторов апоптоза, активаторов клеточного цикла и факторов ангиогенеза, совокупность которых приводит к формированию и росту опухоли. Таким образом, сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR является важнейшей мишенью для противоопухолевой терапии, а подавление энергетического сигнального пути посредством активации AMPK и угнетения mTOR представляет собой потенциально эффективный механизм предотвращения и снижения опухолевого роста.

Действие метформина при раке молочной железы

Метформин является бигуанидом, применяемым в качестве терапии первой линии в лечении сахарного диабета 2 типа (СД2). Популяционные исследования показали, что применение метформина у пациентов с СД2 приводит к снижению заболеваемости раком и смертности, ассоциированной с онкологическими заболеваниями. Клинические и эпидемиологические данные также ассоциируют плохой прогноз при раке молочной железы с гиперинсулинемией, инсулинорезистентностью и СД. Кроме того, инсулин может стимулировать опухолевый рост в результате своего прямого воздействия на эпителиальные ткани, а также опосредованно, изменяя содержание в организме других модуляторов, таких как инсулиноподобные факторы роста, половые гормоны и адипокины. Доклинические испытания показали, что метформин способен подавлять рост опухолевых клеток, в том числе клеток рака молочной железы *in vitro* и опухолей *in vivo*. Совсем недавно ретроспективное исследование среди пациенток, получавших неoadъювантную химиотерапию по поводу рака молочной железы, продемонстрировало, что пациентки с СД2, получавшие метформин во время проведения неoadъювантной химиотерапии, имели более высокие показатели патологического полного ответа (pathologic complete response, pCR) по сравнению с пациентками с СД, не получавшими метформин (24% vs 8%, $p=0,007$).

Противоопухолевые эффекты метформина при раке молочной железы имеют биологическое обоснование. В печени метформин подавляет транскрипцию ключевых ферментов глюконеогенеза, а в скелетных мышцах повышает захват глюкозы клетками. Препарат снижает уровень гликемии, повышает чувствительность к инсулину и уменьшает гиперинсулинемию, ассоциированную с инсулинорезистентностью. На клеточном уровне было предложено несколько механизмов действия метформина, наиболее значимым из которых является активация AMPK — ключевого клеточного сенсора энергообеспечения. Будучи активирован-

ной, AMPK ведет к подавлению целого ряда энергоемких обменных процессов (глюконеогенеза, синтеза белков и свободных жирных кислот, холестерина), а также активации катаболических реакций (гликолиза, β -окисления жирных кислот). Кроме того, AMPK оказывает двойное супрессорное воздействие на mTOR посредством фосфорилирования TSC2 и регуляторного белка, ассоциированного с mTOR (regulatory associated protein of mTOR, rapTOR). Активация AMPK происходит при низком внутриклеточном уровне АТФ и ведет к выключению сигнального пути mTOR. Метформин и его аналоги также стимулируют AMPK в отсутствие TSC2 в результате фосфорилирования rapTOR.

Исследования: результаты и перспективы

Доклинические испытания. Первоначальные эксперименты показали, что метформин способен подавлять пролиферацию в клеточных линиях раков предстательной, молочной желез и ободочной кишки посредством блокады клеточного цикла, что подтверждалось значительным снижением уровня белка циклина D1. В дальнейшем эксперименты *in vivo* с использованием интраперитонеального или орального введения метформина «голым» мышам (nude mouse — бестимусная мышь с мутацией nude — Прим. переводчика) продемонстрировали подавление опухолевого роста на 55%. Для оценки влияния метформина на пролиферацию клеток исследователи также изучали эффект данного препарата *in vitro* на клеточных линиях раков молочной, предстательной желез и яичника. В опухолевых клетках молочной железы человека линии MCF-7 метформин действовал как ингибитор роста в большей степени, нежели сенситайзер инсулина. В дальнейшем исследователи выяснили, что экспозиция метформина в концентрациях, подавляющих клеточный рост, приводит к активации AMPK и подавлению mTOR, следствием чего и является снижение белкового синтеза, ведущее к подавлению как роста, так и пролиферации опухолевых клеток. Дальнейшие эксперименты с применением клеточных линий рака молочной железы с различным рецепторным статусом показали, что активация AMPK под действием метформина ведет к полному подавлению опухолевого роста в эстроген-позитивных опухолях и к частичному — в эстроген-негативных опухолях. Кроме того, в клеточных линиях эстроген-негативных опухолей отмечалось значимое повышение уровня сосудистого эндотелиального фактора роста.

Клинические испытания. Результаты ретроспективных клинических и доклинических исследований заложили основу для проведения клинических испытаний метформина в качестве средства профилактики и лечения при раке молочной железы. В настоящее время метформин изучается по нескольким направлениям.

Исследования в «окне возможности». В исследованиях данного дизайна пациенткам с впервые выявленным операбельным раком молочной железы проводится исходная биопсия, а затем назначается метформин в различных дозах или плацебо на короткий срок (2-6 недель); затем проводится хирургическое лечение с гистологическим исследованием удаленной опухолевой ткани. Основной целью таких исследований является определение способности метформина в различных дозах влиять на уровень тканевых и сывороточных маркеров опухолевого роста и установление минимальной эффективной дозы для такой модуляции. В настоящее время во всем мире проводится по крайней мере пять исследований подобного дизайна.

Рандомизированные исследования неоадьювантной терапии II фазы. В исследованиях данного типа пациентки рандомизируются на получающих полный курс неоадьювантной системной терапии в комбинации с метформином или без него. Пробы крови и ткани берутся у пациенток исходно, на определенных этапах терапии и во время хирургического лечения. Целью таких исследований является выяснение наличия преимуществ комбинации стандартной неоадьювантной терапии с метформином. При этом оцениваются клинические и патологические исходы, а также изменения в содержании тканевых и сывороточных биомаркеров и корреляция этих изменений с исходами. Несмотря на рандомизацию, эти исследования не могут дать определенных ответов на клинические вопросы, но способны создать базу для отбора пациенток для проведения подтверждающих исследований III фазы. В настоящее время ряд таких исследований проводится или планируется, при этом особое внимание уделяется набору пациенток с гормон- или HER2-позитивными опухолями молочной железы.

Исследования I-II фаз при метастатическом поражении. Подобные исследования обычно проводятся с целью определения пределов токсичности, безопасности и эффективности отдельных препаратов или их комбинаций. В настоящее время проводится два подобных исследования. В первом участвуют пациентки с ожирением и метастатическим гормон-позитивным раком молочной железы, получающие комбинированную терапию экземестаном и авандаметом (метформин + росиглитазон). Во втором исследовании изучается комбинация метформина с ингибитором mTOR темсиролимусом.

Рандомизированные плацебо-контролируемые испытания III фазы. Данные исследования могут иметь превентивную или терапевтическую направленность. В терапевтическом направлении Национальный институт рака Канады (the National Cancer Institute of Canada) планирует проведение исследования MA-32: рандомизированное исследование эффективности метформина по сравнению с плацебо при раке молочной железы ранней стадии, фаза III. Планируется участие 3582 пациенток, рандомизированных на полу-

чающих метформин в дозе 850 мг в сутки в течение 5 лет или плацебо. Пациентки будут стратифицированы по гормонально-рецепторному статусу, статусу HER2 и применению химиотерапии. Первичным исходом будет считаться выживание без инвазии опухоли. Параллельно планируется проведение крупного рандомизированного исследования неоадьювантной терапии III фазы при раннем раке молочной железы. Пациентки будут рандомизированы для проведения шести циклов доцетаксела, доксорубицина и циклофосфида (ТАС) в комбинации с метформином или без него. Первичным исходом будет являться патологический полный ответ.

В настоящее время отсутствуют данные о минимальной дозе метформина, необходимой для осуществления его антипролиферативного эффекта, а также о долгосрочной безопасности его применения у пациенток без СД2. В связи с этим до инициации превентивных испытаний III фазы необходимы дополнительные исследования.

Биомаркеры

В целом, адекватный биомаркер-предиктор должен выявлять опухоли, чувствительные к специфической терапии. Для обнаружения такого биомаркера необходимо проведение серии биопсий для тестирования широкого ряда фармакодинамических параметров и поиска их корреляций с клиническими исходами. Проверка адекватности биомаркеров должна осуществляться в независимых, предпочтительно рандомизированных клинических исследованиях. В настоящее время на доклиническом уровне проводится несколько исследований возможных биомаркеров, ассоциированных с механизмом действия метформина. К таким потенциальным маркерам относятся компоненты сигнальных путей рецептора ИФР-1, АМРК, PI3K/Akt/mTOR, а также такие метаболические сывороточные маркеры, как инсулин, С-пептид и лептин.

Заключение

Метформин является широко назначаемым пероральным препаратом, применяющимся в качестве терапии первой линии при СД2. Продемонстрирована его способность подавлять опухолевый рост в клеточных линиях злокачественных опухолей, в том числе молочной железы, *in vitro* и *in vivo* в экспериментальных моделях. Популяционные и ретроспективные исследования показывают, что метформин снижает заболеваемость раком и смертность, ассоциированную со злокачественными заболеваниями, а также повышает эффективность неоадьювантной химиотерапии у пациентов с диабетом. Метформин активирует АМРК, что ведет к уменьшению уровня инсулина, торможению белкового синтеза и снижению роста и пролиферации опухолевых клеток. Исходя из вышесказанного, метформин в настоящее время исследуется в качестве терапевтического агента в различных клинических направлениях при всех подтипах рака молочной железы.