

М.Ю.ДОРОФЕЕВА, к.м.н., О.В.САХАРОВА, к.м.н., отдел психоневрологии и детской эпилептологии,
МНИИ педиатрии и детской хирургии Росздрава

ПУТЬ СИГНАЛЬНОЙ ПЕРЕДАЧИ PI3K/Akt/mTOR

КАК МИШЕНЬ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ТУБЕРОЗНОГО СКЛЕРОЗА

Туберозный склероз является генетически обусловленным заболеванием с широким спектром клинических проявлений. Данная патология часто манифестирует в раннем возрасте и проявляется эпилептическими приступами (инфантильными спазмами), возникающими вследствие аутизма и ограничения интеллектуальных возможностей.

Ключевые слова: туберозный склероз, гены TSC1/2, гамартин, туберин, путь сигнальной передачи PI3K/Akt/mTOR, эверолимус, сиролимус

Изменения головного мозга при туберозном склерозе включают корковые туберы, субэпендимальные узлы (СЭУ), гетеротопии белого вещества головного мозга, субэпендимальные гигантоклеточные астроцитомы (СЭГА). Рабдомиомы сердца, диагностируемые в младенчестве, способны спонтанно регрессировать. Для туберозного склероза характерны такие изменения кожи, как ангиофибромы лица, гипопигментные пятна, фиброзные бляшки, фибромы ногтей и участки «шагреневой кожи». В почках выявляются доброкачественные ангиомиолипомы (АМЛ) и кисты (ПКБ1), редко — малигнизированные ангиомиолипомы и почечно-клеточный рак. Дебют туберозного склероза с лимфангиолейомиоматозом легких (ЛЯМ) характеризуется агрессивным течением и встречается у женщин. Лимфангиолейомиоматоз может развиваться как при туберозном склерозе, так и спорадически. Для него характерна доброкачественная пролиферация гладкомышечных клеток в легких, приводящая к утолщению стенок альвеол, снижению газо-

обмена, кистозной дегенерации и коллапсу легочной ткани. Основные проявления туберозного склероза и их частота представлены в *таблице 1*.

Генетические изменения при туберозном склерозе. В 1993—1997 гг., когда были клонированы гены TSC1 и TSC2, удалось добиться наибольших достижений в исследованиях биологии туберозного склероза. Туберозный склероз — аутосомно-доминантное заболевание с очень высокой пенетрантностью, однако лишь у 20% пациентов есть семейная история болезни, а у 80% мутации в TSC1

■ Рабдомиомы сердца, диагностируемые в младенчестве, способны спонтанно регрессировать.

и/или TSC2 возникают de novo. Ген TSC2 был клонирован в 1993 г. Он имеет 41 экзон и 5,5 kb транскрипт РНК и локализуется на 16p13,3. Ген TSC1 клонирован в 1997 г. Он имеет 23 экзона: 21 кодирующий экзон и 8,6 kb транскрипт РНК, содержащий малый 5' и большой (4kb) 3' нерегулируемые участки, и локализуется на 9q34 [1]. Ген TSC1 кодирует белок гамартин размером 1 164 аминокислоты 130 kDa, который в комплексе с гамартином регулирует mTOR-S6K* путь сигнальной трансдукции и клеточную адгезию через взаимодействие с эзрином и Rho. Мутации в гене TSC1 при семейном варианте туберозного склероза мутации выявляются у 15—30% пациентов, спорадические мутации

составляют от 10 до 15%. Превалируют небольшие укорочения (нонсенс, миссенс, небольшие делеции), потеря «горячих точек» (миссенс); фенотип характеризуется менее выраженными клиническими симптомами заболевания. Ген TSC2 кодирует белок туберин размером 1 807 аминокислот 180 kDa, в комплексе с туберином гамартин регулирует mTOR-S6K* путь сигнальной трансдукции и GAP-активность*, а также играет роль в клеточном цикле (предположительно, влияет на формирование актинового цитоскелета) [17]. Для гена TSC2 описано более 100 герминальных мутаций, включающих миссенс-мутации, нонсенс-мутации, делеции/инсерции рамки считывания, в т.ч. в PKD1¹, мутации в местах соединений (сплайсинг-мутации),

¹ PKD – polycystic kidney disease type 1, поликистоз почек 1 типа; mTOR-S6K – mammalian target of rapamycin, мишень рапамицина млекопитающих, серин-треониновая киназа, S6K – киназа рибосомального белка p70S6, эффекторный белок mTOR; GAP – GTP-ase activating protein, белок, активирующий ГФ-азу.

спорадические мутации TSC2 составляют 75–80%. Наиболее частыми для гена TSC2 являются миссенс-мутации в кодонах 611 и 1 675 и делеция в рамке 18-bp экзона 40, однако они составляют менее 5% всех мутаций в TSC2. В 20% случаев наблюдаются миссенс- и нонсенс-мутации TSC2, в противоположность этому для TSC1 более характерны нонсенс-мутации и мутации рамки считывания, приводящие к преждевременному «усечению» белка [2]. Делеции составляют 85–90% всех мутаций. В настоящее время не выявлено значимой корреляции между генетическими изменениями и фенотипическими проявлениями; известно лишь, что мутации в гене гамартина TSC1 оказывают меньшее влияние на серьезность течения заболевания, нежели мутации в гене туберина TSC2.

В соответствии с моделью онкогенеза «двойного удара» Кнудсона (Knudson's two-hit model of oncogenesis, 1971) для генов-супрессоров опухоле-

Таблица 1. Основные проявления tuberозного склероза и их частота [21]

Локализация	Проявление	Частота
ЦНС	Корковые туберы	90—100%
	Субэпендимальные узлы и гетеротопии белого вещества головного мозга	90—100%
	Субэпендимальная гигантоклеточная астроцитома	6—20%
	Гамартумы сетчатки	50%
Кожа	Ангиофиброма лица	80—90%
	Гипопигментные пятна	80—90%
	Участки «шагренево́й кожи»	20—40%
	Фиброзные бляшки в области лба	20—30%
	Околоногтевые фибромы	20—30%
Изменения со стороны глаз	Гамартумы сетчатки	50%
	Гигантоклеточная астроцитома сетчатки	20—30%
	Очаги депигментации радужки	10—20%
Почки	Множественные двусторонние ангиомиолипомы	80%
	Поликистозная болезнь почек	3—5%
	Изолированные кисты почек	10—30%
	Почечно-клеточный рак	1,2%
Сердце	Рабдомиома сердца	50%
Пищеварительная система	Микрогамартоматозные ректальные полипы	70—80%
	Ангиомиолипомы печени	40—50%
	Кисты печени	24%
	Аденоматозные полипы двенадцатиперстной и тонкой кишки	редко
Легкие	Лимфангиолейомиоматоз	1—2,3%
	Кисты легких	40%
	Микронодулярная легочная гиперплазия пневмоцитов 2 типа	редко
Другие	Фибромы десен	50—70%
	Лунки эмали зубов	30%
	Кисты костей	40%
	Аневризмы артерий (внутричерепные артерии, аорта, подмышечная артерия)	редко

вого роста (*рис. 1*), для клинической манифестации туберозного склероза необходима как минимум инактивация обеих аллелей генов TSC1 и/или TSC2. «Вторым ударом» могут служить делеции с потерей прилежащих локусов. Эти мутации описаны как потеря гетерозиготности (LOH). По этой модели вторым генетическим событием может быть соматическая мутация TSC1/TSC2, выявляемая при анализе потери гетерозиготности (loss of heterozygosity, LOH), которая может оказывать действие, синергичное системному влиянию мутаций в TSC1/TSC2, что приводит к потере функции этих генов. LOH TSC1/TSC2 описана при рабдомиомах сердца, ангиомиолипомах почек и ЛАМ легких, но не описана с постоянством при кортикальных туберах мозга [3, 4, 17]. У одних и тех же пациентов в астроцитомах головного мозга и ангиомиолипомах почек определяются различающиеся маркеры LOH, что подтверждает мультифокальный характер соматических мутаций «второго удара».

У пациентов со спорадическими формами АМЛ и ЛАМ определяются идентичные соматические мутации. Этот феномен можно объяснить гипотезой «доброкачественного метастазирования», когда

измененные клетки — носители мутаций в генах TSC1/TSC2 — из ангиомиолипом почек попадают в легкие. Для опровержения или подтверждения этой гипотезы требуется дальнейшее изучение белковых продуктов генов TSC1/TSC2 гамартина и туберина в миграции и адгезии клеток.

■ Туберозный склероз — ауtosомно-доминантное заболевание с очень высокой пенетрантностью, однако лишь у 20% пациентов есть семейная история болезни.

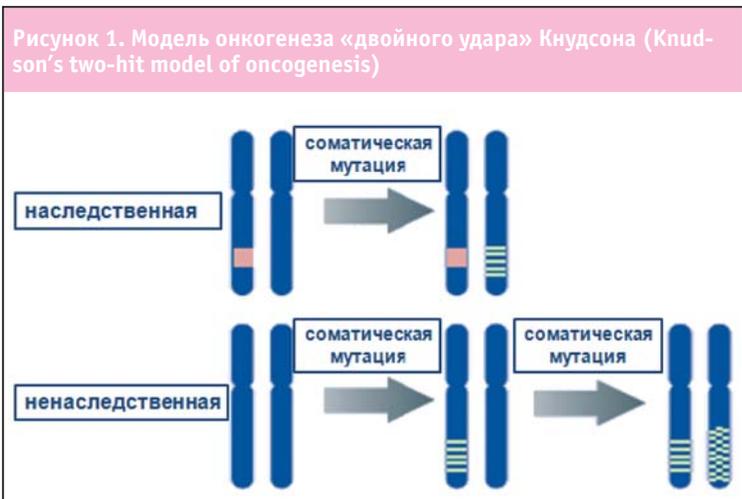
Для опухолевой трансформации необходимо два генетических события. При наследственной форме заболевания спорадическая мутация напрямую приводит к формированию опухолевого фенотипа. При спорадическом

заболевании для опухолевой трансформации необходимы два генетических события, по одному в каждой копии генов.

Гамартин и туберин. Белки-продукты генов TSC1/TSC2 гамартин и туберин взаимодействуют с образованием гетеродимера и экспрессированы в схожих клетках в различных органах, в т.ч. в почках, головном мозге, легких и поджелудочной железе [5]. В настоящее время не установлена точная внутриклеточная локализация гамартина и туберина. В большинстве исследований определялось диффузное распределение гамартина и туберина в цитоплазме, а также в аппарате Гольджи и ядре [6, 7].

Остается неясным, как подобное распределение связано с типом клеток или фазой клеточного цикла. Структура белков-продуктов генов TSC1/TSC2 гамартина и туберина представлена на *рисунке 2*.

Взаимодействие гамартина и туберина критично для различных стадий развития ЦНС, включая морфогенез, адгезию и миграцию клеток, их предопределенное детерминирование. Мутации в генах туберозного склероза влияют на предшественников нервной систе-



мы в период 7—20 недель внутриутробного развития, что может выражаться в прекращении деления клеток, аномальной клеточной дифференцировке, нарушении контроля размера клеток и аномальной миграции клеток [8].

Роль сигнальных путей PI3K/Akt/mTOR и ERK в патогенезе tuberозного склероза. Первые экспериментальные исследования функции гамартина и туберина были проведены на мухадрозософилах. Биохимические исследования показали, что туберин подвергается прямому фосфорилированию протеинкиназой В (PKB), или АКТ, по остаткам S939 и T1462. Комплекс гамартин/туберин работает выше мишени рапамицина млекопитающих mTOR, серин-треониновой киназы, усиливающей рост и пролиферацию клеток путем фосфорилирования двух эффекторных белков p70S6K и 4E-BP1.

Мишень рапамицина млекопитающих mTOR — серин-треониновая киназа, ответственная за инициацию трансляции мРНК и синтез белков в рибосомах, необходимых для пролиферации клеток, регуляции клеточного цикла и клеточного метаболизма. В качестве сигналов, регулирующих активность киназы mTOR, выступают различные внешние стимулы: питательные вещества, факторы роста и т.д. В клетке белки-эффекторы mTOR, p70S6K отвечают за биогенез в рибосомах через фосфорилирование рибосомального белка S6. Белок 4E-BP1 связывается с eIF4E и подавляет 5' cap-зависимую трансляцию мРНК. [9]. В 2003 г. Rheb был идентифицирован как мишень активируемого ГТФ-азой GAP-белкового домена гена туберина TSC2 (GAP — GTPase activating protein). Rheb относится к семейству белков Ras и играет

в клетке двойную роль: активирует путь mTOR и ингибирует B-Raf.

Позже были описаны мутации GAP-домена, приводящие к снижению GAP-активности [10], что является подтверждением GAP-активности туберина как его основной физиологической функции. Выявляемые при tuberозном склерозе мутации в TSC2 могут приводить к нарушению связывания гамартина с туберином, в результате чего снижается GAP-активность туберина, что также подтверждает необходимость связывания с гамартином для функционирования туберина в качестве GAP [11]. Эти данные согласуются со сходством клинической картины при TSC1- или TSC2-ассоциированном заболевании.

В стимуляции mTOR участвуют инсулиноподобный фактор роста и его рецепторы, семейство рецепторов эпидермального фактора роста и их лиганды, рецепторы факторов роста эндотелия и их лиганды, эстрогены и рецепторы эстрогенов, белки RAS, ABL, AMPK, которые запускают реакции с участием киназ PI3K и Akt (PKB) и белков Raf/Ras.

Рисунок 2. Структура белков-продуктов генов TSC1/TSC2 гамартина и туберина



(а) Гамартин (кодирован геном TSC1) — белок с молекулярной массой 130 kDa, содержащий 1 164 аминокислоты. Взаимодействует с туберином аминокислотами 302—430 и с эзрин-радиксин-моззином аминокислотами 881—1084. Подвергается фосфорилированию CDK1/циклин В1 по остаткам T417, S584 и T1047 и GSK3β по остаткам T357 и T390.

(б) Туберин (кодирован геном TSC2) — белок с молекулярной массой 200 kDa, содержащий 1 807 аминокислот. Взаимодействует с гамартином аминокислотами 1—418. Домен GAP (GTPase activating protein) специфичен к Rheb. Адаптировано по [1].

Избыток питательных веществ и факторов роста приводит к активации передач сигнала в каскаде PI3K/Akt/mTOR и в результате стимулирует рост и пролиферацию клеток. Каскад PI3K/Akt/mTOR является важным регулятором роста и выживания клеток. Несмотря на разнообразие митогенных сигнальных путей, в клетках PI3K/Akt/mTOR сигнальный путь играет роль единого универсального механизма передачи пролиферативного сигнала на аппарат трансляции, ответственного в клетках за интеграцию пролиферативных стимулов и одновременную активацию трансляции. Активация mTOR приводит к усилению синтеза белка через фосфорилирование p70S6K и 4E-BP1. Под действием инсулина и других факторов роста некоторые киназы, в т.ч. Akt/PKB, фосфорилируют туберин (TSC2), что приводит к подавлению его GAP-активности и активации mTOR. Фосфорилирование гамартина (TSC1) CDK1 также является негативным регулятором активности комплекса гамартин/туберин. Инактивация B-Raf происходит независимо от mTOR: Rheb напрямую связывает и подавляет активность киназы B-Raf [12]. Постоянная или временная экспрессия туберина повышает фосфорилирование участков p42/44 митоген-активированной протеинкиназы MAPK. В норме эти два противоположных эффекта уравновешивают друг друга, лимитируя таким образом способность Rheb индуцировать опухолевый рост в клетках, экспрессирующих B-Raf, и объясняя тот факт, что большинство опухолей при туберозном склерозе доброкачественные. Ингибиторы mTOR — гомолог фосфатазы и тензина PTEN, белки — продукты генов TSC1/TSC2 туберин и гамартин. Ингибирующее действие гамартина на киназу mTOR опосредовано протеинкиназой B (AKT), фосфорилирующей этот белок. Еще один ингибитор mTOR — белок LKB1 — осуществляет энергезависимую регуляцию TSC [17, 18]. Роль комплекса гамартин/туберин как центрального регулятора пути сигнальной трансдукции PI3K/Akt/mTOR при туберозном склерозе представлена на *рисунке 3*.

Ключевую роль в патогенезе различных злокачественных новообразований играет избыточная активация mTOR. Гены TSC1/TSC2 в норме функционируют как классические гены-супрессоры опухо-

левого роста, а потеря функции этих генов лежит в основе развития туберозного склероза и повышает риск развития ряда злокачественных опухолей, в т.ч. почечно-клеточного рака, рака мочевого пузыря, рака поджелудочной железы. С потерей функции генов TSC1/TSC2 повышается способность опухолей к прогрессированию и метастазированию.

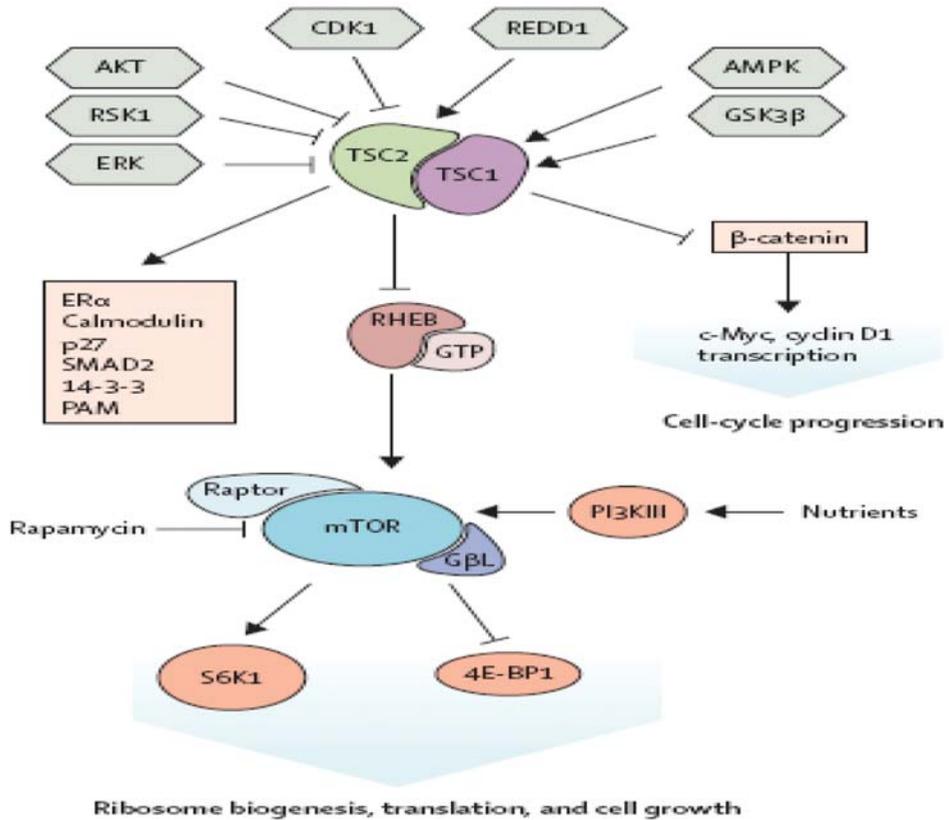
Некоторые исследователи выявили гиперфосфорилирование внеклеточной киназы, регулируемой внешними факторами — ERK, в клеточных линиях неоплазм туберозного склероза: СЭГА, СЭУ, АМЛ, ЛАМ, ногтевых фибром, а также в мышечных саркомах. Активированная ERK может играть важную роль в прогрессии опухолей. В эксперименте нефосфорилированная ERK подавляла туморогенный потенциал клеточных линий и рост опухолей, ассоциированных с мутированным статусом TSC. Классическим представителем группы ERK является митоген-активированная протеинкиназа MAP2K. В доклинических исследованиях показано, что ингибирование ERK при СЭГА носит MAPK-независимый характер. В опухолях ингибировать ERK может ингибитор циклинзависимой киназы (CDK) 2A. Активация ERK при отсутствии гетерозиготности при туберозном склерозе может возникать вследствие активации тирозиновых киназ рецепторов факторов роста, в т.ч. bcr-abl тирозинкиназы (ABL), тирозинкиназы тромбоцитарного фактора роста β . Накопленные данные позволяют предполагать, что гиперактивация ERK может быть триггером образования ассоциированных с туберозным склерозом опухолей [16]. Однако образование опухолей — многоступенчатый процесс, который нельзя объяснить только одним механизмом. В связи с этим будущие исследования позволят ближе подойти к пониманию патогенеза туберозного склероза.

В *таблице 2* представлена предположительная связь между мутациями и фенотипическими проявлениями туберозного склероза.

В зависимости от генетических изменений туберозный склероз имеет следующие нейрофизиологические особенности [14]:

1) при потере функции TSC1/TSC2 в нейронах гиппокампа наблюдаются увеличение размеров тел

Рисунок 3. Комплекс гамартин/туберин и его роль как центрального регулятора пути сигнальной трансдукции PI3K/Akt/mTOR при туберозном склерозе



После воздействия факторов роста комплекс гамартин/туберин подвергается фосфорилированию; активность белка GAP, активирующего ГТФ-азу, снижается. Под воздействием стимулирующих сигналов (гипоксия, снижение запаса питательных веществ и энергии) GAP-активность возрастает, комплекс активирует Rheb, активирующий в свою очередь киназу mTOR, которая играет ключевую роль в трансляции белков, таких как с-Мус и орнитиндекарбоксилазы, и участвует в контроле клеточного цикла. mTOR образует связи между субъединицей mTORC1 (Raptor) и GβL и через эфektorные белки S6K и 4E-BP1 инициирует трансляцию белка и контролирует биогенез в рибосомах. Питательные вещества могут поддерживать трансляцию через киназу PI3KIII и протеинкиназу B (PI3K/Akt), что приводит к фосфорилированию mTOR и активации трансляции и биогенеза. Гены TSC1/TSC2 могут также взаимодействовать с белками ERα, кальмодулином, p27, SMAD2, 14-3-3, PAM. Адаптировано по [17].

Условные обозначения:

- 4E-BP1 — белок 1, связывающий фактор инициации трансляции эукариот 4E;
- AKT — протеинкиназа B;
- AMPK - протеинкиназа, активированная АМФ;
- CDK1 — циклинзависимая киназа 1;
- ERK — внеклеточная протеинкиназа, регулируемая внешними сигналами;
- GβL — β-субъединица G-подобного белка;
- GSK3β — киназа 3β синтеза гликогена;
- PAM — белок, ассоциированный с-Мус;
- PI3KIII — фосфатидилинозитол-3-киназа;
- REDD1 — ответ на регуляцию развития и повреждения ДНК;
- RHEB — гомолог RAS, определяемый в большом количестве в головном мозге;
- RSK1 — рибосомальная S6 киназа 1;
- S6K1 — киназа, активирующая S6-субъединицу в рибосомах.

нейронов, аномалии корешков дендритов, усиление глутаматэргической нейротрансмиссии;

2) экспрессия ионотропных рецепторов к глутамату iGluR наблюдается в аномальных клетках тубер, постоянная экспрессия ионотропных рецепторов к глутамату iGluR ассоциирована с состоянием гипервозбуждения;

3) повышение уровня внеклеточного глутамата может приводить к гибели нейронов, нарушениям глутаматэргической физиологии синапсов, нарушениям в поведении и способности к обучению;

4) потеря функции TSC1 в астроцитах и нейронах (по результатам экспериментального исследования в мышинной модели) ведет к развитию аномальной организации головного мозга, спонтанной судорожной активности, повышенной нейрокортикальной возбудимости;

5) мутации аллелей TSC1 +/-, TSC2 +/- (по результатам экспериментального исследования в мышинной модели) ассоциированы с наличием дефектов социального поведения и когнитивными расстройствами при отсутствии церебральной патологии и спонтанных судорожных приступов.

На *рисунке 4* представлена схема предположительной патогенетической роли потери функции белкового комплекса гамартин/туберин.

Объяснить развитие клиники туберозного склероза у 10–20% пациентов, не несущих мутации в TSC1/TSC2, затруднительно. В настоящее время нет убедительных доказательств существования гена TSC3 или метилирования промотора гена TSC2. Учитывая накопленные данные, можно предполагать, что в основе патогенеза туберозного склероза у данной группы больных может лежать мозаицизм генов [16]. Схема развития мозаичных эмбрионов представлена на *рисунке 5*. Причинами того, что у пациентов с клиникой туберозного склероза не выявлены мутации, могут быть:

1) недостаточная чувствительность диагностических методик (например, жидкостной хроматографии или прямого сиквенса);

2) мутации в интронных и промоторных участках генов, приводящие к прекращению экспрессии генов («молчанию» генов) и потере большинства мутаций при тестировании с использованием традиционных скрининговых методик;

3) трудности выявления мутаций при использовании традиционных методик и низкая частота мозаицизма при мутациях в генах TSC1/TSC2;

4) наличие других дополнительных и не описанных ранее локусов мутаций [17].

Несмотря на значительные достижения в исследовании туберозного склероза, до сих пор неясно,

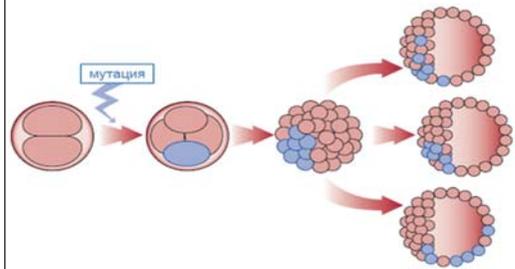
Таблица 2. Мутации генов TSC1 и TSC2: корреляция между генотипом и фенотипом [14]

Ген	Мутация/полиморфизм	Фенотип
TSC1	903C→T(R228X)	Умственная отсталость, судорожные приступы, аномалии головного мозга, гипопигментные пятна.
	1135C→T(Q373X)	Лунки в эмали зубов, ангиофибромы лица в сочетании с эпилепсией и умственной отсталостью.
	2713C→T(R905W)	Кортикальные туберы, субэпендимальные узлы, субэпендимальные гигантоклеточные астроцитомы, серьезные судорожные приступы, включая инфантильные спазмы, синдром Леннокса — Гасто, когнитивные нарушения.
	2713C→G(R905G)	Серьезные фенотипические изменения, включая синдром Веста, рабдомиому сердца, кортикальные туберы, субэпендимальные узлы
TSC2	2714G→A(R905Q)	Гипопигментные пятна, фокальные судорожные приступы легкой степени выраженности, проходящие спонтанно или легко поддающиеся терапии.
	3106T→C(S1036P)	Эпилептические приступы, аномалии белого вещества головного мозга.
	3271insTCCG	Эпилептические приступы, аномалии белого вещества головного мозга.
	4324delC	Умственная отсталость с эпилептическими приступами, аномалии головного мозга, гипопигментные пятна.
	4324C→T(R1436X)	Субэпендимальные узлы.
	4508→C(Q1503P)	Серьезные нейрофизиологические заболевания, включая аутизм, расстройства настроения, тревожные расстройства.
4684G→A(G1556S)	Проявления туберозного склероза легкой степени	

как связаны между собой мутации TSC1 и TSC2 и клинические проявления заболевания. Два наиболее необычных фенотипа при tuberозном склерозе: способность доброкачественных клеток, несущих мутации в TSC1 и TSC2, метастазировать, что клинически проявляется лимфангиолейомиоматозом легких, и способность клеток, несущих мутации в TSC1 и TSC2, к дифференцировке в ангиомиолипомах почек в трех направлениях (сосуды, гладкие мышцы, жировая клетчатка) [1].

Патогенетические подходы к терапии tuberозного склероза. Развернувшиеся в последние десятилетия активные исследования механизма опухолевой трансформации привели к идентификации ряда сигнальных путей, ответственных за регуляцию пролиферации опухолевых клеток. Иницируемые ростовыми факторами, гормонами или цитокинами такие сигнальные пути, как правило, начинаются с тирозинкиназного каскада и заканчиваются активацией различных семейств

Рисунок 5. Схема развития мозаичных эмбрионов



Спорадические мутации, возникающие на ранних этапах деления эмбриона, приводят к формированию смешанной популяции генетически различающихся клеток. В зависимости от распределения мутированных клеток между трофобластом и эмбриобластом мутации могут в разной степени влиять на различные органы. Адаптировано по [16].

транскрипционных факторов, контролирующих экспрессию генов клеточного деления. Выявление таких активированных при канцерогенезе сигнальных путей и подавление их активности является

Рисунок 4. Схема предположительной патогенетической роли потери функции белкового комплекса гамартин/туберин



одной из актуальных задач современной системной таргетной терапии. Описание ключевой роли в патогенезе туберозного склероза каскада передачи сигналов PI3K/Akt/mTOR, ответственного за интеграцию пролиферативных стимулов и активацию трансляции белков, позволило спланировать и начать клинические исследования по изучению эффективности ингибиторов mTOR в качестве препаратов патогенетической терапии туберозного склероза.

Рапамицин, медиатор синтеза белков, является ингибитором пути сигнальной трансдукции mTOR и имеет прямое влияние на нейрофизиологические процессы [19, 20]. Также рапамицин влияет на медиаторное mTOR подавление трансляции через рецепторы к глицину и γ -аминобутировой кислоте (GluR/GABA-R). Доклинические исследования на мышинных моделях и ранние клинические исследования рапамицина и его активного аналога эверолимуса (RAD001) продемонстрировали их потенциальную терапевтическую значимость при туберозном склерозе. Рапамицин и эверолимус (RAD001) оказались высокоспецифичными и эффективными в отношении ингибирования пути Akt/mTOR, а также оказывали терапевтическое воздействие в отношении размеров и миелинизации нейронов (в мышинных моделях). Результаты исследований убедительно показали терапевтические возможности рапамицина и эверолимуса в лечении туберозного склероза, в т.ч. ассоциированных с TSC заболеваний головного мозга и инфантильных спазмов. Ингибиторы mTOR могут нормализовать нарушенную при потере функции генов туберозного склероза активность киназы mTOR; аналоги рапамицина могут быть эффективны в лечении различных вариантов туберозного склероза, в т.ч. SEGA, кожных изменений, ЛАМ, АМЛ, почечно-клеточного рака и поликистоза почек, а также связанных с TSC эпилепсии, умственной отсталости и аутизма [14].

Патогенетическая терапия субэпендимальных гигантоклеточных астроцитом и ангиомиолипом почек, ассоциированных с туберозным склерозом. У 5–20% больных туберозным склерозом встречаются субэпендимальные

гигантоклеточные астроцитомы (СЭГА) — медленно растущие глионейрональные опухоли, не способные к спонтанной регрессии. Опухоль обычно располагается в непосредственной близости к отверстию Монро, а ее рост связан с риском развития острой гидроцефалии, последствия которой могут быть фатальными. До последнего времени единственным способом лечения СЭГА была хирургическая резекция. Однако особенности локализации СЭГА делают хирургическое вмешательство затруднительным, а удаление опухоли связано с высоким риском развития интраоперационных и послеоперационных осложнений, но тем не менее не исключает вероятность продолженного роста или рецидива опухоли. Ингибитор mTOR-1 комплекса эверолимус (RAD001) корректирует специфический молекулярный дефект, вызывающий заболевание туберозным склерозом. Имеются отдельные сообщения, что подавление mTOR приводит к уменьшению объема опухолей или стабилизации СЭГА, ангиомиолипом почек, ангиофибром лица, лимфангиолейомиоматоза [22].

■ Ключевую роль в патогенезе различных злокачественных новообразований играет избыточная активация mTOR.

В клиническом исследовании I–II фазы (NCT00411619 ClinicalTrial.gov) была оценена эффективность и безопасность эверолимуса для лечения ассоциированных с туберозным склерозом гигантоклеточных астроцитом головного мозга у пациентов старше 3 лет (n = 28). В исследование включали пациентов старше 3 лет с диагнозом туберозного склероза, установленного в соответствии с модифицированными критериями Гомеса или позитивными генетическими тестами, и прогрессирующими СЭГА (рост размеров опухоли был подтвержден серией не менее двух МРТ-исследований), однако без кистозных изменений в головном мозге или декомпенсированной гидроцефалии. Эверолимус назначали ежедневно внутрь в

начальной дозе 3 мг/м², которая могла быть модифицирована до достижения концентрации препарата в плазме 5–15 нг/мл. Эффективность лечения оценивали по изменению объема опухоли СЭГА через 6 месяцев терапии препаратом (с централизованным пересмотром данных МРТ-исследований). Также оценивали влияние препарата на частоту судорожных приступов, качество жизни, нейрокогнитивную функцию. Всего с января 2007 г. по декабрь 2008 г. в исследование было включено 28 пациентов. Средний возраст больных в исследовании составил 11 лет (3–34), 22 пациента были моложе 18 лет. Генотипирование было проведено у 22 пациентов (54%); мутации в TSC1 выявлены у 4 больных, TSC2 — у 10 больных, у 1 больного не было обнаружено мутаций в обоих генах. При оценке объема опухоли после 6 месяцев терапии было показано, что у 21 пациента (75%) опухоль уменьшилась не менее чем на 30%, у 9 пациентов (32%) отмечено уменьшение объема опухоли более чем на 50%. Отмечено, что наиболее быстрое уменьшение объема регистрировалось в первые 3 месяца терапии, а при продолжении лечения эффект сохранялся или усиливался. Уменьшение общего объема опухолей в исследовании было статистически достоверным ($p < 0,001$). Также в результате лечения очевидно уменьшались проявления дисплазии паренхимы и гидроцефалии. У пациентов в исследовании не было отмечено появления новых опухолевых очагов, нарастания гидроцефалии или ухудшения симптомов, связанных с повышенным внутричерепным давлением. Потребность выполнять хирургическую резекцию опухоли также не возникла. Расчетный показатель среднего ежегодного изменения объема опухоли на фоне лечения составил $-0,57 \text{ см}^3$ в год по сравнению с аналогичным показателем без лечения $+0,57 \text{ см}^3$ в год. Дополнительно был проведен исследовательский анализ изменения объемов левого и правого желудочков мозга. Средний объем левого желудочка до начала лечения был $15,5 \text{ см}^3$, через 6 месяцев — $12,3 \text{ см}^3$, левый желудочек через 6 месяцев терапии уменьшился в среднем на $3,2 \text{ см}^3$ (от $-7,7$ до $31,6$). Средний объем правого желудочка до начала лечения был $17,3 \text{ см}^3$, через 6 месяцев — $14,4 \text{ см}^3$, пра-

вый желудочек через 6 месяцев терапии уменьшился в среднем на $3,2 \text{ см}^3$ (от $-4,8$ до $26,1$). Терапия эверолимусом была ассоциирована со снижением общей частоты судорожных приступов (в среднем -1 приступ, $p = 0,02$). На момент включения в исследование 23 пациента (82%) получали противоэпилептические препараты; в случаях, когда данные препараты индуцировали CYP3A4, их применение в комбинации с эверолимусом приводило к снижению его концентрации. Качество жизни оценивали по 100-балльной шкале QUOLCE (опросники по качеству жизни, применяемые при детской эпилепсии). Было показано, что качество жизни пациентов на фоне лечения в целом характеризовалось стабильным улучшением. Так, до начала лечения средний показатель был $57,8 \pm 14$, через 3 месяца лечения — $63,4 \pm 12,4$, через 6 месяцев — $62,1 \pm 14,2$. Нейропсихологическое тестирование было проведено 24 пациентам, т.к. его выполнение в большинстве случаев было затруднено из-за сниженной способности к обучению, аутизма, других расстройств поведения. По результатам тестирования не было отмечено изменений в способности к обучению и другим измеряемым показателям. Помимо этого у 13 из 15 пациентов с ангиофибромами лица через 6 месяцев лечения было отмечено уменьшение размеров образований. Терапия эверолимусом характеризовалась развитием как минимум одного нежелательного явления у каждого пациента. В большинстве случаев нежелательные явления были 1–2-й степени выраженности и соответствовали известному профилю безопасности эверолимуса. Серьезные нежелательные явления 3-й степени были зарегистрированы у 10 пациентов (единичные случаи развития синусита, пневмонии, вирусного бронхита, инфекций полости рта, стоматита, лейкопении), 4-й степени — у 1 пациента (эпилептический приступ). Связанные с исследуемым препаратом нежелательные явления 3–4-й степени были зарегистрированы у 4 пациентов (бронхит 3-й степени, пневмония 3-й степени, рвота 3-й степени, эпилептический приступ 4-й степени). Исследователи пришли к заключению, что лечение эверолимусом приводило к значительному уменьшению объема опухоли при СЭГА, связанной с постоянной актива-

цией комплекса mTOR1 и ассоциированной с туберозным склерозом, а также значимому снижению частоты судорожных приступов. Последний эффект особенно важен, т.к. достигается за счет механизма действия эверолимуса, отличного от традиционных противоэпилептических препаратов. Системная терапия эверолимусом может стать приемлемой альтернативой хирургической резекции. Редукция объема опухоли на 30% и более устраняет или снижает риск развития гидроцефалии и инвазии в паренхиму. У некоторых пациентов на фоне лечения удалось достичь нормализации объема желудочков мозга [22].

Ангиомиолипомы почек встречаются более чем у 50% больных туберозным склерозом. Ангиомиолипома — доброкачественная мезенхимальная опухоль, состав которой в различных соотношениях представлен жировой тканью, веретенообразными и эпителиоидными гладкомышечными клетками, аномальными тонкостенными кровеносными сосудами. У женщин в опухолях нередко определяются рецепторы к прогестерону. АМЛ почек составляют около 1% всех удаляемых хирургически опухолей этого органа; причем 33% всех случаев АМЛ почек определяется у больных туберозным склерозом. При туберозном склерозе опухоли чаще множественные, могут сочетаться с лимфангиолейомиоматозом легких (ЛИАМ) [23].

Еще один ингибитор mTOR (сиролимус) был изучен у 25 взрослых пациентов с АМЛ почек, ассоциированных с туберозным склерозом или спорадическим ЛИАМ (NCT00457808 ClinicalTrial.gov). По дизайну исследования пациенты получали лечение сиролимусом в течение 12 месяцев. Пациентов, завершивших лечение, продолжали наблюдать еще в течение 12 месяцев. Было показано, что объем

АМЛ после 12 месяцев лечения составил в среднем $53,2 \pm 26,6\%$ по сравнению с объемом до начала терапии ($p < 0,001$). У 5 пациентов уменьшение объема более чем на 30% сохранялось в течение 24 месяцев. Дополнительно была проведена оценка функции внешнего дыхания. Через 12 месяцев терапии было отмечено улучшение по всем оцениваемым показателям (объем форсированного выдоха в секунду, форсированная жизненная емкость легких, остаточный объем легких). У 5 пациентов отмечено развитие серьезных нежелательных явлений (диарея, пиелонефрит, стоматит, респираторные инфекции) [24].

Опубликованы сообщения об эффективности сиролимуса в случаях трудно поддающейся лечению эпилепсии, ассоциированной с туберозным склерозом. В группе 15 пациентов с ежедневными судорожными приступами на фоне приема сиролимуса снижение частоты приступов более чем на 90% было достигнуто у 3 пациентов (20%), более чем на 50% — у 8 пациентов (53%). Ответа на терапию сиролимусом не было зарегистрировано у 4 (27%) пациентов. Интересно, что положительный эффект сиролимуса в отношении частоты эпилептических приступов у 8 больных (53%) сохранялся в течение 18 месяцев последующего наблюдения [25].

В настоящее время продолжаются 2 клинических исследования фазы III — EXIST-1 (NCT00789828 ClinicalTrial.gov) при гигантоклеточной астроцитоме, ассоциированной с туберозным склерозом, и EXIST-2 (NCT00790400 ClinicalTrial.gov) при спорадических и ассоциированных с туберозным склерозом ангиомиолипомах почек. Результаты данных исследований могут положить начало патогенетической таргетной системной терапии туберозного склероза.



ЛИТЕРАТУРА

1. Astrinidis A., Henske E. *Oncogene* (2005) 24, 7475—7481.
2. Sancak O., Nellist M. et al., *Eur. J. Hum. Genetics* (2005) 13, 731—741.
3. Smolarek T., Wessner L. et al., *Am. J. Hum. Genetics* (1998) 62, 810—815.
4. Niida Y., Stemmer-Rachamimov A. et al., *Am. J. Hum. Genetics* (2001) 69, 493—503.

5. Plank T., Yeung R. et al., *Cancer Research* (1998) 58, 4766—4770.
6. Wienecke R., Maize J. et al., *Oncogene* (1996) 13, 913—923.
7. Lou D., Griffith N., Noonan D., *Mol Cell Biol. Res. Commun.* (2001) 4, 374—380.
8. Crino P., J. Child. *Neurol.* (2004) 19, 716—725.
9. Gao X., Zhang Y. et al., *Nat. Cell Biol.* (2002) 4, 699—704.

Полный список литературы вы можете запросить в редакции.