

Противоопухолевые препараты, применяемые для лечения злокачественных опухолей органов пищеварения: механизмы действия и фармакокинетика.

Д.Б. Корман

(Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН)

Лекция 3. Таргетные, молекулярно-ориентированные препараты.

Значительным достижением противоопухолевой химиотерапии последнего десятилетия является образование нового класса цитостатиков, так наз «**таргетных, молекулярно-ориентированных препаратов**», к которым относят препараты, создаваемые для воздействия на определенные, заранее установленные внутриклеточные молекулярные мишени, имеющие ключевое значение для жизнедеятельности опухолевой клетки. Следует заметить, что все эти мишени имеются и в нормальной клетке, но при опухолевой трансформации может происходить их гиперэкспрессия или гиперактивация, что и является основанием для применения определенных таргетных препаратов при некоторых опухолях. В практической противоопухолевой химиотерапии опухолей органов пищеварения в настоящее время используются три ЛС из полутора десятков разнообразных таргетных препаратов, имеющих в арсенале онкологов.

Таргетные препараты подразделяются на несколько групп. В терапии опухолей пищеварительного тракта наиболее часто используются ингибиторы рецепторов факторов роста. Рецепторы факторов роста представлены большим семейством различных трансмембранных белков, локализованными в поверхностных мембранах клеток. Каждый рецептор имеет 3 части (домена) – экстрацеллюлярный домен, ответственный за соединение с лигандом (фактором роста), трансмембранную липофильную часть и интрацеллюлярный домен, представляющий собой тирозинсодержащие киназы, с активации которых начинается каскад последующих реакций по передаче сигнала на белки-переносчики.

Основной мишенью для таргетной терапии опухолей желудочно-кишечного тракта являются рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). В норме после связывания EGFR с соответствующим лигандом и VEGF с соответствующим рецептором VEGFR) происходит активация рецепторов, что индуцирует последующую активацию нескольких сигнальных путей (RAS/RAF/MAPK, STAT , PI3K/Akt), для трансдукции митогенного сигнала от рецептора к ядру клетки (рис.1).

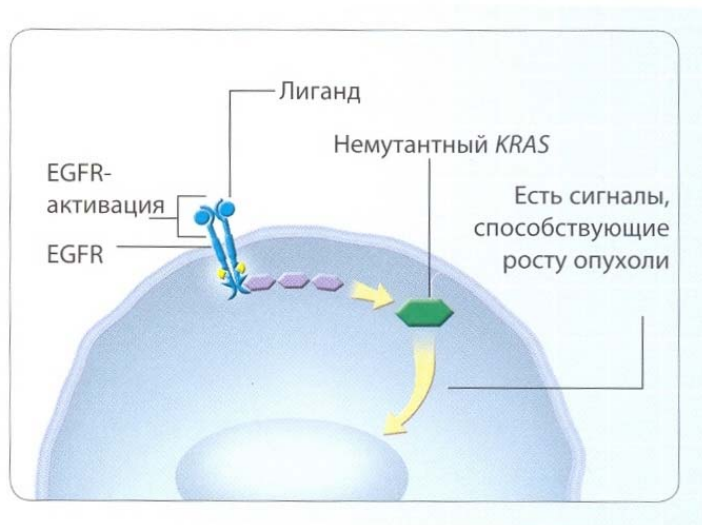


Рис.1. Передача митогенного сигнала при взаимодействии лиганда с EGFR.

В опухолях, в частности в колоректальном раке, часто встречается гиперактивация сигнала от этих рецепторов. Этот феномен является результатом нескольких событий: гиперэкспрессии рецептора, аутокринной продукции самой опухолью избыточных количеств лиганда и мутации рецепторов, в результате которой они постоянно находятся в активированном состоянии, независимо от связывания с лигандом. Результаты гиперактивации этих рецепторов в опухолевых клетках многообразны, включают неконтролируемую пролиферацию с увеличением подвижности клеток, метастазирование, стимуляцию ангиогенеза, подавление апоптоза.

Исходя из этих данных, в качестве противоопухолевых агентов предложено использовать **моноклональные антитела** к EGFR и VEGF, связывание которых с рецептором или ростовым фактором должно вести к блокированию сигнальных путей и соответственно к гибели клеток. В течение последнего десятилетия в клиническую практику для лечения опухолей органов пищеварения, в основном колоректального рака, введено два МАТ к EGFR (препараты цетуксимаб и панитумумаб) и МАТ к VEGF (препарат бевацизумаб).

Цетуксимаб (Эрбитукс) представляет собой химерное МАТ к EGFR, на 34% состоит из мышинового белка, что может вызывать нежелательную иммунологическую реакцию вследствие образования у больного антител к этому белку. **Панитумумаб (Вектибикс)** – полностью гуманизованное МАТ к EGFR, на 100%-й состоит из человеческого иммуноглобулина G2, что резко снижает его иммуногенность.

Механизм действия обоих препаратов одинаков – связываясь с экстрацеллюлярным доменом EGFR, они препятствуют его связыванию с природным лигандом и тем самым предотвращают димеризацию рецептора и последующее аутофосфорилирование тирозин киназ интрацеллюлярного домена рецептора. В результате не происходит активации белков, входящих в сигнальный каскад, клетка не получает пролиферативного сигнала, не делится и в конечном итоге наступает апоптоз (рис.2)

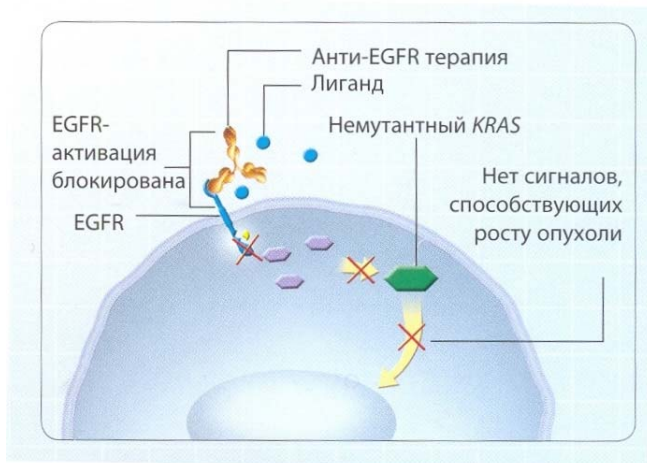


Рис.2. Прерывание митогенного сигнала при связывания EGFR с МАТ

Клинические испытания показали, что цетуксимаб и панитумумаб эффективны всего у 10-30% больных колоректальным раком, несмотря на наличие гиперэкспрессии EGFR, которая встречается в 70-75% опухолей толстого кишечника. В специальном клиническом исследовании обнаружено, что ответ на терапию цетуксимабом не связан ни с количеством клеток, экспрессирующих РЭФР, ни с плотностью распределения этих рецепторов в мембране

Исследование причин этого феномена позволило установить, что он связан с активирующей мутацией протоонкогена *KRAS*, расположенного в 12 хромосоме, и появлением в клетке мутированного белка *KRAS*.

KRAS, один из членов семейства белков *RAS* (*H-ras*, *K-ras*, *N-ras*), в клетке действует как «молекулярный переключатель». Физиологическая функция *KRAS* заключается в переключении с неактивного ГДФ-связанного состояния в активное, в котором в результате конформационного изменения белок диссоциирует с ГДФ и вместо него связывается с ГТФ (гуанозинтрифосфатом).

До связывания EGFR с лигандом *KRAS* находится в неактивированном состоянии. Связывание рецептора с лигандом инициирует димеризацию рецептора, что приводит к аутофосфорилированию, последовательному задействованию промежуточных адапторных белков и активации *KRAS*. Без активации этой первой молекулы на пути трансдукции митогенного сигнала не происходит активация всего сигнального пути, идущего от EGFR. Активированный *KRAS* передает митогенные сигналы включением различных сигнальных путей в результате взаимодействия с нижележащим белком *RAF*. В ходе нормального физиологического процесса после передачи сигнала активированный *KRAS* «выключается», благодаря собственной ГТФазной активности белка, которая гидролизует связанный ГТФ в ГДФ, тем самым возвращая белок в его неактивную конформацию.

При взаимодействии EGFR вместо обычного лиганда с МАТ не происходит активирования *KRAS* и, следовательно, в клетку не поступает необходимый сигнал, что ведет к подавлению пролиферации и апоптозу (Рис.2).

Мутации *KRAS* блокируют *KRAS* в активном ГТФ-связанном состоянии, нарушая собственную ГТФазную активность протеина. Мутированный *KRAS*, в отличие от «дикого» белка, конститутивно активен, не требует для своей активации сигнала от EGFR и поэтому блокирование рецептора с помощью МАТ не ведет к прерыванию трансдукции митогенного сигнала, т.е. в этом случае клетка резистентна к действию препарата (Рис.3)

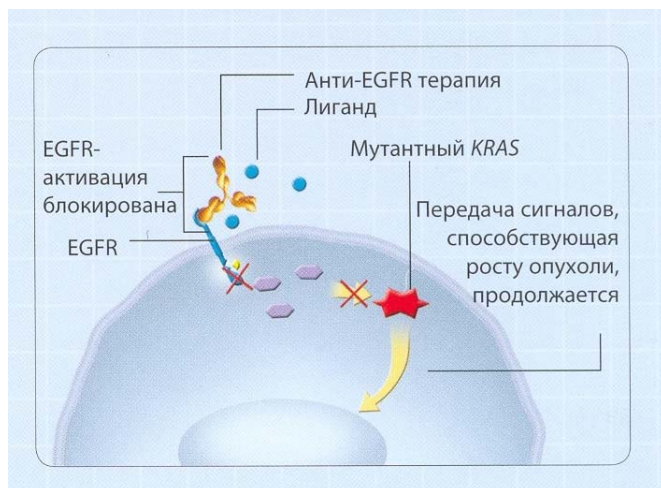


Рис.3 Отсутствия эффекта от МАТ к EGFR в опухолях с мутантным KRAS

В опухолях толстой кишки мутации *KRAS* обнаруживаются в 35-50% случаев. Наличие мутантного *KRAS* коррелирует со злокачественным течением опухолевого процесса, плохим прогнозом и ассоциировано с отсутствием эффекта от лечения цетуксимабом и панитумумабом. В настоящее время общепринято, что наличие мутации *KRAS* в клетках рака толстой кишки следует рассматривать как предиктор резистентности к МАТ к EGFR и определение этой мутации обязательно перед назначением этих препаратов.

Рецептор эпидермального фактора роста EGFR является также мишенью для действия другого таргетного препарата – **эрлотиниба (тарцева)**. В отличие от цитуксимаба, эрлотиниб представляет собой химическое соединение, относящееся к группе ингибиторов тирозин киназы интрацеллюлярного домена рецептора. Взаимодействуя с участком этого фермента, ответственным за связывание с АТФ, препарат ингибирует тем самым аутофосфорилирование рецептора, возникающее после связывания EGFR с ростовым фактором, и, как следствие, нарушает фосфорилирование нижележащих сигнальных молекул, участвующих в каскаде реакций по трансдукции сигнала. В результате, несмотря на связывание с лигандом и димеризацию рецептора, возникший митогенный сигнал прерывается на уровне тирозин киназы и не передается к другим сигнальным молекулам. Эрлотиниб применяется в комбинации с гемцитабином при раке поджелудочной железы.

При лечении колоректального рака используется еще один таргетный препарат – **бевацизумаб (авастин)**, по фармакологическому эффекту относящийся к ингибиторам неоангиогенеза – процесса образования новых кровеносных сосудов, имеющему важнейшее значение для роста опухолей.

Неоангиогенез является важным патогенетическим фактором роста и прогрессирования опухолей, т.к. опухоль при достижении определенного размера (1-2 мм в диаметре) уже не может расти без дополнительного поступления необходимых веществ. Для этого должен быть включен неоангиогенез т.е. образование новых сосудов. Этот момент является критическим для прогресса опухоли, т.к. в результате неоангиогенеза она превращается из небольшого неопасного для организма кластера мутантных клеток в опухоль, способную к злокачественному росту, инвазии и метастазированию. С другой стороны подавление неоангиогенеза является важным механизмом противоопухолевого воздействия.

Ангиогенез – это сложный многоступенчатый процесс, строго контролируемый балансом между стимулирующими и ингибирующими факторами. Период образования новых сосудов характеризуется рядом независимых, но тесно связанных между собой этапов. Важнейшую роль в неоангиогенезе играет пролиферация эндотелиальных клеток, для развития которой наибольшее значение имеет действие фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), который считается «прямым стимулятором»

ангиогенеза. Фактор роста эндотелия сосудов проявляет свою активность, связываясь с соответствующими рецепторами, экспрессируемыми на мембране эндотелиальных клеток, что запускает в эпителиальной клетке каскад трансдукции митогенных сигналов. В результате происходит миграция эндотелиальных клеток из предсуществующих капилляров и венул во внесосудистое пространство и их пролиферация, образование из этих клеток нового сосуда и включение его в общую сосудистую сеть.

Высокий уровень экспрессии фактора роста эндотелия сосудов найден во многих опухолях (рак толстой кишки, рак молочной железы, рак желудка, рак легкого). Причиной этого считают условия гипоксии и оксидативного стресса, характерные для опухоли.

Бевацизумаб, также как цетуксимаб, является моноклональным антителом, однако в отличие от цетуксимаба мишенью для его действия служит не рецептор, а ростовой фактор. Бевацизумаб представляет собой рекомбинантное гуманизованное моноклональное антитело против фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Бевацизумаб реагирует с участком VEGF, ответственным за связывание с соответствующим рецептором, что блокирует образование ангиогенного сигнала и, как следствие, подавляет неоангиогенез.

К таргетным препаратам ингибиторам тирозин киназы, применяемым для лечения сравнительно редкой опухоли желудочно-кишечного тракта – стромальной опухоли, относится препарат **иматиниб (гливек)**. Однако в отличие от эрлотиниба, иматиниб ингибирует тирозинкиназную активность не только рецепторов некоторых факторов роста, но и химерного белка, продукта химерного гена BCR/ABL. Этот химерный ген образуется в гемопоэтических клетках вследствие транслокации гена ABL с 9-й на 22-ю хромосому. Следствием этого является образование «филадельфийской» (Ph) хромосомы. В результате экспрессии гена BCR/ABL образуется химерный белок p210^{BCR/ABL}, обладающий повышенной тирозинкиназной активностью. Появление этого белка в гемопоэтических клетках-предшественниках приводит к нарушению нормального функционирования клетки и ее злокачественной трансформации в результате активации одного из путей трансдукции митогенного сигнала (ras-MAPK). Со временем клетки, содержащие онкобелок p210^{BCR/ABL}, вытесняют нормальные стволовые клетки и развивается клиничко-гематологическая картина хронического миелолейкоза. Иматиниб и создавался как препарат для лечения этого заболевания, поскольку обладает высокой ингибирующей активностью по отношению к тирозин киназе белка p210.

В процессе изучения препарата было установлено, что иматиниб, являющийся специфическим низкомолекулярным ингибитором тирозин киназы, способен ингибировать также тирозин киназу некоторых рецепторов, в частности, рецептора стволовых клеток c-kit.

Белок c-kit представляет собой трансмембранный рецептор, лигандом для которого служит фактор роста, называемый фактором стволовых клеток (SCF); во внутриклеточный домен рецептора входит тирозин киназа. В норме в формировании сигнального пути участие c-kit идентично другим трансмембранным рецепторам. После связывания лиганда SCF с внеклеточным доменом c-kit образуется гомодимер из двух соседних молекул c-kit, происходит аутофосфорилирование и активация внутриклеточного домена с последующей передачей сигнала по каскаду сигнальных молекул в ядро. Функции c-kit аналогичны функциям рецепторов других факторов роста – регулирование пролиферации, дифференцировки, адгезии клеток и апоптоза.

В конце 1990-х годов, была обнаружена экспрессия на поверхности клеток стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта мутантного онкобелка c-kit, экспрессируемого онкогеном *c-kit* и обладающего конститутивной лиганд-независимой активностью тирозин киназы, что обуславливает неконтролируемую пролиферацию клеток этой опухоли. Мутированный *c-kit* обнаруживается в 85-90% случаев стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта. Было установлено также, что c-kit, экспрессируемый клетками стромальных опухолей, имеет ряд общих характеристик (в первую очередь, по АТФ-связывающим участкам) с внутриклеточной нерепепторной тирозин киназой, входящей в

онкопротеин p210^{BCR/ABL}. Все эти данные и послужили основанием для исследования эффективности и последующего внедрения иматиниба для лечения стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта.

Фармакокинетика

Некоторые фармакокинетические параметры описанных выше ЛС представлены в **таблице 4**.

Таблица 4.

Некоторые фармакокинетические показатели цитостатиков

| Препарат | ах | C _{max} | Связывание с белками плазмы | Исчезновение из плазмы (T _{1/2}) | Выведение с мочой | Выведение с фекалиями |
|-------------|-----|------------------|-----------------------------|--|-------------------|-----------------------|
| Бевацизумаб | | | | 1.4 – 19-20 дн | | |
| Цетуксимаб | нед | 185±55 мкг/мл | - | 70-100ч | - | - |
| Эрлотиниб | ч | 1,995 нг/мл | 95% | 36,2 ч | - | >90% |

- нет данных

Бевацизумаб (Авастин). Фармакокинетика бевацизумаба, как и других антител, описывается двухкамерной моделью. Распределение ЛС характеризуется низким клиренсом, низким объемом распределения (V_c) и длительным $T_{1/2}$, что позволяет добиться поддержания необходимой терапевтической концентрации препарата в плазме при введении 1 раз в 2–3 недели. Клиренс бевацизумаба не зависит от возраста пациента. Объем распределения (V_c) составляет 2,66 и 3,25 л у женщин и мужчин, соответственно, что соответствует объему распределения IgG и других моноклональных антител. После коррекции дозы с учетом веса у мужчин V_c на 22% больше, чем у женщин. Фармакокинетика ЛС в диапазоне доз от 1,5 до 10 мг/кг в неделю имеет линейный характер. Клиренс бевацизумаба составляет 0,207 л/сут – у женщин и 0,262 л/сут – у мужчин. Объем распределения и клиренс соответствуют начальному $T_{1/2}$ (1,4 дня) и конечному $T_{1/2}$ (20 и 19 дней) у женщин и мужчин соответственно. Этот $T_{1/2}$ соответствует заключительному $T_{1/2}$ человеческого эндогенного IgG, который составляет 18–23 дня. У пациентов с низким содержанием альбумина (≤ 29 г/дл) и высоким уровнем щелочной фосфатазы (≥ 484 ЕД/л) клиренс бевацизумаба, примерно, на 20% выше, чем у пациентов со средними лабораторными показателями.

Цетуксимаб (Эрбитукс) В/в инфузии продемонстрировали дозо-зависимую фармакокинетику при еженедельном введении препарата в дозах от 5 до 500 мг/м² площади поверхности тела. При введении Эрбитукса в исходной дозе 400 мг/м² среднее значение C_{max} составляло 185±55 мкг/мл. Средний V_d был примерно эквивалентным сосудистой области (2,9 л/м² в диапазоне от 1,5 до 6,2 л/м²). Средний клиренс соответствовал 0,022 л/ч/м². Сывороточные концентрации достигали стабильных значений через 3 недели применения цетуксимаба в режиме монотерапии. Среднее значение пика концентрации составляло 155,8 мкг/мл через 3 недели и 151,6 мкг/мл через 8 недель. Цетуксимаб имеет продолжительный $T_{1/2}$ с варьированием значений в диапазоне от 70 до 100 ч в указанной дозе. Фармакокинетические характеристики цетуксимаба не зависят от расы, пола, возраста, функции почек и печени.

Эрлотиниб (Тарцева) хорошо всасывается после приема внутрь. Биодоступность эрлотиниба – 59%, прием пищи может увеличивать его биодоступность. Время достижения максимальной концентрации ($T_{C_{max}}$) в плазме 4 ч; C_{max} в плазме 1,995 нг/мл. Равновесная концентрация достигается на 7-8 день... Перед приёмом следующей дозы средняя минимальная концентрация (C_{min}) в плазме 1,238 нг/мл. Значение AUC в междозовом интервале при достижении равновесной концентрации 41,3 мкг/ч/мл. Кажущийся объём распределения 232 л. В образцах опухолевой ткани (рак легкого, рак гортани) на 9-й день лечения средняя концентрация эрлотиниба равна 1,185 нг/г, что составляет 63% от C_{max} в плазме в равновесном состоянии. Концентрация основных активных метаболитов в ткани

опухоли 160 нг/г, что соответствует 113% C_{max} в плазме в равновесном состоянии. C_{max} в ткани составляет около 73% концентрации ЛС в плазме, $T_{C_{max}}$ в ткани – 1 ч. Связь с белками плазмы (альбумин и альфа-1 кислый гликопротеин) – 95%. Средний клиренс 4,47 л/ч. Не выявлено связи между клиренсом, возрастом, массой тела, полом и расой больного. Средний период полувыведения $T_{1/2}$ – 36,2 ч. Метаболиты и следовые количества эрлотиниба выводятся, преимущественно, с каловыми массами (>90%), почками выводится небольшое количество введенной дозы.

Иматиниб после приема внутрь хорошо абсорбируется, биодоступность составляет 98%, C_{max} достигается в течение 2-4 часов, связывание с белками плазмы составляет 95%. При приеме повторных доз фармакокинетика не изменяется. Метаболизируется в печени преимущественно при участии цитохрома CYP3A4 системы цитохрома P-450 с образованием основного активного метаболита N-деметилированного производного пиперазина. Активность метаболита *in vitro* сопоставима с активностью исходного препарата. $T_{1/2}$ для иматиниба составляет 18 часов, для его активного метаболита – 40 часов. После перорального приема в течение 7 суток выводится примерно 81% введенной дозы, в том числе 68% с фекалиями, главным образом в виде метаболитов. В неизмененном виде выводится 25% – 20% с фекалиями, 3% с мочой.

Продолжение следует.