

■ МЕК как терапевтическая мишень в онкологии

Цитирование: Владимирова Л. Ю. МЕК как терапевтическая мишень в онкологии // Злокачественные опухоли. – 2015. – № 4, спецвыпуск 2. С. – 20–27

DOI: 10.18027/2224-5057-2015-4s2-20-27

Протеины подсемейства МЕК, и в частности МЕК 1/2 являются одними из ключевых в карциногенезе. Рассмотрен механизм действия МЕК ингибиторов. Приведены результаты ряда современных клинических исследований с использованием МЕК ингибиторов, представлены данные их эффективности и токсичности. В обсуждении автором всесторонне проанализированы возможные причины их низкой эффективности у больных с различной онкопатологией, в том числе и с учетом наличия мутаций BRAF, KRAS, NRAS. Рассмотрены перспективы решения этой проблемы, также обоснован мультимодальный подход с использованием комбинированной таргетной терапии и цитостатиков. Сокращения: НМРК – немелкоклеточный рак легкого, MAPK – митогенактивированные протеин киназы, FDA (Food and Drug Administration) – Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, ЦНС – центральная нервная система.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

ингибиторы МЕК, MAPK-extracellular regulated kinase, MAPK путь, таргетная терапия

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Владимирова Любовь Юрьевна – ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, e-mail: lubovurievna@gmail.com

Митогенактивированные протеин киназы (MAPK) – это семейство энзимов, имеющееся у всех эукариотов, которое отвечает за трансдукцию сигнала и осуществляет связь между внеклеточными сигналами и внутриклеточными путями экспрессии генов. Особую роль в пролиферации клетки и карциногенезе играет путь MAPK RAS/RAF/MEK/ERK, который включает цепь протеинов и киназ, в том числе МЕК (MAPK-extracellular regulated kinase). Эти протеинкиназы регулируют и активируют одна другую с помощью системы фосфорилирования.

Передача сигнала МЕК. Путь RAS/RAF/MEK/ERK активируется широким спектром ростовых факторов и цитокинов, действующих через рецепторы тирозин-киназ (рис. 1). Ростовые факторы EGF, IGF и TGF сначала связываются, а затем активируют трансмембранные рецепторы, расположенные на поверхности клетки. Активированные рецепторы далее связывают множество белков-передатчиков, которые в свою очередь вовлекают белки обмена нуклеотидов. Белки обмена активируют RAS путем превращения связанных форм из неактивной GDP в активную GTP форму. Активированный RAS запускает RAF киназу в мембране, где ряд фосфорилирующих реакций также приводят ее в активное состояние. Активированный RAF фосфорилирует и активирует МЕК-киназу. МЕК-киназа в свою очередь фосфорилирует и активирует ERK-киназу. Фосфорилированная ERK может перемещаться в ядро, где она фосфорилирует и активирует ряд факторов транскрипции [12, 57, 54]. Это приводит к изменению транскрипции гена и пролиферации и дифференцировки клетки [35, 47, 43,

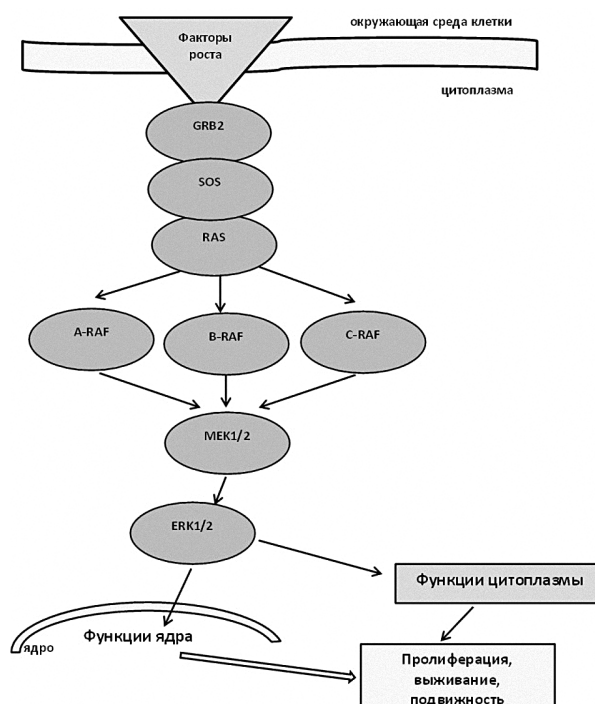


Рис. 1. Сигнальный путь RAS-RAF-MEK-ERK

Примечание: SOS (son of sevenless) – активированный гуанин нуклеотидный фактор обмена, приводящий к активированию RAS; Grb2 – связывающий протеин

56]. MEK 1 и 2 являются типичными протеинами подсемейства MEK [4]. Хотя мутации MEK 1/2 обнаруживают редко, постоянно активный MEK был обнаружен в исследованиях более чем в 30% клеток первичной опухоли [24]. MEK 1/2 являются киназами с двойной специфичностью (обладают двойным специфическим действием) и катализируют фосфорилирование тирозина и треонина на ERK1 и ERK2, которые известны как их единственные физиологические субстраты [51].

MEK ингибиторы и их механизм действия. Было показано, что аберрантная передача сигнала через RAS/RAF/MEK путь приводит к трансформации клетки [35]. Например, активация MAPK важна для генной регуляции в фазе G1 клеточного цикла перед репликацией ДНК, а также при сборе веретена во время клеточного деления путем мейоза и митоза. Характерным свойством многих опухолей является нарушенная активация пути MAPK в следствие мутаций белков, вызванных онкогенами EGFR, PI3K, RAS, RAF. Поэтому, ингибирование MEK1/2 является перспективным подходом к блокированию каскада сигналов RAF/RAS.

Характеристики структуры MEK1/2 также имеют уникальное преимущество для использования этой молекулы в качестве таргетной. Она имеет карман смежный с сайтом для связывания Mg АТФ, который сохранился только в MEK-протеинах. При связывании ингибитором происходит последовательное изменение конформации, приводящее к закрытию нефосфорилированного MEK1/2 и каталитически неактивному состоянию. Механизм неконкурентного связывания АТФ не вызывает ингибирования благодаря уникальному карману АТФ. Это позволяет избежать нежелательных побочных эффектов, связанных с необратимым ингибированием других протеинкиназ, и не вызывает конкурирование с внутриклеточными концентрациями АТФ, что могло бы создавать ряд проблем. Иными словами, гидрофобный аллостерический карман, смежный с АТФ связывающим сайтом – уникальное отличие MEK от других киназ, позволяет селективно ингибировать другой сайт, а не высоко специфичную АТФ этой зоны [50, 55, 46]. Были разработаны несколько соединений с высокой ингибиторной активностью, исключительно действующих на MEK1/2, которые были исследованы в клинических испытаниях.

Все семь идентифицированных энзимов MEK-семейства селективно фосфорилируют серин/треонин- и тирозин-окончания таргетов, вниз по ходу трансдукции сигнала по каскаду MAPK. В общем, белки MEK имеют схожую структуру, которая включает домен с аминоконцом, каталитический домен (домен киназы) и домен с карбокси-концом. Отличительной особенностью каждого из MEK белков являются их индивидуальные концевые последовательности. Вместе с тем, MEK1 и MEK2, крайне важные медиаторы RAS/RAF/MEK/ERK пути, имеют относительно близкую структуру и функцию. Последовательность N-конца имеет док-сайт для субстрата ERK, последовательность для экспорта в ядро, уникальную для MEK1/2, и ингибиторный/аллостерический сегмент. Домен протеинкиназы высокоспецифичен и содержит главный каталитический сайт и сайт связывания АТФ, который находится возле ингибиторного/аллостерического сегмента в пределах N-конца. С-конец включает в себя домен для универсального дока, связывающий сайт для ближайших компонентов вверх по каскаду – Raf киназы.

MEK-ингибиторы представляют собой малые молекулы, которые ингибируют MEK фосфорилирование. Для этого MEK-ингибиторы связываются с ингибиторным/аллостери-

ческим сегментом смежным с АТФ-связывающим сайтом, вмешиваясь неконкурентно в работу с помощью протеинкиназ. Уникальный связывающий сайт MEK-ингибиторов позволяет благодаря высокой специфичности подойти только к MEK-протеинам и препятствует перекрестному ингибированию других серин/треониновых протеинкиназ. Все это приводит как к снижению активности MEK, так и количественному уменьшению активированной ERK в клетке. Используемые в настоящее время в клинических испытаниях ингибиторы MEK являются препаратами для приема внутрь один или два раза в день. Их метаболизм осуществляется системой цитохромов р450 в печени [46].

Эффективность ингибиторов MEK. В настоящее время в клинических исследованиях на разных этапах изучения находится большое количество ингибиторов MEK (табл. 1).

Однако эти препараты существенно отличаются по их фармакокинетике и способности устойчиво ингибировать MEK-зависимую активацию ERK.

Первый ингибитор MEK CI-1040 был включен в I фазу клинических испытаний в 2000 г., но к настоящему времени только один ингибитор MEK был одобрен FDA. Это связано с тем, что хотя и имелись некоторые данные об активности препаратов, при большинстве видов опухолей она была незначительной. Использование MEK ингибиторов в качестве монотерапии продемонстрировали свою эффективность при наличии BRAF и NRAS мутаций, а при опухолях с KRAS мутациями их эффективность была непостоянной. В настоящее время имеются исследования по синергическому действию комбинаций MEK-ингибиторов с RAF, PI3K и AKT ингибиторами, а также их сочетанию с различными цитостатиками (гемцитабином, таксанами и др.). Доклинические исследования показали противоопухолевую эффективность ингибиторов MEK при меланоме, раке толстой кишки, раке молочной железы, немелкоклеточном раке легкого, поджелудочной и щитовидной желез.

Токсичность ингибиторов MEK. После исследования большого количества MEK-ингибиторов у больных раком появились данные о токсичности, связанные с механизмом их действия. Большинство из них является общими для всех малых молекул ингибиторов киназ – сыпь, усталость и диарея. Сыпь, является одним из наиболее частых и дозозимитирующих побочных эффектов этой группы препаратов. В некоторых исследованиях ее частота достигает 80%. Было установлено, что в основе этой кожной токсичности лежит ингибирование RAF/MEK/ERK в MAPK пути в кератоцитах. Это происходит на уровне EGFR или ниже, на уровне MEK [49]. Однако, нет данных о том, что она коррелирует с эффективностью, как это отмечено с таргетной терапией EGFR блокаторами [38]. Специфичная токсичность для MEK ингибиторов включает нарушения зрения в виде помутнения и потерю остроты зрения. Есть описание окклюзии вен сетчатки [41], но наиболее часто встречается тяжелая центральная ретинопатия [16]. Эта токсичность носит обратимый характер после снижения дозы или отмены препаратов. Кроме того, отмечались периферический отек, частичный периорбитальный отек, а также высокий уровень креатинфосфокиназы, не связанный с выходом за пределы нормы тропонина при отсутствии рабдомиолиза или за счет другой патологии, а также редкие случаи дисфункции левого желудочка, или влияние на ЦНС, включая галлюцинации и расстройства (предположительно связанные с хорошим проникновением в ЦНС).

Selumetinib (AZD6244). Селуметиниб – потенциальный, неконкурентный АТФ ингибитор, имеющий высокую специфич-

Таблица 1.

Активные в настоящее время или закончившиеся исследования с ингибиторами MEK

Trial	Study Drugs	Disease	Study type
NCT01689519	Vemurafenib +/- GDC-0973	Previously untreated BRAFV600 melanoma	Phase III
NCT01693068	Pimasertib vs. dacarbazine	Previously untreated NRAS-mutant melanoma	Randomized Phase II
NCT01016483	Gemcitabine +/- pimasertib	Pancreatic cancer	Randomized phase II with safety run-in
NCT01752569	Selumetinib with HAART	AIDS-associated Kaposi's Sarcoma	Phase I/II
NCT01750281	Docetaxel +/- selumetinib	Second-line NSCLC	Phase II
NCT01278615	Selumetinib	MCT-related diffuse large B-cell lymphoma	Phase II
NCT01229150	Selumetinib +/- erlotinib	NSCLC	Randomized phase II
NCT01658943	Selumetinib + MK2206 vs. mFOLFOX	Pancreatic cancer	Randomized phase II
NCT01519427	Selumetinib + MK-2206	BRAFV600 melanoma after progression on BRAF inhibitor	Phase II
NCT01222689	Selumetinib + erlotinib	Pancreatic cancer	Phase II
NCT01143402	Selumetinib vs. temozolomide	Metastatic uveal melanoma	Randomized phase II
NCT00866177	Selumetinib	BRAF- or NRAS-mutated melanomas	Phase II
NCT01256359	Docetaxel +/- selumetinib	Melanoma with wild-type BRAF	Randomized phase II
NCT00890825	Docetaxel +/- selumetinib	Second-line in KRAS-mutated NSCLC	Randomized phase II
NCT01333475	Selumetinib + MK-2206	CRC	Pilot study
NCT01726738	Trametinib + dabrafenib	BRAF-mutant melanoma	Phase II
NCT01584648	Dabrafenib +/- trametinib	First-line in BRAF V600E/K melanoma	Phase III
NCT01072175	Trametinib + GSK2118436	BRAF-mutant melanoma	Phase I/II
NCT01245062	Trametinib vs. chemotherapy	BRAF V600E/K melanoma	Phase III
NCT01750918	Trametinib + GSK2118436 + panitumumab	BRAF V600E/K- CRC	Phase I/II
NCT01597908	Dabrafenib + trametinib vs. vemurafenib	Metastatic BRAF V600E/K melanoma	Phase III
NCT01701037	Dabrafenib alone first, then combined with trametinib, followed by surgery	Pre-surgical melanoma	Phase II biomarkers study
NCT01362296	Trametinib vs. docetaxel	Second line in NSCLC with mutations in KRAS, NRAS, BRAF, MEK1	Randomized phase II
NCT00920140	Trametinib	Leukemias	Phase I/II
NCT01619774	Trametinib + GSK2118436	Melanoma refractory/resistant to BRAF inhibitor	Phase II
NCT01581060	WX-554	Solid tumors	Phase I/II
NCT01801358	MEK162 + AEB071	Metastatic uveal melanoma	Phase Ib/II
NCT01781572	MEK162 + LEE011	NRAS-mutant melanoma	Phase Ib/II
NCT01763164	MEK162 vs. dacarbazine	NRAS-mutant melanoma	Phase III
NCT01320085	MEK162	BRAFV600 or NRAS-mutant melanoma	Phase II

Note: Bolding indicates MEK inhibitor. Abbreviations: HAART, highly active antiretroviral therapy; NSCLC, non-small cell lung cancer; mFOLFOX, combination 5-fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin; CRC, colorectal cancer

ность к MEK 1/2 по сравнению с другими протеинкиназами. Селуметиниб является, пожалуй, самым широко изученным ингибитором MEK в клинике. В испытаниях I фазы эритематозная макулопапиллярная сыпь была наиболее частой и дозолимирующей токсичностью, и отмечалась в 74% случаев, 3–4 степень при этом была отмечена в 20% случаев. Кроме того, у больных встречались диарея (56%) и инверсия Т-зубца

при гипоксии (1 больной). После 2-х циклов лечения у 19 из 57 больных (33%) достигнута стабилизация. Девять больных (16%) имели стабилизацию длительностью 5 мес., а двое до 19 и 22 мес. [2]. В 19 парных пробах биопсии опухолей было отмечено ингибирование фосфорилирования ERK на 79% в среднем. В одном случае с медулярным раком щитовидной железы, а также у одного больного с меланомой радужки и ра-

ком почки была достигнута длительная стабилизация заболевания [2]. Соединение было оформлено в капсулу для приема внутрь с улучшенными фармакологическими свойствами. В I фазе испытания отмечался длительный положительный ответ на лечение у больного с меланомой с BRAFV600E мутацией [5].

Монотерапия селуметинибом оценивалась в нескольких исследованиях II фазы при различных солидных опухолях и гематологических заболеваниях [49, 8, 23, 48, 11]. Лечение селуметинибом 28 больных метастатическим раком желчевыводящих путей сопровождалось объективным ответом у 3-х больных (12%) и стабилизацией у 14 больных, вместе с тем при папиллярном раке щитовидной железы, как и при гепатоцеллюлярной карциноме никакой клинически значимой противоопухолевой активности не было отмечено. В исследовании меланомы с мутацией BRAF V600K у 10 больных не отмечалось никакого противоопухолевого эффекта при наличии высокого уровня фосфорилирования АКТ (ФАКТ), наряду с этим у 3-х из 5 больных с низким уровнем ФАКТ в меланоме была достигнута регрессия опухоли, что заставляет предположить потенциальную роль активации PI3/АКТ в резистентности ингибиторов MEK. Незначительный противоопухолевый эффект был отмечен при рецидивах или рефракторном остром миелолейкозе.

Селуметиниб далее также оценивали в комбинации с другими противоопухолевыми препаратами. В исследовании I фазы комбинации селуметиниба с ингибитором АКТ МК-2206 дозолимитирующей токсичностью являлись сыпь, стоматит, отслойка пигментного эпителия сетчатки 2 степени, диарея, повышение липазы 4 степени, двусторонняя катаракта 1 степени, слабость. В этом исследовании с участием 51 больного длительный подтверждаемый частичный ответ был отмечен у 1-го больного HNPJ с KRAS мутацией и у 1-й больной раком яичников с KRAS мутацией, а неподтвержденный длительный частичный эффект наблюдался у 1 больного раком поджелудочной железы [31]. В рандомизированном исследовании II фазы, в котором оценивалась эффективность доцетаксела с солуметинибом или с плацебо у предварительно леченных больных HNPJ с KRAS мутацией, в группе с селуметинибом достигнута статистически значимая разница в безрецидивной выживаемости – 5,3 мес. против 2,1 мес. при использовании плацебо ($p \leq 0,014$). Общая выживаемость статистической разницы в этих группах не достигла, хотя имела тенденцию к улучшению [30]. В исследовании I фазы, оценивающим комбинацию селуметиниба и цетуксимаба при солидных опухолях и колоректальном раке с KRAS мутациями, наиболее частой токсичностью являлись акнеподобная сыпь, слабость, тошнота/рвота, диарея. Дозолимитирующая токсичность была представлена гипомagneзиемией 4 степени [14]. Из 13 больных, которым проводилось лечение с эскалацией дозы, частичный эффект отмечен у 2-х больных колоректальным раком, у 1-го – HNPJ и у 2-х – колоректальным раком. Рандомизированные исследования II фазы, сравнивающих селуметиниб с темозоломидом при лечении меланомы в I линии, с пеметрекседом при HNPJ после I–II линии терапии, с капецитабином при раке поджелудочной железы после прогрессии на гемцитабине, с капецитабином при колоректальном раке после I–II линии терапии не продемонстрировало преимуществ, хотя в каждом из исследований отмечалась противоопухолевая активность препарата в монотерапии [21, 9, 10, 33]. В настоящее время проводятся исследования I–II фаз сочетания

селуметиниба с различной таргетной терапией, например, препаратом саракатинибом (AZD0530) [17] или ХТ с использованием вандетаниба, доцетаксела, гемцитабина, иринотекана, циклоспорином (модулятором Wnt (кальциевого пути) [53], фенформинном [60].

Траметиниб (GSK 1120212, JTP-74057) – это малая молекула, аллостерический неконкурентный АТФ ингибитор MEK. В доклинических испытаниях, проведенных на линии колоректального рака и на моделях ксенографта, он показал потенциальную активность ингибирования ERK в клетках с мутациями BRAF или KRAS [59].

В I фазе исследования траметиниба участвовало 206 больных [16]. Наиболее часто встречалась сыпь и диарея, а дозолимитирующей токсичностью, кроме последних, была центральная серозная ретинопатия. Эффективный период полураспада траметиниба составляет около 4 дней. Хотя максимально переносимой дозой была доза 63мг, во II фазе была рекомендована ежедневная доза 2мг в связи с плохой переносимостью после первого курса лечения. При всех уровнях дозы объективные эффекты отмечались в 10%, причем наибольшая чувствительность к лечению отмечена при меланоме с BRAF мутацией [27]. Falchook с соавт. провели анализ подгрупп больных с меланомой с BRAF мутацией V600E или V600K, в котором выявили ответ у 33% больных, не получавших ингибиторы BRAF. Далее этот результат был подтвержден во II фазе, в которой эффект был получен у 25% больных, не получавших ингибитор BRAF, тогда как при резистентном к ингибиторам BRAF варианте заболевания отмечена минимальная клиническая активность [32, 20]. В III фазе больных с меланомой с BRAFV600E/K, которых ранее не лечили ингибиторами BRAF или MEK или ипилимумабом, рандомизировали в группы – для лечения траметинибом или химиотерапией дакарбазином или паклитакселем. В этом исследовании, пациенты в рукаве с траметинибом имели медиану выживаемости без прогрессирования – 4,8 мес., что на 1,5 мес. статистически достоверно было больше, чем в группе с ХТ, а общая выживаемость после 6 мес. лечения была 81% и 67% соответственно ($HR=0,54$, $p \leq 0,01$) [18]. В мае 2013 г. FDA одобрило Mekinist™ (траметиниб диметил сульфоксид, GlaxoSmithKline, LLC) для лечения больных с нерезектабельной или метастатической меланомой при наличии BRAF-мутаций.

Как показывают данные доклинических исследований, эффективность MEK-ингибиторов может быть повышена ингибиторами RAF [19, 26]. Кроме того, активация пути MAPK была установлена как потенциальный механизм резистентности к ингибиторам RAF при меланоме.

Таким образом, одновременное ингибирование RAF и MEK становится перспективным в качестве подхода, преодолевающих резистентность к ингибиторам BRAF. Была проведена I/II фаза исследования для определения безопасности и с целью сравнить дабрафениб (ингибитор BRAF), как монотерапию и в комбинации с траметинибом. Как и предполагалось, в рукаве с комбинацией было значительно меньше случаев плоскоклеточного рака кожи – побочного эффекта, связанного с BRAF ингибированием, в основе которого лежит парадоксальная активация MAPK пути. Отмечено значительное повышение выживаемости без прогрессирования в рукаве с комбинированной терапией ($p < 0,001$), что показывает потенциал применения ингибиторов MAPK в замедлении процесса развития резистентности к BRAF ингибированию [39]. Следует отметить, что количество ответов на траметиниб у больных меланомой с BRAF мутациями меньше, чем при ис-

пользовании ингибиторов BRAF (вемурафениб, дабрафениб). Этот факт требует объяснения, так как основным субстратом по пути вниз от BRAF является MEK.

Изучались комбинации с траметинибом и при других видах рака. В рандомизированном плацебо контролируемом исследовании, включавшем 160 больных метастатическим раком поджелудочной железы независимо от статуса мутаций KRAS, сочетание траметиниба и гемцитабина не привело к повышению эффективности лечения [29]. Продолжаются другие исследования I/Ib фазы комбинаций траметиниба с различными таргетами и химиопрепаратами (эверолимус, пазопаниб, дабрафениб, эрлотиниб, фторурацил), а также с лучевой терапией, ингибитором АКТ (GSK2141795) и ингибитором PI3K (BKM120) [28, 36, 3, 7].

Пимазертиб (AS703026, MSC 1936369B) – это неконкурентный АТФ ингибитор MEK1/2. Пимазертиб оценивали с I фазе исследования [13, 25]. Среди наиболее часто встречаемых побочных эффектов отмечена кожная сыпь, диарея, астения, анорексия, тошнота, рвота, периферические отеки, нарушение зрения и анемия. Дозолимитирующей токсичностью была окклюзия вен сетчатки 2 степени тяжести, повышение функциональных проб печени 3 степени тяжести, кожная сыпь, фарингит, акнеподобная сыпь, отслойка сетчатки и отек макулы. У 75 больных отмечено сокращение размеров опухоли, у всех из них были выявлены BRAF или NRAS мутации. В исследовании I–II фаз пимазертиб был комбинирован с 5-фторурацилом, лейковарином и иринотеканом (FOLFIRI) в качестве II линии лечения метастатического колоректального рака с KRAS мутациями. Однако, исследование не перешло во II фазу в связи с тем, что эффективные дозы пимазертиба были не достигнуты по причине токсичности [42]. Среди продолжающихся исследований: Ib фаза исследования сочетания пимазертиба и ингибитора PI3K/mTOR (SAR245409) при солидных опухолях [6], при меланоме с мутациями NRAS, при аденокарциноме поджелудочной железы и у онкогематологических больных.

Сведения о ходе клинического применения других препаратов-ингибиторов MEK представлены в других публикациях [1, 40, 51, 58].

Обсуждение и перспективы. Все вышеизложенное свидетельствует о том, что в онкологии MAPK сигнальный каскад является важным путем, а MEK как его центральная киназа является предметом для изучения в различных клинических исследованиях. Однако, несмотря на то, что при раке аберрации в передаче сигнала в этом каскаде обнаруживают часто и MEK1/2 в этом пути занимает ключевое положение, а также несмотря на то, что ингибиторы MEK имеют высокий потенциал и специфичность, их применение не показало высокой терапевтической активности. Большинство исследований представляют данные, в которых эффективность лечения сводится преимущественно к стабилизации заболевания. Этот феномен можно объяснить, если воспользоваться результатами исследования, проведенного на клеточных линиях с получением небольшой активности MEK ингибиторов при солидных опухолях, в результате чего был сделан вывод о том, что MEK ингибиторы имеют цитостатический эффект, а не цитотоксический [34]. Иными словами, хотя была обнаружена таргетная супрессия в ткани опухоли, она не достигала уровня, необходимого для цитотоксического действия на опухоль.

Однако нельзя не учитывать и тот факт, что дозолимитирующие побочные эффекты ингибиторов MEK являются одной из причин их недостаточного клинического эффекта. Дозирование ингибиторов MEK очень ограничено токсичностью

(диарея, сыпь и др.), которая значительно влияет на качество жизни пациентов. На самом деле Infante с соавт. [27] не определили максимально переносимую дозу траметиниба, поскольку эскалация дозы после первого цикла лечения (28 дней) была лимитирована токсическими эффектами, возникающими при более высоких дозах. Получается, что возможность ингибировать MEK ограничена. Эта мысль приводит к основному вопросу общему для всей таргетной терапии в онкологии: насколько и как долго должна быть ингибирована таргетная точка для получения максимального клинического эффекта? Возможно ли получить эффект при коротком воздействии более высоких доз? Очевидно, что необходимо продолжать в клинике исследования по изучению фармакодинамики составляющих этого каскада [44].

Кроме ограничений, связанных с дозой, другой причиной низкого ответа на MEK-таргетные препараты является работа противодействующих сигнальных каскадов в качестве прямого ответа на ингибиторы MEK [17]. Следует иметь в виду, что к развитию рака приводят нарушения регуляции во множестве сигнальных путей, а ингибирование только одного из них недостаточно для апоптоза и остановки роста опухоли. Исходя из этого, исследования, появившиеся недавно, изучают возможность комбинации MEK ингибиторов с другими таргетными препаратами, которые ингибируют дополнительно другие пути, например PI3K/mTOR для усиления их цитотоксического эффекта. Кроме сказанного ранее, наиболее частые звенья MAPK-пути с мутациями RAS и RAF, очевидно, имеют другие мишени помимо MEK, и вероятно альтернативные пути компенсируют эффекты ингибиторов MEK. И наконец, хотя MAPK путь активируется во многих клетках опухоли, при некоторых неоплазмах его функционирование может и не являться столь необходимым для их роста и выживания. Отсюда вытекает идея необходимости разработки клинических тестов на мутации в MAPK каскаде для изучения возможного эффекта от MEK 1/2 ингибиторов при лечении больных раком с или без мутаций в MAPK каскаде. Иными словами, необходимы предсказательные биомаркеры для определения опухолей, которые можно ингибировать с помощью MEK.

Возвращаясь к вопросу о невысокой эффективности при использовании ингибиторов MEK в клинике, еще одно объяснение этому можно найти, если учесть что MEK путь активирован исключительно при наличии RAS/RAF мутаций и их активации. Доклинические исследования определили ауторегуляторную замкнутую цепь (петлю) с отрицательной обратной связью между ERK и RAF, которая передает чувствительность к MEK ингибиторам. Активированный ERK приводит к тоническому ингибированию RAF киназы, а далее к активированию RAF, что, в свою очередь, запускает антиапоптотический каскад ниже RAF, тем самым нивелируя цитотоксическую активность MEK ингибиторов. Не менее интересно, почему ингибиторы MEK эффективны при опухолях с BRAF мутациями? BRAF является треонин/серин-содержащей киназой вниз по ходу от KRAS и вверх по ходу от MEK. Хотя 3 RAF изоформы имеют аналогичную структуру, они имеют разную способность к фосфорилированию и активации MEK, с преобладающей активностью киназы, относящейся к BRAF. Это имеет клиническое значение, поскольку было установлено, что опухоли с мутациями BRAF имеют отличительную способность к ответу на применение ингибиторов MEK [52]. Опухоли с BRAF V600E мутациями не имеют замкнутой цепи с отрицательной обратной связью, о которой говорилось выше, и являются чувствительными к ингибиторам MEK [26].

Эти данные предполагают, что комбинация ингибиторов MEK и RAF обладает синергизмом. Их сочетание с BRAF-ингибиторами может быть перспективным и привести к повышению частоты ответов и увеличению их длительности по сравнению с монотерапией BRAF ингибиторами. Это предположение было подтверждено и в клинической практике.

Возможность получения ответа при совместном ингибировании BRAF и MEK может быть обусловлена тем, что BRAF ингибиторы путем промоции парадоксальной активации в нормальных тканях могут уменьшить токсические эффекты MEK ингибиторов, что является основным моментом, ограничивающим дозы при использовании MEK ингибиторов и обеспечить введение эффективных доз для получения клинических ответов [44].

Также из исследований видно, что к ингибиторам MEK имеется дифференцированная чувствительность. Хотя была показана активность в случае монотерапии меланомы с BRAF мутацией, эта активность все-таки была несколько ниже таковой по сравнению с селективными BRAF ингибиторами (вемурафенибом, добрафенибом). Кроме того, эти препараты не активны при опухолях с BRAF мутациями в случае развития резистентности к ингибиторам BRAF. Но самое главное то, что BRAF мутированные клетки имеют большую чувствительность к трансдукции сигнала, чем RAS мутированные клетки [52]. После открытия того, что гены, кодирующие RAS и изоформу RAF – BRAF, являются онкогенными, было предпринято много усилий для доказательства гипотезы, которая предполагала, что раковым клеткам для роста и выживания необходимо наличие онкогена, или состояние так называемой онкогенной зависимости. Данные доклинических исследований показывают, что активность протеинкиназ MEK является необходимым условием для того, чтобы RAS и BRAF запускали процессы клеточной пролиферации и способствовали выживанию, т.е. обуславливают состоя-

ние онкогенной зависимости [52, 15]. Следовательно, ингибирование MEK может значительно повлиять на эти процессы у пациентов с RAS и BRAF мутациями через управление каскадом, так как KRAS и BRAF активирующие мутации запускают канцерогенез через ключевую активацию MAPK пути [22].

Не исключено, что применение ингибиторов MEK при опухолях с NRAS мутациями может также оказаться перспективным. Falchook с соавт. обратили внимание на некоторую активность трамитиниба при RAS-мутированных раках [27, 16]. В ситуациях с RAS-мутированными опухолями именно их комбинации с другими препаратами могли бы усиливать ингибирование каскада [45]. Здесь нельзя не упомянуть еще одну причину, которая делает привлекательным применение MEK ингибиторов в клинике. Поскольку RAS и RAF мутации могут привести к постоянно активному состоянию ERK, ингибирование MEK приводит теоретически к блокированию части каскада ведущего к ERK [37, 46, 45], но это является предметом дальнейших научных разработок.

В завершение, говоря еще раз о мультимодальном подходе с целью повышения эффективности и преодоления резистентности, следует рассматривать использование MEK ингибиторов как в комбинации с таргетами других сигнальных каскадов, например, фосфатидил-инозитол-3 киназы [44], так и комбинации с классическими цитостатиками. Онкологи с интересом ожидают результаты этих исследований, хотя во всех этих случаях, на сегодня их токсичность по-прежнему составляет определенную проблему (например, с ингибитором АКТ или PI3K). Вместе с тем, сейчас однозначно понятно, что со временем роль ингибиторов MEK все более возрастает и рано или поздно они могут иметь большое значение в лечении злокачественных опухолей, особенно при использовании комбинированной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирова Л. Ю. Применение ингибиторов MEK в онкологии: результаты и перспективы // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 3. – С. 18–30.
2. Adjei A. A., Cohen R. B., Franklin W., et al. 2008. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the oral, small-molecule mitogen-activated protein kinase 1/2 inhibitor AZD6244 (ARRY-142886) in patients with advanced cancers. *J Clin Oncol.* 26(13), 2139–2146. PMID: 18390968. Epub 2008 Apr 7.
3. Ahmed S. R., Azad N. S., Ball D. W., A, et al. 48th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2012. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 30(15S).P.202s. Abstract TPS3117.
4. Akinleye A., Furqan M., Mukhi N. et al. 2013. MEK and the inhibitors: from bench to bedside. *J. Hematol. Oncol.* 6, 27.
5. Banerji U., Camidge D. R., Verheul H. M., et al. 2010. The first-in-human study of the hydrogen sulfate (Hyd-sulfate) capsule of the MEK1/2 inhibitor AZD6244 (ARRY-142886): a phase I open-label multicenter trial in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res.* 16(5), 1613–1623. PMID: 20179232. Epub 2010 Feb 23.
6. Bardelli A. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 32(15S).P.173 s. Abstract 2626.
7. Becerra C., Infante J. R., Gardo L. E. et al. 49th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2013. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 30(15S).P.178s. Abstract 3023.
8. Bekaii-Saab T., Phelps M. A., Li X. et al. 2011 Multi-institutional phase II study of selumetinib in patients with metastatic biliary cancers. *J Clin Oncol.*, 29(17, 2357–2363. PMID: 21519026. Epub 2001 Apr 25.
9. Bennouna J., Lang I., Valladares- Ayerbes M. et al. 2011. A Phase II, open-label, randomized study to assess the efficacy and safety of the MEK 1/2 inhibitor AZD6244 (ARRY-142886) versus capecitabine monotherapy in patients with colorectal cancer who have failed one or two prior chemotherapeutic regimens. *Invest New Drugs.*; 29(5), 1021–1028. PMID: 20127139. Epub 2010 Feb 2.
10. Bodoky G., Timcheva C., Spigel D. R. et al. 2012A phase II open-label randomized study to assess the efficacy and safety of selumetinib (AZD6244 (ARRY-14286)) versus capecitabine in patients with advanced or metastatic pancreatic cancer who have

- failed first-line gemcitabine therapy. *Invest New Drugs*. 30(3), 1216–1223. PMID: 21594619. Epub 2011 May 19.
11. Catalanotti F., Solit D.B., Pulitzer M. P., et al. 2013 Phase II trial of MEK inhibitor selumetinib (AZD6244) in patients with BRAFV600E/K- mutated melanoma. *Clin Cancer Res.* PMID: 23444215. Epub 2013 Feb 26.
 12. Cowley S., Paterson H., Kemp P., et al., Activation of MAP kinase kinase is necessary and sufficient for PC12 differentiation and for transformation of NIH 3T 3 cells. 1994.*Cell*. 77(6), 841–852. PMID: 7911739.
 13. Delord J., Houede N., Awada A.et.al. First-in-human phase a safety pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamics (PD) analysis of the oral MEK-inhibitor AS703026 (two regimens (R)) in patients (pts) with advanced solid tumors. *J. Clin Oncol*. 2010; 28(15s) Abstract 2504.
 14. Deming DA, Schelman WR, Lubner SJ, et.al. 48th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology.2012. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology*. 32(15S),198s.Abstract 3103.
 15. Drosten M., Dhawahir A., Sum E. Y., et al.2010 Genetic analysis of Ras signaling pathways in cell proliferation, migration and survival.*EMBO J*. 29,1091–1104.
 16. Falchook G. S., Lewis K. D., Infante J. R. et al. 2012.Activity of the oral MEK inhibitor trametinib in patients with advanced melanoma: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol*. 13(8), 782–789. PMID: 22805292. Epub 2012 Jul 16.
 17. Ferguson J., Arozarena I., Ehrhardt M.et al. 2013.Combination of MEK and SRC inhibition suppresses melanoma cell growth and invasion. *Oncogene*. 32(1), 86–96.
 18. Flaherty J.R., Robert C., Hersey P. et.al. 2012. Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med*; 367(2), 107–114. PMID: 22663011. Epub 2012 Jun 4.
 19. Friday B. B., Yu C., Dy G. K. et.al. 2008. BRAF V600E disrupts AZD6244-induced abrogation of negative feedback pathways between extracellular signal-regulated kinase and Raf proteins. *Cancer Res*. 68(15),6145–6153. PMID: 128676837.
 20. Gogas H. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology.2014. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology*. 32(15S).P.586 s.Abstract 9061.
 21. Hainsworth J. D., Cebotaru C. L., Kanarev V. et.al. 2010.A phase II, open-label, randomized study to assess the efficacy and safety of AZD6244 (ARRY-142886) versus pemetrexed in patients with non-small cell lung cancer who have failed one or two prior chemotherapeutic regimens. *J Thorac Oncol.*, 5(10),1630–1636. PMID: 20802351.
 22. Hatzivassiliou G., Haling J. R., Chen H., et al.2013. Mechanism of MEK inhibition determines efficacy in mutant KRAS-versus BRAF-driven cancers. *Nature*. 501,232–236.
 23. Hayes D. N., Lucas A. S., Tanvetyanon T., et.al. 2012.Phase II efficacy and pharmacogenomic study of Selumetinib (AZD6244; ARRY-142886) in iodine-131 refractory papillary thyroid carcinoma with or without follicular elements. *Clin Cancer Res*. 18(7), 2056–2065. PMID: 22241789. Epub 2012 Jan 12.
 24. Hoshino R., Chatani Y., Yamori T., et al. 1999. Constitutive activation of the 41-/43-kDa mitogen-activated protein kinase signaling pathway in human tumors. *Oncogene*. 18(3), 813–822. PMID: 9989833.
 25. Houede N., Faivre S. J., Awada A. et al. 2011. 47th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2011. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology*. 29(15S).P.198s. Abstract 3019.
 26. Hu-Lieskovan S. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology.2014. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology*. 32(15S).P.145s.Abstract 2512.
 27. Infante J. R., Fecher L. A., Falchook G. S. 2012. Safety, pharmacokinetic, pharmacodynamic, and efficacy data for the oral MEK inhibitor trametinib: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol*.13(8),773–781.
 28. Infante J. R., Patnaik A., Jonea S. F.P. et.al.2011. A phase IB study of the MEK inhibitor GSK 1120212 combined with everolimus in patients with solid tumors: Interim results. *MolCancer Ther*. 10(11s), Abstract B128.
 29. Infante J. R., Somer B. G., Park J. O. et.al.2013. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of trametinib, a MEK inhibitor, in combination with gemcitabine for patients with untreated metastatic adenocarcinoma of the pancreas. *J Clin Oncol*. 31(4s). Abstract 291.
 30. Janne P. A., Shaw A. T., Pereira J. R. et al.2013. Selumetinib plus docetaxel for KRAS-mutant advanced non-small-cell lung cancer; a randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 14,38–47.
 31. Khurum Hayat L. Y., Mezynski J., Patnaik A., et.al. 2012.A phase I dose escalation study of oral MK-2206 (allosteric Akt inhibitor) with oral selumetinib (AZD6244; ARRY-142886) (MEK1/2 inhibitor) in patients with advanced or metastatic solid tumors. *J Clin Oncol.*; 30 (15s): e13599.
 32. Kim K. B., Kefford R., Pavlick A. C.et.al.2013.. Phase II Study of the MEK 1/MEK2 inhibitor Trametinib in Patients with metastatic BRAF-Mutant Cutaneous Melanoma Previously Treated with or without a BRAF inhibitor. *J Clin Oncol*.31(4), 482–489.PMID: 23248257. Epub 2012 Dec17.
 33. Kirkwood J. M., Bastholt L., Robert C. et.al. 2012. A phase II, open-label, randomized trial of the MEK1/2 inhibitor selumetinib as monotherapy versus temozolamide in patients with advanced melanoma. *Clin Cancer Res*.18(2): 555–567. PMID: 22048237. Epub 2011 Nov 2.
 34. Kohno M., Tanimura S., Ozaki K., et al.2011. Targeting the extracellular signal-regulated kinase pathway in cancer therapy. *Biol.Pharm.Bull*.34,1781–1784.
 35. Kolch W., Heidecker G., Lloyd P., et al. 1991Raf-1 protein kinase is required for growth of induced NIH/ 3T 3 cells. *Nature*. 349 (6308), 426–428. PMID: 1992343.
 36. Kurzokh R., Patnaik A., Rosenstein L. et.al. 2011. 47th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology.2011.

- Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 29(15S).P.215s. Abstract 3085.
37. Lee L., Niu H., Rueger R., et al. 2009. The safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of single oral doses of CH 4987655 in healthy volunteers: target suppression using a biomarker. *Clin. Cancer Res.* 15(23), 7368–7374.
 38. Liu S., Kurzrock R. 2014. Toxicity of targeted therapy: Implications for response and impact of genetic polymorphisms. *Cancer Treatment Reviews*, 40(7), 883–89.
 39. Long G. V. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 32(15S).P.574s. Abstract 9011.
 40. LoRusso P. M., Adjeji A. A., Varterasian M., et al. 2005. Phase I and pharmacodynamic study of the oral MEK inhibitor CI-1040 in patients with advanced malignancies. *J Clin Oncol.* 23(23), 5281–5293. PMID: 16009947. Epub 2005 Jul 11.
 41. LoRusso P. M., Krishnamurthi S. S., Rinehart J. J. et al. 2010. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamics study of the oral MAPK/ ERK kinase inhibitor PD-0325901 in patients with advanced cancers. *Clin Cancer Res.* 16(6), 1924–1937. PMID: 20215549. Epub 2010 Mar 9.
 42. Macarulla T., Cervantes A., Rosello S., et al. 2012. Phase I/II study of folfiri plus the MEK $\frac{1}{2}$ inhibitor pimasrtib (msc1936369b) as second-line treatment for KRAS mutated metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 23 (suppl 4): iv19–iv 30.
 43. Marshall C. J. 1996. Cell signaling. Raf gets it together. *Nature.* 383(6596), 127–128. PMID 8774875.
 44. McArthur G. A. 2012. The coming age of MEK. *Lancet Oncology.* 13(8), 744–745.
 45. Meier F. E. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 32(15S).P.587s. Abstract 9062.
 46. Miller C. R., Oliver K. E., Farley J. H. 2014. MEK1/2 inhibitors in the treatment of gynecologic malignancies. *Gynecologic Oncology.* 133(1), 128–137.
 47. Moodie S. A., Willumsen B. M., Weber M. J., et al. 1993. Complexes of Ras. GTP with Raf-1 and mitogen-activated protein kinase. *Science.* 260 (5114), 1658–1661. PMID: 8503013.
 48. Nitin Jain Curren E., Iyengar N. M. et al. 48th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2012. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 32(15S).P.436s. Abstract 6582.
 49. O'Neil B. N., Goff L. W., Kauh J. S., et al. 2011. Phase II study of the mitogen-activated protein kinase 1/2 inhibitor selumetinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol.* 29(17), 2350–2356. PMID: 21519015. Epub 2011 Apr 25.
 50. Ohren J. F., Chen H., Pavlovsky A., et al. 2004. Structures of human MAP kinase kinase 1 (MEK1) and MEK2 describe novel noncompetitive kinase inhibition. *Nat Struct Mol. Biol.* 11(12), 1192–1197. PMID: 15543157. Epub 2004 Nov 14.
 51. Roskoski R Jr. 2012. ERK $\frac{1}{2}$ MAP kinases: structure, function and regulation. *Pharmacol. Res.* 66(2), 105–143. PMID: 22569528. Epub 2012 Apr 27.
 52. Solit d. B., Garraway L. A., Pratils C. A., et al. 2006. BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition. *Nature.* 439, 358–362.
 53. Spreafico A., Tentler J. J., Pitts T. M. 2013. Rational combination of MEK inhibitor, selumetinib, and the Wnt/calcium pathway modulator, cyclosporine A, in preclinical models of colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 19(15), 4149–4162.
 54. Stefanofsky V. Y., Pelletier G., Hannan R., et al. 2001. An immediate response of ribosomal transcription to growth factor stimulation in mammals is mediated by ERK phosphorylation of UBF. *Mol Cell.* 8(5), 1063–1073. PMID: 11741541.
 55. Trujillo J. I. 2011. MEK inhibitors: a patent review 2008–2010. *Expert Opin Ther Pat.* 21(7), 1045–1069. PMID: 15543157. Epub 2011 May 9.
 56. Wasylyk B., Hagman J., and Gutierrez-Hartmann A. Ets transcription factors, nuclear effectors of the Ras-MAP-kinase signaling pathway. 1998. *Trends Biochem Sci.* 23(6), 213–216. PMID: 9644975.
 57. Weinstein-Oppenheim C. R., Blalock W. L., Steelman L. S., et al. 2000. The Raf signal transduction cascade as a target for chemotherapeutic intervention in growth factor-responsive tumors. *Pharmacol Ther.* 88(3), 229–279. PMID: 11337027.
 58. Wong H., Vernillet L., Peterson A., et al. 2012. Bridging the gap between preclinical and clinical studies using pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling: an analysis of GDC-0973, a MEK inhibitor. *Clin. Cancer Res.* 18, 3090–3099.
 59. Yamaguchi T., Kakefuda R., Tajima N., et al. 2011. Antitumor activities of JTP-74057 (GSK1120212), a novel MEK1/2 inhibitor, on colorectal cancer cell lines in vitro and in vivo. *Int. J. Oncol.* 39, 23–31.
 60. Zhang J. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 32(15S).P.164s. Abstract 2589.