Факторы прогноза эффективности терапии ингибиторами mTOR и VEGFR у больных метастатическим почечно-клеточным раком

Е.А. Ворошилова, Н.В. Апанович, Д.А. Носов, А.В. Карпухин, И.Н. Соколова, М.Ю. Федянин

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23

Контакты: Екатерина Александровна Ворошилова Voroshilova_ea@mail.ru

Введение. В результате изучения молекулярно-генетических нарушений у больных спорадическими и наследственными формами почечно-клеточного рака (ПКР) были выделены потенциальные мишени для противоопухолевого воздействия — фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), рецепторы к ростовым факторам (VEGFR, PDGFR, EGFR, FGFR), сигнальный белок тTOR. С появлением в клинической практике новых лекарственных препаратов возникла проблема их рационального использования с целью повышения эффективности терапии. Выделение независимых клинико-лабораторных факторов прогноза в сочетании с молекулярными маркерами, способными предсказать эффективность таргетных лекарственных подходов, являются основным инструментом для решения данной проблемы.

Цель исследования — оптимизация таргетной терапии больных ПКР за счет использования молекулярно-генетических факторов прогнозирования эффективности лекарственного лечения.

Материалы и методы. Больным метастатическим ПКР (n = 43) выполнен анализ уровня экспрессии мРНК 13 потенциальных генов-мишеней в ткани первичной опухоли и в ткани метастаза и оценено влияние уровня экспрессии мРНК данных генов на эффективность терапии ингибитором тТОR и ингибиторами VEGFR.

Заключение. Гиперэкспрессия мРНК VEGFR1 в ткани метастаза и гиперэкспрессия мРНК тТОR и/или PI3K могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров, прогнозирующих эффективность терапии ингибиторами VEGFR и ингибиторами тТОR соответственно. Гиперэкспрессия мРНК RAF1 и гиперэкспрессия мРНК генов тТОR-зависимого сигнального пути — взаимоисключающие молекулярные нарушения у больных метастатическим ПКР. Гиперэкспрессия мРНК RAF1 в ткани метастаза и соответственно активация альтернативного сигнального пути (RAS-RAF-MAPK) в опухолевой клетке являются факторами, которые имеют отрицательное прогностическое значение при проведении таргетной терапии. Вероятно, активация сигнального пути RAS-RAF-MAPK в опухолевых клетках служит альтернативным самостоятельным «драйверным» механизмом развития опухоли у отдельных больных.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, таргетная терапия, фактор роста эндотелия сосудов, тромбоцитарный фактор роста, рецепторы к ростовым факторам, сигнальный белок тТОR, сорафениб, сунитиниб, пазопаниб, тивозаниб, бевацизумаб, эверолимус

DOI: 10.17650/1726-9776-2015-11-4-34-41

Prognostic factors of the therapeutic efficacy of mTOR and VEGFR inhibitors in patients with metastatic renal cell carcinoma

E.A. Voroshilova, N.V. Apanovich, D.A. Nosov, A.V. Karpukhin, I.N. Sokolova, M.Yu. Fedyanin

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia

Background. Thorough study of the molecular genetic alterations in patients with hereditary and sporadic renal cell carcinoma (RCC) enabled to reveal potential therapeutic targets - vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet-derived growth factor (PDGF), growth factor receptors (VEGFR, PDGFR, EGFR, FGFR), mTOR signaling protein. Advances in targeted therapy treatment in the current therapeutic practice have brought a problem of its rational use and ultimately effective outcomes. The main solution of solving this problem is to establish independent clinical and laboratory prognostic factors and molecular markers which could predict the efficacy of targeted therapy.

Objective — optimization of targeted therapy in patients with RCC by using both molecular and genetic prognostic factors as predictors of the treatment efficacy.

Materials and methods. We assessed the level of mRNA expression of 13 potential target genes in primary tumor and metastatic site of patients suffering from metastatic RCC (n = 43) and evaluated the influence of the selected genes' expression on the therapeutic efficacy of mTOR inhibitors and VEGFR inhibitors.

Conclusion. VEGFR1 mRNA overexpression in metastatic site as well as mTOR and/or PI3K mRNA overexpression could be assessed as potential biomarkers in predicting the treatment efficacy of VEGFR inhibitors and mTOR inhibitors respectively. The higher expression of RAF1 mRNA and mTOR signaling pathway are not typical molecular alterations in patients with mRCC. RAF1 mRNA overexpression in metastatic site as well as activation of the alternative signaling pathway (RAS-RAF-MAPK) in tumor cell are negative prognostic factors of the efficacy of targeted therapy. Activation of the signaling RAS-RAF-MAPK pathway in tumor cells is probably an alternative independent mechanism that "drives" tumor development in certain groups of patients.

Key words: renal cell carcinoma, targeted therapy, vascular endothelial growth factor, platelet-derived growth factor, growth factor receptors, mTOR signaling protein, sorafenib, sunitinib, pazopanib, tivozanib, bevacizumab, everolimus

Введение

Лечение больных метастатическими формами почечно-клеточного рака (ПКР) остается актуальным вопросом современной клинической онкологии. В течение последних 18 лет отмечается постепенное повышение заболеваемости раком почки в России. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в России данная нозология занимает 8-е и 11-е место у мужчин и женщин соответственно, а по темпам прироста онкологической заболеваемости в России выходит на ведущее место [1]. Приблизительно 50 % всех заболевших ПКР на тех или иных этапах развития заболевания нуждаются или будут нуждаться в системном лекарственном лечении [2].

За последние 10 лет существенно изменились представления о биологических механизмах, лежащих в основе развития ПКР. В результате изучения молекулярно-генетических нарушений у больных спорадическими и наследственными формами ПКР были выделены потенциальные мишени для противоопухолевого воздействия — фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), рецепторы к ростовым факторам (VEGFR, PDGFR, EGFR, FGFR), сигнальный белок mTOR (центральный элемент клеточного сигнального пути PI3K-AKT-mTOR-S6/4EBP1, регулирующий процессы клеточного роста, пролиферации, ангиогенеза и внутриклеточного метаболизма). Использование таргетных препаратов, направленных против данных мишеней, позволило увеличить частоту объективных эффектов с 10 до 30 %, а медиану времени до прогрессирования с 6 до 12 мес. Несмотря на улучшение показателей общей выживаемости (ОВ) больных метастатическим ПКР (мПКР), медиана продолжительности жизни в данной популяции, как правило, не превышает 24 мес [3].

В настоящее время для клинического использования одобрены 7 таргетных препаратов, которые условно можно разделить на 2 основные группы:

- 1) ингибиторы VEGF/VEGFR: бевацизумаб, акситиниб, пазопаниб, сорафениб, сунитиниб;
- 2) ингибиторы mTOR: темсиролимус и эверолимус.

Еще 1 ингибитор VEGFR тивозаниб, обладающий высокой специфичностью и блокирующей способностью по отношению к семейству VEGFR, в исследованиях II и III фазы продемонстрировал эффективность, сопоставимую с другими VEGFR-ингибиторами [4, 5].

Используемые в практике клинико-прогностические модели MSKCC (Motzer) и IDMC (Heng) позволяют лишь стратифицировать больных в прогности-

ческие группы, поскольку основаны на клинических и лабораторных факторах, отражающих в большей степени естественное течение опухолевого процесса, т.е. его агрессивность или индолентность.

В то же время на современном этапе отсутствуют четкие молекулярно-генетические критерии, которые позволили бы достоверно прогнозировать эффективность определенного варианта таргетной терапии при мПКР.

Теоретически исходный уровень экспрессии ростовых факторов, соответствующих рецепторов, а также сигнальных белков и их динамика в процессе лечения могут рассматриваться в качестве потенциальных предикторов эффективности таргетной терапии. Результаты немногочисленных ретроспективных исследований, в которых изучали прогностическую роль биомаркеров (VEGF/VEGFR, различных элементов сигнального пути PI3K-AKT-mTOR-S6/EBP1) и их корреляцию с эффективностью терапии у больных мПКР, продолжают оставаться противоречивыми [6—12].

Отсутствие четкой связи между результатом таргетной терапии и потенциальными биомаркерами может объясняться различными причинами. Во-первых, у одного и того же больного молекулярные нарушения, выявляемые в ткани первичной опухоли и отдаленных метастазов, могут существенно различаться, что является следствием клональной эволюции опухолевых клеток в процессе развития заболевания. Соответственно их идентификация в ретроспективном опухолевом материале не всегда имеет предиктивное значение на момент начала таргетной терапии. Вовторых, спектр молекулярных нарушений настолько широк, что может существенно варьировать даже в пределах одного и того же опухолевого образования, обусловливая внутриопухолевую гетерогенность [13]. Таким образом, межопухолевая и внутриопухолевая гетерогенность не позволяет идентифицировать доминирующие патогенетически значимые молекулярные нарушения и выявить их корреляцию с эффективностью таргетных подходов в 1 образце опухолевой ткани или в опухолевом материале, полученном на одном из этапов развития опухолевого процесса [14]. Еще одна причина, ограничивающая внедрение молекулярных биомаркеров в клиническую практику, - отсутствие единых и надежных методик оценки молекулярно-генетических нарушений в опухолевой ткани больных ПКР.

Цель исследования — оптимизация таргетной терапии больных ПКР за счет использования молекуляр-

но-генетических факторов прогнозирования эффективности лекарственного лечения.

Материалы и методы

Из 163 больных, получавших различные виды таргетной терапии в отделении клинической фармакологии и химиотерапии РОНЦ им. Н.Н. Блохина за период с 2009 по 2015 г., нами была отдельно выделена группа из 43 пациентов с образцами опухолевой ткани, доступной для проведения молекулярного исследования.

Оценка уровня экспрессии мРНК потенциальных генов-мишеней

В группе из 43 пациентов мы изучили уровень экспрессии мРНК потенциальных генов-мишеней (VEGFR1 и VEGFR 2, VEGFA, PDGFRα, PDGFRβ, PI3K, AKT, mTOR, S6RP, PTEN, STAT3, EGFR, RAF1) в опухолевой ткани (первичная опухоль + метастатическая ткань), а также оценили значение уровня экспрессии данных генов в прогнозировании эффективности ингибиторов VEGF/VEGFR и ингибиторов mTOR в качестве таргетной терапии 1-й и 2-й линии соответственно.

Уровень экспрессии мРНК генов оценивался методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Гистологическое исследование и анализ серийных срезов с парафиновых блоков, содержащих опухолевую и прилежащую нормальную ткань, выполняли в отделе патологической анатомии опухолей человека РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Молекулярно-генетическую диагностику проводили в лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний Медико-генетического научного центра (Москва). Тотальную РНК из парафиновых блоков выделяли с помощью набора RNeasy FFPE Kit (США), предназначенного для материала, зафиксированного парафином или формалином.

Для проведения реакции использовали наборы TaqMan Gene Expression Master Mix (2-кратная универсальная реакционная смесь для исследования уровня экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени) и TaqMan Gene Expression Assay (реакционная смесь праймеров и флюоресцентно-меченого олигонуклеотида) для каждого определяемого гена.

При определении относительного количества мРНК исследуемого гена измеряли отношение уровня его экспрессии в опухолевом материале к уровню экспрессии в контроле (нормальная ткань почки). Исходя из полученных данных, опухолевые образцы были распределены в 3 группы: 1) опухоли с низкой экспрессией (гипоэкспрессия) — отношение числа копий ДНК в опухолевой ткани к числу копий в контроле < 0.5; 2) опухоли с неизмененной экспрессией (нормоэкспрессия) — 0.5—1.5; 3) опухоли с высокой экспрессией

(гиперэкспрессия) — отношение числа копий ДНК в опухолевой ткани к числу копий в контроле > 1,5.

Статистический анализ

Критериями оценки эффективности лечения являлись: сокращение размеров измеряемых опухолевых очагов, частота объективных эффектов (RECIST 1.1). ОВ и время до прогрессирования (ВДП). ОВ рассчитывали со дня начала таргетной терапии до даты последнего наблюдения/смерти. Показатели для выбывших из-под наблюдения пациентов оценивали по дате их последнего визита к врачу. ВДП определяли от даты начала таргетной терапии до даты прогрессирования. Выживаемость анализировали методом Каплана-Майера, непараметрические данные в зависимости от количества наблюдений оценивали с использованием теста χ^2 или точного критерия Фишера. При неправильном распределении для нормализации проводили логарифмирование параметров. Применялся 95 % доверительный интервал (ДИ) и двусторонний показатель p.

Характеристика больных

Средний возраст больных составил 55 (46—65) лет. В зависимости от сроков появления отдаленных метастазов все больные были распределены в группу синхронного метастазирования (< 1 года от диагностирования заболевания до появления метастазов), в которую вошли 32 (74,4 %) пациента, и метахронного метастазирования (> 1 года), которую составили 11 (25,6 %) больных. Большинство пациентов относились к промежуточному прогнозу по шкалам МЅКСС и IDMC (72 и 53,5 % соответственно) (табл. 1).

Всем пациентам (n = 43) до начала противоопухолевого лечения была выполнена паллиативная или радикальная нефрэктомия. Из общего числа 28 (65 %) больным на различных этапах также было выполнено хирургическое удаление метастазов с диагностической или лечебной целью. В структуре морфологических подтипов преобладал светлоклеточный вариант — 41 больной (95 %).

В качестве 1-й линии таргетной терапии все 43 пациента получали противоопухолевое лечение одним из ингибиторов VEGFR — сунитинибом, сорафенибом, пазопанибом или тивозанибом. Всем выполнен анализ молекулярных нарушений в ткани первичной опухоли, при этом 28 (65,1 %) пациентам также проведен анализ данных нарушений в ткани удаленного метастаза.

После прогрессирования заболевания 13 больных в последующем получили терапию ингибитором mTOR (эверолимусом) в качестве 2-й линии. Данная подгруппа пациентов также была выделена для анализа, всем им проведено исследование молекулярных нарушений в первичной опухоли, из них у 6 данное

Таблица 1. Характеристика пациентов с мПКР, которым проведен молекулярный анализ опухолевого материала

Показатель	Значение
Всего пациентов, n (%) мужчины женщины	43 (100) 30 (69,8) 13 (30,2)
Медиана возраста (разброс значений), лет	55 (46–65)
Метастазирование*, n (%): синхронное метахронное	32 (74,4) 11 (25,6)
Прогноз по классификации MSKCC, n (%): благоприятный промежуточный неблагоприятный	8 (18,6) 31 (72,1) 4 (9,3)
Прогноз по классификации IDMC, n (%): благоприятный промежуточный неблагоприятный неизвестен	8 (18,6) 23 (53,5) 9 (20,9) 3 (7)
Хирургическое удаление первичной опухоли, n (%):	43 (100)
Хирургическое удаление метастаза, n (%):	28 (65,1)
Медиана времени от выполнения нефрэктомии до удаления метастаза, мес	15,1 (0-75)
Морфологический вариант, n (%): светлоклеточный светлоклеточный $+$ папиллярный	41 (95,3) 2 (4,7)
Локализация удаленных метастазов, <i>n</i> (%): легкие лимфатические узлы кости головной мозг надпочечник	9 (32,1) 5 (17,9) 5 (17,9) 5 (17,9) 4 (14,2)
Проведение таргетной терапии, n (%): анти-VEFG/VEGFR-терапия в 1-й линии; ингибитор mTOR во 2-й линии	43 (100) 13 (30,2)

^{*} Синхронное метастазирование: < 1 года от диагностирования заболевания до появления метастазов; метахронное метастазирование: > 1 года от диагностирования до появления метастазов.

исследование также было выполнено и в ткани метастаза (табл. 2).

Результаты

Эффективность терапии

Среди 43 (100 %) больных полный эффект не зарегистрирован, частичная регрессия наблюдалась у 21 (48,8 %) больного. У 22 (51,2 %) больных достигнута стабилизация заболевания, сохранявшаяся по крайней мере на протяжении 8 нед лечения, из них длительная стабилизация (более 6 мес) зарегистрирована у 39,5 % пациентов.

Объективный эффект (частичная регрессия) в группе больных, получавших терапию ингибитором mTOR (n=13), не зарегистрирован. Стабилизация опухолевого процесса зафиксирована у 11 (85 %) пациентов, прогрессирование — у 2 (15 %).

Медиана ВДП для всей группы больных (n=43) на фоне терапии ингибиторами VEGFR в 1-й линии составила 11 мес (рис. 1), в группе больных, получивших терапию ингибитором mTOR (эверолимус) после ингибиторов VEGFR (n=13) — 6 мес. Медиана ОВ для всей группы больных, получивших терапию ингибиторами VEGFR, не достигнута при медиане времени наблюдения 21 мес (рис. 2).

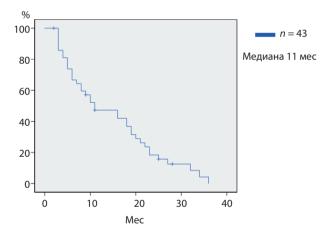


Рис. 1. Кривая ВДП для 43 пациентов, получавших ингибиторы VEGFR в качестве 1-й линии таргетной терапии

Таблица 2. Распределение больных в зависимости от проведенного молекулярного анализа и таргетной терапии

Таргетная терапия	Число больных (%)		
	исследование первичной опухоли	исследование первичной опухоли и ткани метастаза	
Тирозинкиназный ингибитор: пазопаниб сунитиниб сорафениб тивозаниб	43 (100) 16 (37,2) 13 (30,2) 8 (18,6) 6 (14)	28 (65,1) 11 (39,3) 10 (35,7) 4 (14,3) 3 (10,7)	
Ингибитор mTOR (эверолимус)	13 (100)	6 (46,2)	

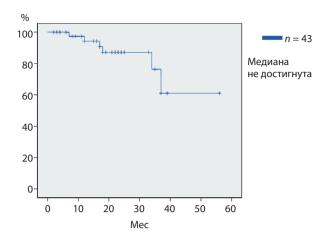


Рис. 2. Кривая OB для 43 пациентов, получавших ингибиторы VEGFR в качестве 1-й линии таргетной терапии

Взаимосвязь молекулярных нарушений с эффективностью лечения и показателями выживаемости больных, получавших антиангиогенную терапию

При анализе взаимосвязи молекулярных нарушений в ткани первичной опухоли (n=43) и ткани отдаленных метастазов (n=28) с непосредственной эффективностью анти-VEGFR-терапии была отмечена четкая прямая корреляция (p=0,05) между гиперэкспрессией мРНК VEGFR1 в ткани метастаза и сокращением размеров измеряемых опухолевых очагов на фоне терапии ингибиторами VEGFR (рис. 3). Гиперэкспрессия, нормоэкспрессия и гипоэкспрессия мРНК VEGFR1 в ткани отдаленных метастазов наблюдалась у 12 (43 %), 11 (39 %) и 5 (18 %) из 28 больных соответственно. У всех больных с гиперэкспрессией мРНК VEGFR1 наблюдался объективный эффект. В то же время уровень экспрессии мРНК VEGFR1 в ткани первичной опухоли не коррелировал с непо-

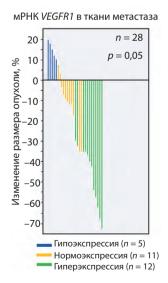


Рис. 3. Взаимосвязь изменения размеров метастазов и уровня экспрессии мРНК VEGFR1 в ткани метастаза

Таблица 3. Корреляция между ВДП и молекулярными изменениями в ткани первичной опухоли и ткани отдаленных метастазов у больных, получавших ингибиторы VEGFR (данные однофакторного анализа)

Экспрессия мРНК	Число больных	p	OP (95 % ДИ)
мРНК VEGFR2 в ткани первичной опухоли	43	0,05	1,72 (0,96–3,09)
мРНК <i>RAF1</i> в ткани метастаза	28	0,069	2,12 (0,94–4,8)

Примечание. *OP* — отношение рисков.

средственной эффективностью терапии ингибиторами VEGFR.

Мы не выявили достоверной взаимосвязи между уровнем экспрессии мРНК других генов и изменением размеров опухолевых очагов в процессе лечения, за исключением гиперэкспрессии мРНК $PDGFR\beta$ в ткани первичной опухоли, которая ассоциировалась (p=0,081) с непосредственной эффективностью анти-VEGFR-терапии.

При анализе корреляции между ВДП и молекулярными изменениями в опухолевой ткани только гиперэкспрессия мРНК *VEGFR2* в первичной опухоли и гиперэкспрессия мРНК *RAF1* в ткани метастаза ассоциировались с повышением риска прогрессирования при проведении терапии ингибиторами VEGFR (табл. 3). При этом гиперэкспрессия мРНК *VEGFR2* первичной опухоли наблюдалась у 17 (39,5 %) и мРНК *RAF1* в ткани метастаза у 8 (28 %) пациентов. Уровень экспрессии мРНК других генов в опухолевой ткани не коррелировал с ВДП. К сожалению, ограниченное число больных с определенными молекулярными изменениями в каждой подгруппе не позволило определить медиану беспрогрессивной выживаемости с помощью метода Каплана—Майера.

Взаимосвязь молекулярных нарушений с эффективностью лечения и показателями выживаемости больных, получавших терапию ингибитором mTOR (эверолимус)

В нашей работе мы также проанализировали взаимосвязь молекулярных нарушений с эффективностью лечения и показателями выживаемости у 13 больных, получавших терапию эверолимусом в качестве 2-й линии таргетной терапии (после прогрессирования на фоне терапии ингибиторами VEGFR). В данной подгруппе 6 пациентам ранее на различных этапах лечения была выполнена метастазэктомия.

Увеличение уровня экспрессии мРНК mTOR в ткани первичной опухоли коррелировало с уменьшением размера метастазов на фоне терапии эверолимусом (p = 0.008). Гиперэкспрессия мРНК mTOR

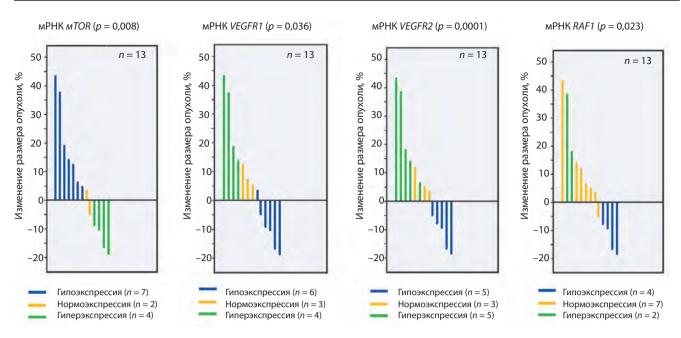


Рис. 4. Взаимосвязь уровня экспрессии мРНК исследуемых генов и изменения размеров метастазов на фоне терапии эверолимусом

наблюдалась у 4 (31 %) из 13 больных, и во всех случаях отмечалось сокращение (> 10 %) размеров измеряемых опухолевых очагов. При наличии гиперэкспрессии мРНК VEGFR1, VEGFR2, RAF1 в ткани первичной опухоли достоверно чаще регистрировалось увеличение размеров метастазов на фоне терапии эверолимусом, что свидетельствовало о его неэффективности (рис. 4). Недостаточное число наблюдений не позволило нам провести многофакторный анализ для понимания того, какой из этих факторов, обладает независимым предиктивным значением при назначении ингибиторов VEGFR. При этом наличие гиперэкспрессии мРНК *mTOR* исключало гиперэкспрессию мРНК RAF1 в ткани первичной опухоли, т.е. данные молекулярные изменения были взаимоисключающими.

При анализе молекулярных нарушений в ткани первичной опухоли больных, получавших терапию эверолимусом, отмечалось достоверное снижение риска прогрессирования и увеличение ВДП при наличии гиперэкспрессии мРНК PI3K (OP 0,4; 95 % ДИ 0,16—0,98; p=0,045). Проведенный нами дополнительный анализ продемонстрировал прямую корреляцию между экспрессией мРНК mTOR и PI3K в первичной опухоли (данные не представлены).

В результате однофакторного анализа среди всех оцененных молекулярных маркеров нами не выявлен показатель, который оказывал бы значимое влияние на ОВ как в группе больных, получавших антиангиогенную терапию, так и в группе больных, получавших терапию ингибитором mTOR. Данный факт можно объяснить как ограниченным числом больных, так и тем, что 58 % пациентов (n = 25) получили 2 и более

линий таргетной терапии, а 27 % больных (n = 12) — более 3 линий, что могло повлиять на общую продолжительность жизни больных.

Обсуждение

С появлением в клинической практике новых лекарственных препаратов возникла проблема их рационального использования с целью повышения эффективности терапии. Выделение независимых клинико-лабораторных факторов прогноза в сочетании с молекулярными маркерами, способными предсказать эффективность таргетных лекарственных подходов, является основным инструментом для решения данной проблемы.

В серии наших наблюдений повышенный уровень экспрессии мРНК VEGFR1 в ткани метастаза служил фактором, определяющим вероятность максимального сокращения размеров метастазов на фоне анти-VEGFR-терапии. У всех 12 (100 %) пациентов с гиперэкспрессией мРНК VEGFR1 в ткани метастаза отмечалось уменьшение метастатических очагов >10 % от исходных размеров при проведении антиангиогенной терапии. Отсутствие подобной корреляции при определении уровня экспрессии мРНК *VEGFR1* в ткани первичной опухоли может объясняться тем, что экспрессия данного биомаркера в опухоли способна изменяться в процессе развития заболевания, тем более, что у 25 % больных отдаленные метастазы были выявлены метахронно, т. е. через 1 год и более после радикальной нефрэктомии.

Гиперэкспрессия мРНК VEGFR2 в первичной опухоли и гиперэкспрессия мРНК RAF1 в ткани метастаза ассоциировались с повышением риска про-

грессирования и снижением беспрогрессивной выживаемости при проведении терапии ингибиторами VEGFR. Нам сложно объяснить наличие обратной корреляции между уровнем экспрессии мРНК VEGFR2 только в ткани первичной опухоли и беспрогрессивной выживаемостью при отсутствии подобной корреляции в ткани метастаза. Возможно, ограниченное число больных, которым выполнялась метастазэктомия, не позволило выявить эту взаимосвязь. Также нельзя исключить, что гиперэкспрессия данного маркера в первичной опухоли в большей степени является прогностическим параметром, характеризующим агрессивность опухоли и, соответственно, неблагоприятное течение процесса на этапе метастазирования. Но для подтверждения данной гипотезы необходимо проведение дополнительного исследования с участием группы больных, не получающих противоопухолевого лечения.

Гиперэкспрессия мРНК RAF1 в ткани метастаза и, соответственно, активация альтернативного сигнального пути (RAS-RAF-MAPK) в опухолевой клетке, по всей видимости, также является фактором, который имеет негативное прогностическое значение при проведении терапии ингибиторами VEGFR. Относительный риск прогрессирования процесса при наличии данного нарушения увеличивался практически в 2 раза (ОР 2,12). Возможно, что в этих случаях назначение соответствующего тирозинкиназного ингибитора - сорафениба, воздействующего в том числе на гиперэкспрессированные серин-треониновые RAF-киназы, было бы более эффективным. Но ни один из 8 пациентов с гиперэкспрессией мРНК RAF1 не получал терапию данным тирозинкиназным ингибитором.

В то же время при наличии гиперэкспрессии мРНК *mTOR* в ткани первичной опухоли у 100 % больных наблюдался клинический эффект в виде уменьшения размеров метастатических очагов на фоне терапии эверолимусом. И, наоборот, у всех пациентов с гиперэкспрессией мРНК *VEGFR1*, *VEGFR2*, *RAF1* в ткани первичной опухоли достоверно чаще регистрировалось увеличение размеров метастазов на фоне терапии эверолимусом. В этой же группе из 13 больных гиперэкспрессия мРНК *PI3K* — другого элемента того же сигнального пути PI3K-mTOR-AKT, — коррелировала с увеличением беспрогрессивной вы-

живаемости. Причем в данной подгруппе наличие гиперэкспрессии мРНК *RAF1* в ткани первичной опухоли практически исключало повышение экспрессии мРНК других генов альтернативного сигнального пути PI3K-mTOR-AKT. Дополнительный анализ продемонстрировал, что частота гиперэкспрессии мРНК RAF1 в ткани первичной опухоли составила 25 % (11/43) случаев, в ткани метастаза — 28 % (8/28). Можно сделать вывод о том, что активация сигнального пути RAF-MAPK в опухолевых клетках является альтернативным самостоятельным «драйверным» механизмом развития опухоли у отдельных больных. Ни у одного больного с данным молекулярным нарушением мы не наблюдали объективного эффекта или сокращения размеров метастазов на фоне терапии ингибиторами VEGFR или ингибиторами mTOR.

Одно из преимуществ нашей работы заключается в использовании метода ПЦР в реальном времени, который позволяет не только качественно, но и количественно определить специфическую последовательность мРНК в образце ткани. В то же время одним из недостатков метода является оценка уровня экспрессии только мРНК – матрицы для синтеза белка, без учета уровня самого белка и/или его активной (фосфорилированной) формы. Количественное определение мРНК генов не всегда отражает уровень экспрессии самого белка и степень его активации. К сожалению, мы не располагаем данными исследований, в которых бы сопоставлялся уровень экспрессии мРНК с уровнем экспрессии соответствующего белка в ткани ПКР. В то же время опубликованные результаты изучения степени выраженности экспрессии одних и тех же сигнальных белков разными методами оказались противоречивыми - не было выявлено ни одного белка, гиперэкспрессия которого была бы зафиксирована одновременно всеми методами [15].

Заключение

Таким образом, гиперэкспрессия мРНК VEGFR1 в ткани метастаза и мРНК mTOR и/или PI3K может рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров, прогнозирующих эффективность терапии ингибиторами VEGFR и ингибиторами mTOR соответственно. Для валидации данных биомаркеров необходимо проведение более крупного проспективного клинического исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. М.: Издательская группа РОНЦ. 2014.

[Statistical data on malignant neoplasms in Russia and CIS countries in 2012. Ed. by M.I. Davydov, E.M. Axel. Moscow: of N.N. Blokhin RCRC. (In Russ.)].

2. Матвеев В.Б., Волкова М.И. Рак почки. Русский медицинский журнал 2007;14:1094—9. [Matveyev V.B., Volkova M.I. Renal cell carcinoma. Russkiy meditsinskiy

- zhournal = Russian Journal of Medicine 2007;14:1094–9. (In Russ.)].
- 3. Motzer R.J., Bacik J., Schwartz L.H. et al. Prognostic factors for survival in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma. J Clin Oncol 2004;22:454–63.

 4. Motzer R.J., Nosov D, Eisen T. et al.
- Tivozanib versus sorafenib as initial targeted therapy for patients with metastatic renal cell carcinoma: results from a phase III trial. J Clin Oncol 2013;31(30):3791–9.
- 5. Nosov D., Esteves B., Lipatov O.N. et al. Antitumor activity and safety of tivozanib (AV-951) in a phase II randomized discontinuation trial in patients with renal cell carcinoma. J Clin Oncol 2012;30:1678–85.
- 6. Pantuck A., Seligson D., Klatte T. et al. Prognostic relevance of the mTOR pathway in renal cell carcinoma: implications for molecular patient selection for targeted therapy. Cancer 2007;11:2257–67.
- 7. Rini B.I., Michaelson M.D., Rosenberg J.E. et al. Antitumor activity and biomarker analysis

- of sunitinib in patients with bevacizumab refractory metastasis renal cell carcinoma. J Clin Oncol 2008;26:3743–8.
- 8. Haddad A.Q., Kapur P., Singla N. et al. Validation of mammalian target of rapamycin biomarker panel in patients with clear cell renal cell carcinoma. Cancer 2015;121(1):43–50.

 9. Li S., Kong Y., Si L. et al. Phosphorylation of mTOR and S6RP predicts the efficacy of everolimus in patients with metastatic renal cell carcinoma. BMC Cancer 2014;14:376. doi: 10.1186/1471-2407-14-376.
- 10. You D., Song S.H., Cho Y.M. et al. Predictive role of tissue-based molecular markers in patients treated with sunitinib for metastatic renal cell carcinoma. World J Urol 2015;33:111–8.
- 11. Motzer R.J., Hutson T.E., Hudes G.R. et al. Investigation of novel circulating proteins, germ line single-nucleotide polymorphisms, and molecular tumor markers as potential efficacy biomarkers of first-line sunitinib therapy for advanced renal cell carcinoma.

- Canc Chemother Pharmacol 2014;74: 739–50.
- 12. Dornbusch J., Zacharis A., Meinhardt M. et al. Analyses of potential predictive markers and survival data for a response to sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. PLoS One 2013;8:1–16.
- 13. Gerlinger M., Rowan A.J., Horswell S. et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. N Engl J Med 2012;10:883–92.
- 14. Nassar A., Radhakrishnan A., Cabrero I.A. et al. Intratumoral heterogeneity of immunohistochemical marker expression in breast carcinoma: a tissue microarray-based study. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2010;18:433–41.
- 15. Fiorini C., Massari F., Pedron S. et al. Methods to identify molecular expression of mTOR pathway: a rational approach to stratify patients affected by clear cell renal cell carcinoma for more likely response to mTOR inhibitors. Am J Cancer Res 2014;4:907–15.