

# Анализ UGT1A1 для выбора дозировки иринотекана (Кампто®): первый фармакогенетический тест в онкологии

Е.Н. ИМЯНИТОВ,

д.м.н., профессор  
НИИ онкологии  
им. Н.Н. Петрова,  
Санкт-Петербург

*История открытия иринотекана (irinotecan, CPT-11); коммерческое название: Кампто® (Pfizer), начинается в 1958 году, когда Monroe Wall и Mansukh Wani изолировали алкалоид камптотецин (camptothecin) из китайского дерева Camptotheca acuminata (Xi Shu – «дерево счастья» (рисунок 1), произрастающего в горах Тибета). Данное исследование было выполнено в рамках программы, организованной Национальным Институтом Рака США, и посвященной широкому скринингу различных веществ на предмет противоопухолевой активности.*

**К**амптотецин нерастворим в воде, поэтому для первых клинических испытаний использовалась натриевая соль этого соединения. В 1972 г. были опубликованы итоги исследования II фазы, которые продемонстрировали достаточно скромные результаты: из 64 больных, страдающих опухолями желудочно-кишечного тракта, объективный ответ опухоли на лечение наблюдался лишь в трех слу-

чаях. Существенно, что камптотецин обладал высокой и непредсказуемой токсичностью. Наиболее серьезным осложнением был геморрагический цистит, вызванный активацией препарата в моче за счет кислой среды (14). Исследования камптотецина были приостановлены в связи с кажущейся бесперспективностью, однако уже в следующем десятилетии данный алкалоид снова вызвал интерес у онкологов: было установлено, что механизм его действия объясняется ингибированием топоизомеразы I (5).

Топоизомераза I (Topoisomerase I, Торо I, Тор I) играет существенную роль в процессах, связанных с репликацией, репарацией и комбинацией ДНК. Помимо этого, данный фермент необходим для осуществления транскрипции генов. Топоизомераза I снимает пространственное напряжение двуцепочечной ДНК, вызванное спиральной структурой этой молекулы. Топоизомераза I создает однонитевые разрывы и высвобождает те участки ДНК, на матрице которых должно осуществляться одно из перечисленных выше действий.

После завершения процессов репликации, транскрипции и т. д. топоизомераза I сама устраняет односторонний разрыв и восстанавливает исходную третичную структуру ДНК (рисунок 2). Топоизомераза I представляется привлекательной мишенью для воздействия на опухоли, т. к. подобный фермент абсолютно необходим для деления клеток и нередко активируется в процессе злокачественной трансформации. Угнетение топоизомеразы I сопровождается накоплением одно- и двуцепочечных разрывов ДНК; в то время как нормальные клетки могут устранять подобные повреждения посредством репарации, опухоли зачастую характеризуются пониженной способностью к восстановлению ДНК (17, 22).

Исследования полусинтетического аналога камптотецина – иринотекана – достаточно быстро продемонстрировали заметную клиническую эффективность последнего. В частности, иринотекан стал первым препаратом, применение которого привело к заметному увеличению выживаемости больных с метастатической формой рака толстой кишки. В 1995 г. иринотекан был разрешен к применению в Европе, а в 1996 г. – в США. В настоящее время иринотекан входит в стандарты терапии первой линии для колоректальных новообразований. В Японии иринотекан был зарегистрирован еще раньше (в 1994 г.), а рекомендованный спектр его применения значительно шире и включает не только опухоли желудочно-кишечного тракта, но и

**Топоизомераза I представляется привлекательной мишенью для воздействия на опухоли, т. к. подобный фермент абсолютно необходим для деления клеток и нередко активируется в процессе злокачественной трансформации. Угнетение топоизомеразы I сопровождается накоплением одно- и двуцепочечных разрывов ДНК; в то время как нормальные клетки могут устранять подобные повреждения посредством репарации, опухоли зачастую характеризуются пониженной способностью к восстановлению ДНК.**

карциномы легкого, шейки матки, яичника и т. д. (17, 22).

### МЕТАБОЛИЗМ ИРИНОТЕКАНА

Сам иринотекан представляет собой практически неактивное соединение. Активация иринотекана осуществляется за счет действия фермента карбоксил-эстеразы (рисунок 3). В результате образуется производное 7-этил-10-гидроксикамптотецин (7-ethyl-10-hydroxycamptothecin, SN-38), характеризующий примерно 1000-кратным увеличением цитотоксических свойств. Инактивация SN-38 происходит преимущественно в печени. Главную роль в этом процессе играет фермент уридин-дифосфат-глюкуронозил-трансфераза 1A1 (uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A1, UGT1A1). В случае присоединения глюкурона образуется неактивный метаболит SN-38G, который достаточно легко выводится из организма (6).

Следует подчеркнуть, что схема метаболизма иринотекана сознательно представлена в несколько упрощенном варианте. Помимо перечисленных ферментов, в активации и инактивации препарата могут принимать участие цитохромы, другие представители семейства уридин-дифосфат-глюкуронозил-трансфераз (UGT1A7, UGT1A9), различные белки-транспортёры и т. д. (2, 3, 13).

### ФАРМАКОГЕНЕТИКА ИРИНОТЕКАНА

Иринотекан зачастую упоминается как препарат, чудом прошедший первые фазы клинических испытаний. Действительно, хотя клиническая эффективность данного цитостатика стала очевидной уже в самых первых исследованиях, столь же быстро была отмечена его тяжелая и непредсказуемая токсичность. К основным побочным эффектам иринотекана относят нейтропению и диарею; в ранних испытаниях частота летальных исходов вследствие этих осложнений достигала шокирующих цифр – 2-5% (7, 16, 19).



Рисунок 1. *Camptotheca acuminata* (Xi Shu – «дерево счастья»)

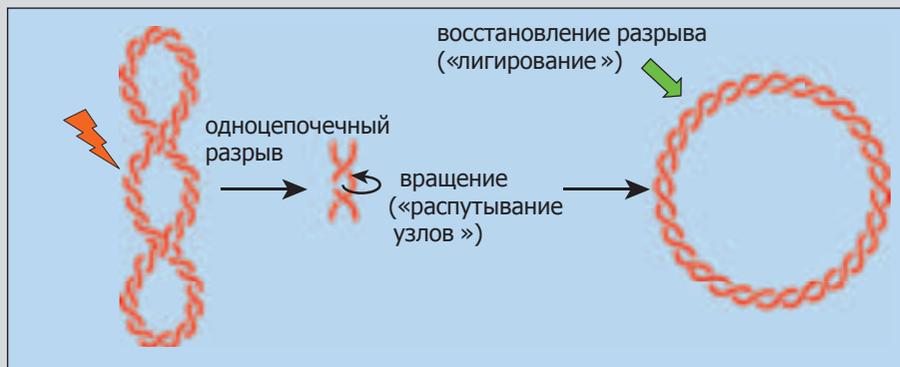
Еще в начале 90-х гг. XX века было отмечено, что иринотекан характеризуется значительной популяционной вариабельностью в отношении переносимости терапии. Одна из главных причин подобной вариабельности была идентифицирована достаточно быстро: оказалось, что одним из главных параметров, детерминирующих выраженность побочных эффектов при назначении иринотекана, является полиморфизм гена UGT1A1. UGT1A1 характеризуется популяционным разнообразием в отношении количества динуклеотидных повторов TA в промоторной (регуляторной) области гена. Наиболее частым является аллель, содержащий 6 повторов TA. Примерно 25-40% аллелей UGT1A1 представлены версией с 7 TA-динуклеотидами. Примечательно, что аллель (TA)7 (часто обозначаемый как UGT1A1\*28) ассоциирован с пониженной экспрессией соответствующего фермента, уридин-дифосфат-глюкуронозил-трансферазы 1A1 (1, 16). При гетерозиготном и особенно при гомозиготном носительстве аллеля

UGT1A1\*28 нарушается соотношение между свободной и глюкуроноконъюгированной формой SN-38; как следствие, наблюдается заметное увеличение концентрации цитостатика в организме, что сопровождается усилением побочных эффектов лечения (рисунок 3).

Подавляющее большинство исследователей сходится на том, что присутствие вариантных аллелей гена UGT1A1 сопряжено с повышенной токсичностью иринотекана (8, 9, 11, 12, 21). Воспроизводимость подобных наблюдений привела к тому, что тест на полиморфизм UGT1A1 в 2005 г. получил официальную поддержку со стороны Food and Drug Administration (FDA) (19). Для пациентов, которые являются гомозиготными носителями аллеля UGT1A1\*28, рекомендуется рассматривать вопрос о снижении стартовой дозировки препарата примерно на 20% (16). Примечательно, что анализ гена UGT1A1 является первым фармакогенетическим тестом, рекомендованным к применению в терапии солидных опухолей.



## Топоизомера I (Topoisomerase I, Топо I, Top I)



## Ингибиторы топоизомеразы 1 (camptothecines – CPT)



Рисунок 2. Биологическая функция топоизомеразы I (а) и принцип действия камптотецинов (б)

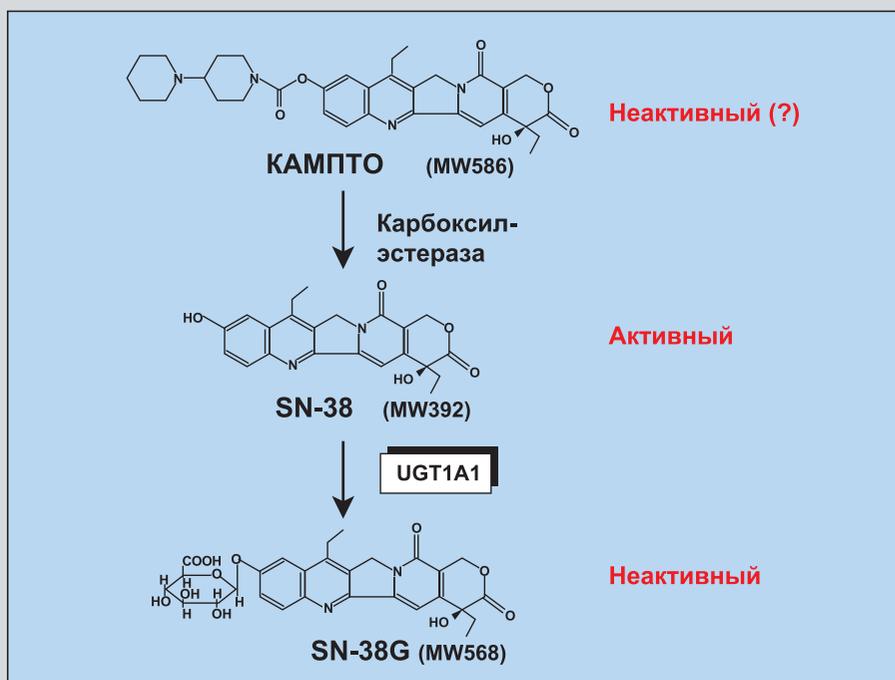


Рисунок 3. Метаболизм иринотекана

## ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Существует целый ряд проблем, связанных с использованием знаний по «ириногенетике» как в целом, так и применительно к отечественным условиям.

Детекция вариантных аллелей, различающихся по своей длине всего на 2 пары оснований (п. о.), является непростой задачей. В США для генотипирования UGT1A1 рекомендован т. н. Invider Assay, разработанный компанией Third Wave Technologies. Преимуществом подобного теста представляется отсутствие необходимости в амплификации ДНК посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР), что делает всю процедуру практически одноэтапной (4, 16). Недостатком является потребность в значительных количествах ДНК, а также высокая стоимость диагностических наборов, связанная с патентными обязательствами. В НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова нами разработан метод детекции аллеля UGT1A1\*28 традиционным методом гель-электрофореза (рисунок 4). Наиболее трудным компонентом данного подхода является необходимость разделения исключительно близких по размеру фрагментов ДНК; тем не менее, подобный протокол, безусловно, может использоваться в условиях обычной молекулярно-генетической лаборатории.

Вариации внутри гена UGT1A1 не ограничиваются динуклеотидным полиморфизмом ТА. Аллель UGT1A1\*28 относительно редко встречается у представителей азиатской расы; доминирующим низкоактивным вариантом UGT1A1 у последних является миссенс-полиморфизм G211A (Gly71Arg; аллель UGT1A1\*6) (3, 7, 16). Его роль в фармакогенетике иринотекана изучена значительно меньше, чем для UGT1A1\*28. Тем не менее, именно российская популяция нуждается в оценке встречаемости и клинической значимости аллеля UGT1A1\*6; подобное утверждение основывается на высокой степени генетического сходства между жи-

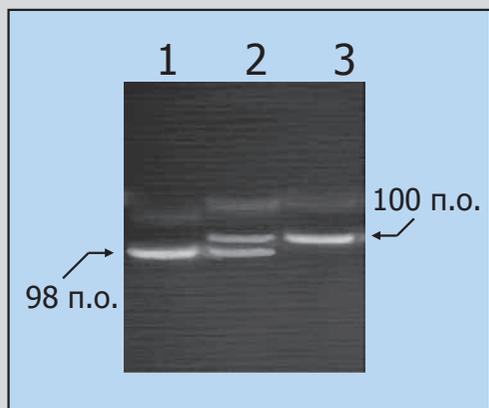


# Научные открытия во имя жизни



*Вы доверяете уже известным препаратам и полагаетесь на существующие методы лекарственной терапии. И вместе с тем наш взгляд устремлен в будущее. Ученые компании «Пфайзер» изучают тысячи новых генов, белков, патогенетических механизмов, участвующих в канцерогенезе. Мы совершаем открытия, находим новые решения и претворяем их в жизнь. Мы, как и вы, понимаем, что пришло время творить новейшую историю онкологии и делаем для этого все возможное.*

## Выявление аллеля UGT1A1\*28



- 1 - генотип (TA)<sub>6</sub>(TA)<sub>6</sub> (98 п.о.)  
 2 - генотип (TA)<sub>6</sub>(TA)<sub>7</sub> (98/100 п.о.)  
 3 - генотип (TA)<sub>7</sub>(TA)<sub>7</sub> (100 п.о.)

Рисунок 4. Генотипирование динуклеотидного полиморфизма гена UGT1A1 при помощи гель-электрофореза

телями России и лицами азиатской расы.

Одной из наиболее заметных физиологических функций уридин-дифосфат-глюкуронозилтрансферазы 1A1 является участие в метаболизме билирубина. Примечательно, что гомозиготность по аллелю UGT1A1\*28 лежит в основе синдрома Жильбера, проявляющегося гипербилирубинемией (15). В случае недоступности генетического тестирования рекомендуется внимательно учитывать уровень билирубина до начала лечения и при необходимости проводить коррекцию стартовой дозы иринотекана. Тем не менее, учитывая большие физиологические колебания уровня билирубина, подобный «фенотипический» подход представляется несколько ущербным с точки зрения требований современной медицины.

И, наконец, достижения «ириногенетики» рассматриваются не только в контексте уменьшения дозировки препарата для некоторых пациентов, но и, наоборот, с точки зрения повышения количества вводимого препарата больным с профицитными вариантами UGT1A1. Увеличение концентрации иринотекана при условии хорошей переносимости препарата представляется весьма желательным для достижения максимального ответа опухоли на терапию (11, 21, 23, 24).

Автор благодарит своих коллег К.Г. Буслова и А.Г. Иевлеву за подготовку иллюстрации по генотипированию динуклеотидного полиморфизма гена UGT1A1. Исследования по молекулярной диагностике в онкологии поддержаны грантом правительства Москвы (проект 15/07-Ген-М).

## Список литературы:

- Beutler E, Gelbart T, Demina A. Racial variability in the UDP-glucuronosyltransferase 1 (UGT1A1) promoter: a balanced polymorphism for regulation of bilirubin metabolism? *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Jul 7;95(14):8170-4.
- Carlini LE, Meropol NJ, Bever J, Andria ML, Hill T, Gold P, Rogatko A, Wang H, Blanchard RL. UGT1A7 and UGT1A9 polymorphisms predict response and toxicity in colorectal cancer patients treated with capecitabine/irinotecan. *Clin Cancer Res*. 2005 Feb 1;11(3):1226-36.
- Han JY, Lim HS, Shin ES, Yoo YK, Park YH, Lee JE, Jang IJ, Lee DH, Lee JS. Comprehensive analysis of UGT1A polymorphisms predictive for pharmacokinetics and treatment outcome in patients with non-small-cell lung cancer treated with irinotecan and cisplatin. *J Clin Oncol*. 2006 May 20;24(15):2237-44.
- Hasegawa Y, Sarashina T, Ando M, Kitagawa C, Mori A, Yoneyama M, Ando Y, Shimokata K. Rapid detection of UGT1A1 gene polymorphisms by newly developed Invader assay. *Clin Chem*. 2004 Aug;50(8):1479-80.
- Hsiang YH, Hertzberg R, Hecht S, Liu LF. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J Biol Chem*. 1985 Nov 25;260(27):14873-8.
- Innocenti F, Ratain MJ. "Irinogenetics" and UGT1A: from genotypes to haplotypes. *Clin Pharmacol Ther*. 2004 Jun;75(6):495-500.
- Innocenti F, Undevia SD, Iyer L, Chen PX, Das S, Kocherginsky M, Karrison T, Janisch L, Ramirez J, Rudin CM, Vokes EE, Ratain MJ. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Oncol*. 2004 Apr 15;22(8):1382-8.
- Innocenti F, Vokes EE, Ratain MJ. Irinogenetics: what is the right star? *J Clin Oncol*. 2006 May 20;24(15):2221-4.
- Iyer L, King CD, Whittington PF, Green MD, Roy SK, Tephly TR, Coffman BL, Ratain MJ. Genetic predisposition to the metabolism of irinotecan (CPT-11). Role of uridine diphosphate glucuronosyltransferase isoform 1A1 in the glucuronidation of its active metabolite (SN-38) in human liver microsomes. *J Clin Invest*. 1998 Feb 15;101(4):847-54.
- Lorence A, Nessler CL. Camptothecin, over four decades of surprising findings. *Phytochemistry*. 2004 Oct;65(20):2735-49.
- Marcuello E, Altes A, del Rio E, Cesar A, Menoyo A, Baiget M. Single nucleotide polymorphism in the 5' tandem repeat sequences of thymidylate synthase gene predicts for response to fluorouracil-based chemotherapy in advanced colorectal cancer patients. *Int J Cancer*. 2004 Dec 10;112(5):733-7.
- Massacesi C, Terrazzino S, Marcucci F, Rocchi MB, Lippe P, Bisonni R, Lombardo M, Pilone A, Mattioli R, Leon A. Uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1A1 promoter polymorphism predicts the risk of gastrointestinal toxicity and fatigue induced by irinotecan-based chemotherapy. *Cancer*. 2006 Mar 1;106(5):1007-16.
- Mathijssen RH, van Schaik RH. Genotyping and phenotyping cytochrome P450: perspectives for cancer treatment. *Eur J Cancer*. 2006 Jan;42(2):141-8.
- Moertel CG, Schutt AJ, Reitemeier RJ, Hahn RG. Phase II study of camptothecin (NSC-100880) in the treatment of advanced gastrointestinal cancer. *Cancer Chemother Rep*. 1972 Feb;56(1):95-101.
- Monaghan G, Ryan M, Seddon R, Hume R, Burchell B. Genetic variation in bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. *Lancet*. 1996 Mar 2;347(9001):578-81.
- O'Dwyer PJ, Catalano RB. Uridine diphosphate glucuronosyltransferase (UGT) 1A1 and irinotecan: practical pharmacogenomics arrives in cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2006 Oct 1;24(28):4534-8.
- Pizzolato JF, Saltz LB. The camptothecins. *Lancet*. 2003 Jun 28;361(9376):2235-42.
- Pommier Y. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. *Nat Rev Cancer*. 2006 Oct;6(10):789-802.
- Ratain MJ. Irinotecan dosing: does the CPT in CPT-11 stand for "Can't Predict Toxicity"? *J Clin Oncol*. 2002 Jan 1;20(1):7-8.
- Ratain MJ. From bedside to bench to bedside to clinical practice: an odyssey with irinotecan. *Clin Cancer Res*. 2006 Mar 15;12(6):1658-60.
- Rouits E, Boisdrion-Celle M, Dumont A, Guerin O, Morel A, Gamelin E. Relevance of different UGT1A1 polymorphisms in irinotecan-induced toxicity: a molecular and clinical study of 75 patients. *Clin Cancer Res*. 2004 Aug 1;10(15):5151-9.
- Thomas CJ, Rahier NJ, Hecht SM. Camptothecin: current perspectives. *Bioorg Med Chem*. 2004 Apr 1;12(7):1585-604.
- Toffoli G, Cecchin E, Corona G, Russo A, Buonadonna A, D'Andrea M, Pasetto LM, Pessa S, Errante D, De Pangher V, Giusto M, Medici M, Gaion F, Sandri P, Galligioni E, Bonura S, Boccalon M, Bionan P, Frustaci S. The role of UGT1A1\*28 polymorphism in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2006 Jul 1;24(19):3061-8.
- Walgren RA, Meucci MA, McLeod HL. Pharmacogenomic discovery approaches: will the real genes please stand up? *J Clin Oncol*. 2005 Oct 10;23(29):7342-9.
- Wall ME, Wani MC, Cook CE, Palmer KH, McPhail AT, Sim GA. Plant antitumor agents, 1: the isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Campotheca acuminata*. *J Am Chem Soc*. 1966, 88, 3888-3890.