

УДК 615.21/26-616-006.04

## ПРИМЕНЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ МЕК В ОНКОЛОГИИ: РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Владимирова Л.Ю.

*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ,  
Ростов-на-Дону, e-mail: rnoi@list.ru*

Путь MAPK является одним из основных в регуляции пролиферации клеток, резистентности к апоптозу и выживанию. В статье показана роль MAPK каскада и его составляющих в этих процессах. Сделан акцент на протеинах подсемейства MEK, и, в частности MEK 1/2, как на одних из ключевых в карциногенезе. Представлен механизм работы MEK ингибиторов. Приведены результаты ряда современных клинических исследований с использованием MEK 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. Представлены перспективы решения этой проблемы. Рассмотрена идея тестов на предсказательные биомаркеры для определения опухолей, которые можно ингибировать с помощью MEK, а также обоснован мульти-модальный подход с использованием комбинированной таргетной терапии и цитостатиков.

**Ключевые слова:** ингибиторы MEK, MAPKиназы, MAPKпуть, таргетная терапия

## USAGE OF MEK INHIBITORS IN ONCOLOGY: RESULTS AND PERSPECTIVES

Vladimirova L.Y.

*FSBI «Rostov Research Oncological Institute» under the Ministry of Health of the Russian Federation,  
Rostov-on-Don, e-mail: rnoi@list.ru*

MAPK pathway is one of the main in cascades regulation of cell proliferation, resistance to apoptosis and survival. The role of the MAPK cascade and its components in these processes is shown in the article. Proteins of MEK family and MEK 1/2 in particular are emphasized as the key proteins in carcinogenesis. Mechanism of MEK inhibitors is described. The results of clinical investigations of MEK inhibitors, their effectiveness and toxicities are given. In discussion the author analyzes comprehensively the possible causes of their low effect in patients with various oncological diseases including tumors with BRAF, KRAS, NRAS mutations. Perspectives in the possible solution of this problem are presented. The consideration of the predictive biomarkers to determine the tumors possible to inhibit with MEK inhibitors, as well as the approach of multimodality treatment with the use of the combined targeted therapy and cytostatics are discussed.

**Keywords:** MEK inhibitors, MAPKinases, MAPKpathway, targeted therapy

Сокращение: НМПК – немелкоклеточный рак легкого, MAPK – митогенактивированные протеинкиназы, FDA (Food and Drug Administration) – Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, ЦНС – центральная нервная система.

Митогенактивированные протеинкиназы (MAPK) – это семейство энзимов, которые отвечают за трансдукцию сигнала у всех эукариотов и осуществляют связь между внеклеточными сигналами и внутриклеточными путями экспрессии генов. Эти протеинкиназы регулируют и активируют одна другую с помощью системы фосфорилирования. MAPK контролируют множество разнообразных физиологических процессов макроорганизмов. Известны 3 подсемейства MAPK. Киназы, регулируемые внешними сигналами (ERK), отвечают за клеточное деление. Аминоконцевые киназы C-Jun (JNK) являются очень важными регуляторами процесса транскрипции. MAPKиназы p38 активируются с помощью воспалительных цитокинов и сигналов из окружающей среды при стрессе. Киназы JNK и p38 запускают

апоптоз [89]. Особую роль в пролиферации клетки и карциногенезе играет путь MAPK RAS/RAF/MEK/ERK. Он представляет собой типичный каскад и включает цепь протеинов и киназ, включая белок саркомы крыс (RAS), митоген активированную протеинкиназу киназы киназы (RAF или MAP3K), митоген активированную протеинкиназу киназы (MEK или MAP2K) и протеинкиназу, регулируемую внешними сигналами (ERK или MAPK). Этот MAPK каскад (RAS/RAF/MEK/ERK путь) является путем, который регулирует клеточную пролиферацию, клеточный цикл и миграцию клетки (рис. 1). При развитии рака у человека мутации семейства RAS/RAF наиболее часто являются причиной нарушения регуляции трансдукции сигнала через этот путь. Онкогенная активация ras встречается при 30% опухолей человека [89]. Мутации KRAS обнаружены в 90% случаев рака поджелудочной железы, 40–50% рака толстой кишки и щитовидной железы и в 20% – немелкоклеточного рака легкого [55, 75, 44]. Мутации в BRAF были обнаружены у более чем 60% больных меланомой [90, 21] и от 40 до 60% больных папиллярным

раком щитовидной железы [20, 24, 113, 63], 20–33% низкодифференцированным раком яичников [98, 112], 5–8% колоректальным раком [25], у 2–5% – немелкоклеточным раком легкого (88, 16). Хотя мутации MEK 1/2 обнаруживают редко, постоянно активный MEK был обнаружен в исследованиях более чем в 30% клеток первичной опухоли [46].

Передача сигнала MEK. К настоящему времени определены 4 отличных друг от друга пути MAP киназ, в которых представлено 7 MEK энзимов (рис. 1).

MEK 1 и 2 являются типичными протеинами подсемейства MEK [3]. Путь RAS/RAF/MEK/ERK активируется широким спектром ростовых факторов и цитокинов, действующих через рецепторы тирозинкиназ. 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 фос-

форилирующих реакций также приводит ее в активное состояние. Активированный RAF фосфорилирует и активирует MEK-киназу. MEK-киназа в свою очередь фосфорилирует и активирует ERK-киназу. Фосфорилированная ERK может перемещаться в ядро, где она фосфорилирует и активирует ряд факторов транскрипции [22, 110, 103]. Это приводит к изменению транскрипции гена и пролиферации и дифференцировке клетки [61, 82, 76, 108]. Семейство протеинкиназ RAF состоит из A-RAF, B-RAF и C-RAF (RAF-1). Для всех этих киназ RAS является общим активатором, MEK 1/2 – основным эффектором [39]. 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 [95]. В противоположность RAF и MEK 1/2, у которых субстрат узко специфичен, активированные ERK 1/2 катализируют фосфорилирование множества субстратов цитоплазмы и ядра, регулирующих различные функции клеток: митоз, эмбриогенез, клеточную дифференцировку, подвижность, метаболизм и программированную гибель, а также ангиогенез (рис. 2) [54, 4, 23, 66, 80, 91, 97, 25, 83].

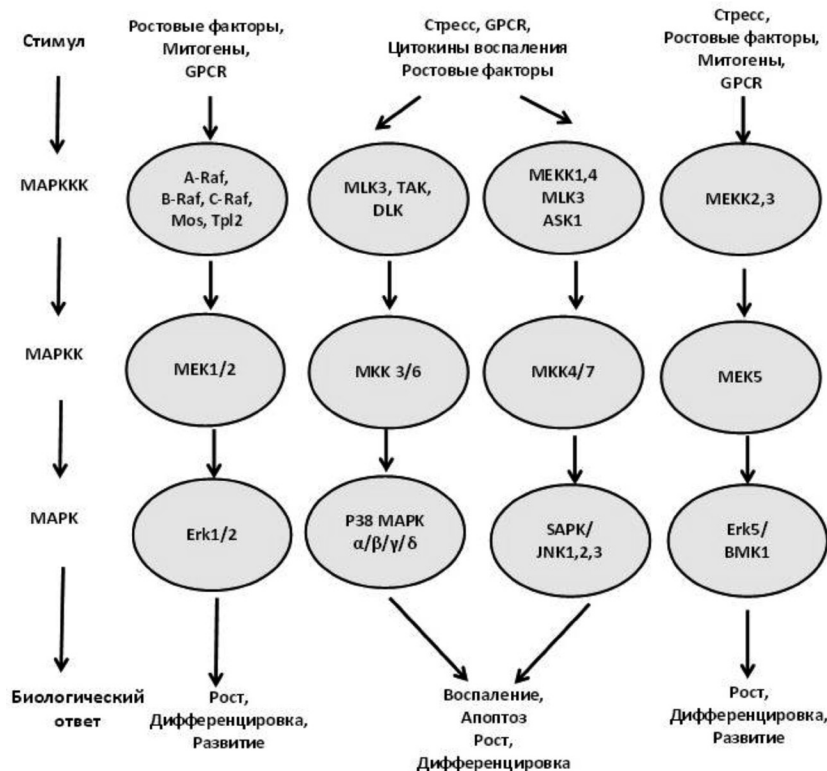


Рис. 1. MAPK каскады у млекопитающих (иллюстрация воспроизведена с сайта Cell Signaling Technology, Inc. ([www.cellsignal.com](http://www.cellsignal.com))).

Примечание. GPCR – рецептор, соединенный с G – протеином

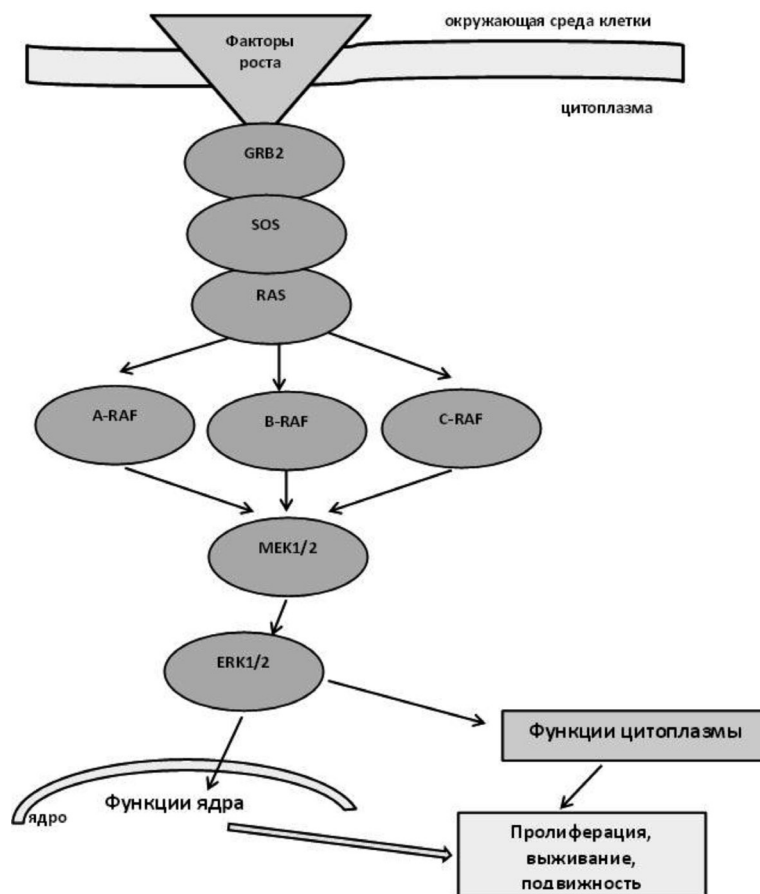


Рис. 2. Сигнальный путь RAS-RAF-MEK-ERK.

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

### MEK ингибиторы и их механизм действия

Было показано, что aberrantная передача сигнала через RAS/RAF/MEK-путь приводит к трансформации клетки [61]. 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 вследствие 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 конкурентное связывание 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 высокоспецифичную АТФ этой зоны [87, 104, 81]. 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 их 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/аллостеричный сегмент. Домен протеинкиназ 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-форсфорилирование. Для этого MEK-ингибиторы связываются с ингибиторным/аллостерическим 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 [81].

#### **Эффективность ингибиторов MEK**

В настоящее время в клинических исследованиях изучают несколько ингибиторов MEK. 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 АКТ-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 доз-лимитирующих 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 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 [68]. Специфичная токсичность для MEK ингибиторов включает нарушения зрения в виде помутнения и потерю остроты зрения. Есть описание окклюзии вен сетчатки [72], но наиболее часто встречается тяжелая центральная ретинопатия [29]. 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).

Далее в статье представлены сведения, полученные в ходе клинического применения отдельных препаратов-ингибиторов MEK.

CI 1040 (PD184352) был первым аллостерическим ингибитором MEK1/2, который использовали в клинических испытаниях. В I фазе клинических исследований наиболее частой токсичностью была сыпь, астения, диарея, тошнота и рвота. Использование пищи с высоким содержанием жира усиливало действие препарата. Биопсии 10 больных, взятые до и после лечения, в дозе, рекомендованной для II фазы, показали ингибирование фосфорилирования ERK в среднем до 75% (46–100%) [71]. Этот препарат был рекомендован для исследований II фазы для лечения больных немелкоклеточным раком легкого, рака молочной железы, толстого кишечника, поджелудочной железы, однако из 67 больных, включенных в исследование, объективного эффекта не отмечено ни у одного [94]. Данные фармакокинетики очень различались между больными. Исследование этого препарата послужило основой для разработки соединения с улучшенными фармакологическими свойствами (PD-0325901).

PD-0325901 (AS703026, MSC1936369B) является неконкурентным АТФ ингибитором MEK 1/2. Этот препарат был разработан как аналог CI 1040. Он имеет улучшенную биодоступность при приеме внутрь и значительно более высокий потенциал против MEK1/2. В I фазе клинических исследований была доказана его противоопухолевая активность у больных с меланомой, однако, включение больных в исследование было прекращено в связи с наличием побочного действия в виде окклюзии вен сетчатки [95]. II фаза исследования предварительно леченных больных НМРЛ не достигла своей конечной цели по эффективности [42]. Недавнее исследование PD-0325901 в сочетании с двойным ингибитором PI3K/mTOR PF04691502 выявило токсичность, которая препятствовала назначению препарата в эффективных дозах [15]. В настоящее время продолжают проводить ряд исследований по его применению совместно с ингибиторами PI3K/mTOR [81].

Selumetinib (AZD6244). Селуметиниб – потенциальный, неконкурентный АТФ ингибитор, имеющий высокую специфичность к MEK 1/2 по сравнению с другими протеинкиназами. Селуметиниб являет-

ся, пожалуй, самым широко изученным ингибитором MEK в клинике. В испытаниях I фазы эритематозная макулопапиллярная сыпь была наиболее частой и дозолиметирующей 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 T-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. [1]. 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 раком почки была достигнута длительная стабилизация заболевания [1]. 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 BRAFV<sup>600E</sup> мутацией [6].

Монотерапия селуметинибом оценивалась в нескольких исследованиях II фазы при различных солидных опухолях и гематологических заболеваниях [86, 9, 43, 85, 17]. 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 V<sup>600K</sup> 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 дозолиметирующей токсич-

ностью являлись сыпь, стоматит, отслойка пигментного эпителия сетчатки 2 ст., 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 НМРЛ с KRAS-мутацией и у 1-й больной раком яичников с KRAS-мутацией, а неподтвержденный длительный частичный эффект наблюдался у 1-го больного раком поджелудочной железы [57]. В рандомизированном исследовании II фазы, в котором оценивалась эффективность доцетаксела с селуметинибом или с плацебо у предварительно леченных больных НМРЛ 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 [53]. В исследовании I фазы, оценивающем 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 [27]. Из 13 больных, которым проводилось лечение с эскалацией дозы, частичный эффект отмечен у 2-х больных колоректальным раком, у 1-го больного плоскоклеточным раком миндалин, у 1-го – НМРЛ и у 2-х – колоректальным раком. Рандомизированные исследования II фазы, сравнивающих селуметиниб с темозоламидом при лечении меланомы в I линии, с пеметрекседом при НМРЛ 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 [40, 11, 12, 59]. В настоящее время проводятся исследования I–II фаз сочетания селуметиниба с различной таргетной терапией, например, препаратом саракатинибом (AZD0530) [30] или ХТ с использованием вандетаниба, доцетаксела, гемцитабина, иринотекана, циклоспорином (модулятором Wnt (кальциевого пути)) [102], фенформинном [115].

Траметиниб (GSK 1120212, JTP-74057) – это малая молекула, аллостерический не-

конкурентный 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 [114].

В I фазе исследования траметиниба участвовало 206 больных [29]. 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 63 мг, во II фазе была рекомендована ежедневная доза 2 мг 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 [49]. Falchook с соавт. провели анализ подгрупп больных с меланомой с BRAF-мутацией V<sup>600</sup>E или V<sup>600</sup>K, 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 [58, 36]. В III фазе больных с меланомой с BRAFV<sup>600</sup>E/K, которых ранее не лечили ингибиторами BRAF или MEK или ипилимумабом, рандомизировали в группы – для лечения траметинибом или химиотерапией дакарбазином или паклитакселом. 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,  $p \leq 0,01$ ) [32]. В мае 2013 г. FDA одобрило Mekinist<sup>TM</sup> (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 [35, 48]. Кроме того, активация пути MAPK была установлена как потенциальный механизм резистентности к ингибиторам RAF при меланоме.

Таким образом, одновременное ингибирование RAF и MEK становится перспектив-

ным в качестве подхода, преодолевающего 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 [69].

Следует отметить, что количество ответов на траметиниб у больных меланомой с BRAF-мутациями меньше, чем при использовании 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 [51]. Продолжаются другие исследования I/II фазы комбинаций траметиниба с различными таргетами и химиопрепаратами (эверолимус, пазопаниб, дабрафениб, эрлотиниб, фторурацил), а также с лучевой терапией, ингибитором AKT (GSK2141795) и ингибитором PI3K (BKM120) [50, 62, 2, 8].

Кобиметиниб (GDC-0973, XL-518, RG-7421) – это неконкурентный ингибитор MEK 1/2, показавший свою активность в клеточных линиях с мутациями KRAS и BRAF [111].

Предварительные исследования I фазы показали, что больные хорошо переносили этот препарат. Была получена длительная стабилизация заболевания у больного НМРЛ [34]. Далее это соединение изучалось в исследовании II фазы в комбинации с препаратом, направленным на PI3K, для лечения генерализованных солидных опухолей. При этой комбинации наиболее частыми побочными эффектами являлись диарея, усталость, рвота и кожная сыпь. Также были отмечены повышение уровня липазы 3 степени и креатинфосфокиназы,

что являлось дозозимитирующей токсичностью. Среди 46 больных частичная регрессия была отмечена у 1-го больного меланомой с BRAF-мутацией, 1 больного раком поджелудочной железы с BRAF-мутацией, и у 1 больного раком эндометрия с KRAS-мутацией [96, 70]. В другом исследовании II фазы GDC-0973 было сочетание с вемурафенибом при меланоме с BRAFV<sup>600</sup> мутацией. Согласно предварительным исследованиям уменьшение размеров опухоли было достигнуто у всех 8 больных, не получавших ранее вемурафениб. Интересно то, что только у одного из 44 больных был выявлен плоскоклеточный рак кожи [37]. На основании этих результатов была начата III фаза исследований, в которой сравнивают эту комбинацию с вемурафенибом.

Продолжаются исследования сочетания GDC-0973 с другими таргетными препаратами (ингибитором PI3K (GDC-0941) и ингибитором AKT (GDC-0068)).

Пимазертиб (AS703026, MSC 1936369B) – это неконкурентный АТФ ингибитор MEK1/2. Пимазертиб оценивали с I фазы исследования [26, 47]. Среди наиболее часто встречаемых побочных эффектов отмечена кожная сыпь, диарея, астения, анорексия, тошнота, рвота, периферические отеки, нарушение зрения и анемия. Дозозимитирующей 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 [73]. Среди продолжающихся исследований: II фаза исследования сочетания пимазертиба и ингибитора PI3K/mTOR (SAR 245409) при солидных опухолях [7], при меланоме с мутациями NRAS, при аденокарциноме поджелудочной железы и у онкогематологических больных.

Рефаметиниб BAY 86-9766 (RDEA 119) представляет собой дериват циклопропан-1-сульфонамида и является неконкурентным АТФ, высокоселективным аллостерическим ингибитором MEK1/2 [52]. В докли-

нических исследованиях, рефаметиниб был активен по отношению к меланоме, раку толстой кишки, кожи, поджелудочной железы [18]. В I–II фазах наиболее частой токсичностью была сыпь, а клинический эффект был ограничен [38]

Как выявила I фаза испытаний VAY 86-9766 хорошо переносится, наиболее часто отмечалась акнеподобная сыпь и гастроинтестинальная токсичность. Из 53 больных, у 1 больного раком толстой кишки отмечена частичная регрессия и у 11 больных отмечена длительная стабилизация [109]. Во II фазе VAY 86-9766 сочетали с сорафенибом при лечении больных гепатоцеллюлярным раком в качестве I линии терапии. Из 70 больных у 3-х отмечена частичная регрессия и у 25 длительная стабилизация. Однако у 25 больных отмечена токсичность 4 степени, связанная с приемом препарата, что потребовало коррекции дозы [67]. Продолжается исследование I/II фазы, оценивающее VAY 86-9766 в комбинации с гемцитабином у больных метастатическим раком поджелудочной железы. По предварительным данным, отмечен приемлемый профиль токсичности [105, 93]. Продолжена I фаза исследования, в котором изучается комбинация VAY 86-9766 и ингибитора PI3K VAY 80-6946 [92].

Биниметиниб MEK 162, ARR-438162 – неконкурентный АТФ ингибитор MEK 1/2. Препарат MEK 162 был оценен в I фазе исследований на большом количестве больных метастатическим колоректальным раком и генерализованным раком желчного пузыря [10, 31]. Отмечен частичный ответ в одном случае из 26 больных раком желчного пузыря. В группе с колоректальным раком исследование продолжается. II фаза исследований MEK 162 при метастатической меланоме с NRAS или BRAF-мутациями объективные ответы наблюдались у 20% больных с меланомой с NRAS- мутацией и у 20% больных меланомой с BRAF-мутацией [5, 33]. Ответ на лечение в случае предшествующего лечения ингибиторами BRAF не получен. Основываясь на перспективных результатах лечения больных меланомой с этой мутацией, дополнительно 70 больных меланомой с NRAS мутацией были включены для изучения препарата MEK 162 в этой популяции. Также запланировано рандомизированное исследование у больных с меланомой и NRAS-мутациями. Продолжаются исследования комбинаций MEK 162 с различными препаратами, такими как ингибиторы PI3K

BYL719 [56], ингибиторы RAF киназ LGX 8189062 и RAF 265 и паклитаксела при меланоме и других солидных опухолях [100].

RO 4987655 (CH 4987655). I фаза клинических исследований препарата RO 4987655 (CH 4987655) была проведена у 49 больных. Установлено, что, несмотря на то, что пациенты были сильно предлеченные, в 21,1% отмечалась клиническая польза, включая 2 частичных регрессии (одну подтвержденную и одну неподтвержденную), при этом токсичность была управляемой (сыпь отмечена у 91,8%, гастроинтестинальные нарушения – у 69,4%). Дозолимитирующей токсичностью являлись нарушения зрения (у 1 больного) и повышение уровня креатинфосфокиназы (у 3-х больных). Исследователи предполагают, что препарат имеет перспективы при лечении больных с опухолями, несущими RAS- и/или RAF-мутации. Из 38 больных меланомой у одного ответ был подтвержден и у одного не был. Продолжаются исследования в расширенных когортах больных меланомой с BRAFV<sup>600</sup>-мутациями, HMPJ с KRAS-мутациями, колоректальным раком с мутациями KRAS и/или BRAFV<sup>600</sup> [65].

RO 5126766 – это первый высокоселективный двойной ингибитор RAF/MEK [77]. В исследовании I фазы среди 52 больных у 2-х больных меланомой с BRAF-мутацией и у 1-го меланомой с NRAS-мутацией отмечен частичный эффект. Побочные эффекты были управляемы. Наиболее часто отмечались сыпь, диарея, нарушение зрения. Дозолимитирующей токсичностью явились помутнение зрения и повышение уровня креатинфосфокиназы [77, 45].

#### Другие ингибиторы MEK

Продолжены исследования I фазы AZD 8330 (ARRV-424704), WX-554, E 6201 и TAK-733 [31, 74, 101, 19]. В I фазе исследования AZD 8330 у одного больного меланомой отмечен частичный эффект. Наиболее частой токсичностью, связанной с препаратом, были акнеподобный дерматит, слабость, диарея и тошнота. Дозолимитирующей токсичностью были изменение ментального статуса и сыпь [19]. Доклинические испытания выявили эффективность препарата E6201, который позволяет преодолеть приобретенную резистентность к ингибитору BRAF вемурафенибу и аллостерическому MEK-ингибитору селуметинибу за счет связывания с MEK1 вдали от точечной мутации C121S. Это приводит к тому, что мутация не оказывает влияние на



ингибиторную активность MAPK пути [84]. Новый аллостерический (несвязывающий селективный) ингибитор MEK 1/2 TAK 733 показал противоопухолевые свойства в различных клеточных линиях меланомы (кожной и увеальной) с различными онкогенными мутациями [106]. Полученные данные позволяют продолжить дальнейшие исследования в этом направлении.

### 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 абберрации 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 [60]. 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. [49] 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 достиже-

ния 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 [78].

Кроме ограничения в дозах, другой причиной низкого ответа на MEK-таргетные препараты является работа противодействующих сигнальных каскадов в качестве прямого ответа на ингибиторы MEK [30]. 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, исследователи, 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 киназ, 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 различную способность к фосфорилированию и активации MEK, с преобладающей активностью киназ, относящейся к BRAF. Это имеет клиническое значение, поскольку было установлено, что опухоли с мутациями BRAF имеют отличительную способность к ответу на применение ингибиторов MEK [99]. Опухоли с BRAF-V600E мутациями не имеют замкнутой цепи с отрицательной обратной связью, о которой говорилось выше, и являются чувствительными к ингибиторам MEK [48]. 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, о чем говорилось ранее в статье.

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 [78].

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 [99]. 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 состояние онкогенной зависимости [99, 28]. 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 [41].

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 [49, 29]. В ситуациях с RAS-мутированными опухолями именно их комбинации с другими препаратами могли бы усиливать ингибирование каскада [79]. 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 [64, 81, 79], но это является предметом дальнейших научных разработок.

В завершение, говоря еще раз о мультимодалном 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 [78], 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.

#### Список литературы/References

1. 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 kinase1/2 inhibitor AZD6244 (ARRY-142886) in patients with advanced cancers. *J Clin Oncol.* 26(13), 2139-2146. PMID: 18390968. Epub 2008. Apr 7.
2. 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. 202 s. AbstractTPS3117.
  3. Akinleye A., Furqan M., Mukhi N. et al.2013. MEK and the inhibitors: from bench to bedside. *J. Hematol. Oncol.*6,27.
  4. Alberola- Ila J., Forbush K.A., Seger R., et al. . 1995. Selective requirement for MAP kinase activation in thymocyte differentiation. *Nature.* 373(6515), 620-623. PMID: 7854419.
  5. Ascierto P.A., Schadendorf D., Berking C. et al. 2013 MEK 162 for patients with advanced melanoma harbouring NRAS or Val 600 BRAF mutations: a non-randomised, open-label phase 2 study. *Lancet Oncol.* 14(3), 249–256. PMID: 23414587. Epub 2013. Feb. 13.
  6. 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 AZD 6244 (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.
  7. 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.
  8. 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. 178 s. Abstract 3023.
  9. 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.
  10. Bendell J.C., Jones S.F., Barrett E. et al.2011. A phase I dose-escalation study of MEK inhibitor MEK 162 (ARRY-438162) in patients with advanced solid tumors. *Mol Cancer Ther.* 10 (11 supplement 1), B243.
  11. Bannouna 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 AZD 6244 (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.
  12. Bodoky G., Timcheva C., Spigel D.R. et al. 2012. A phase II open-label randomized study to assess the efficacy and safety of selumetinib (AZD6244 (ARRY-142886)) 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.
  13. Borad M.J., Akelere C.E., Ramamathan R.K. et al. 2010. Phase I dose-escalation study of E6201, a MEK-1 inhibitor in advanced solid tumors. *J Clin Oncol*, 28(15s) Abstract 2505.
  14. BRAF and MEK inhibitors approved for melanoma. *Cancer Discov.*3, OF6.
  15. Britten C.W.Z., Taberero J., Alsina Maqueda M. et al. 2012. Multi-arm Phase I Dose Escalation Study of Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of the Dual P13K/mTOR Inhibitors PF-04691502 (oral) and PF-05212384 (IV) in Combination with the MEK Inhibitor PD-0325901 or Irinotecan in Patients with Advanced Cancer. *Eur J Cancer.*, 48, 109.
  16. Brustugun O.T., Khattak A.M., Tromborg A.K. et al. 2014. BRAF-mutations in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 84(1), 36–38.
  17. 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.
  18. Chang Q., Chapman M.S., Miner J.N., et al. 2010. Antitumor activity of a potent MEK inhibitor RDEA 119/BAY 869766 combined with rapamycin in human orthotopic primary pancreatic cancer xenografts. *BMC Cancer.*10, 515.
  19. Cohen R.B., Aamdal S., Nyakas M. et al. 2013. A phase I dose-finding, safety and tolerability study of AZD 8330 in patients with advanced malignancies. *Eur J Cancer.* PMID: 23433846. Epub 2013 Feb 20.
  20. Cohen Y., Xing M., Mambo E., et al. 2003. BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 95(8), 625–627.
  21. Colombino M., Capone M., Lissa A. et al.2012. BRAF/ NRAS mutation frequencies among primary tumors and metastases in patients with melanoma. *J.Clin. Oncol.*30(20), 2522–2529.
  22. 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 3T3 cells. 1994. *Cell.* 77(6), 841–852. PMID: 7911739.
  23. D'Angelo G., Struman I., Martial G., et al.1995. Activation of mitogen-activated protein kinases by vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in capillary endothelial cells is inhibited by the antiangiogenic factor 16-kDa N-terminal fragment of prolactin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 92(14), 6374–6378. PMID: 7541539.
  24. Davies H., Bignell G.R., Cox C., et al. 2002 Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 417, 949–954.
  25. De Vita T., Lawrence S., Rosenberg S.A., 2011. *Primer of Molecular Biology of Cancer.* Lippincott Williams& Wilkins.
  26. 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 AS 703026 ( two regimens (R)) in patients (pts) with advanced solid tumors. *J.Clin Oncol.* 2010; 28(15s) Abstract 2504.
  27. Deming D.A., Schelman W.R., Lubner S.J., et al. 48th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology.2012. Chicago,USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 32(15S), 198 s. Abstract 3103.
  28. Drost 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.
  29. 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.
  30. 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.
  31. Finn R.S., Javle M.M., Tan B.R. et al.2012. A phase I study of MEK inhibitor MEK 162 (ARRY-438162) in patients with biliary tract cancer. *J.Clin. Oncol.* 30(4s) Abstract 220.
  32. 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.
  33. Flaherty K. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology.2014. Chicago,USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 32(15S). P. 596 s. Abstract TPS9102.
  34. Fremin C., Meloche S. 2010. From basic research to clinical development of MEK1/2 inhibitors for cancer therapy. *J Hematol Oncol.* 3,8. PMID: 20149254.
  35. 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.
  36. 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.
  37. Gonzalez R., Daud A., Pavlick A. et al. Phase Ib study of vemurafenib in combination with the mek inhibitor, gdc-0973, in patients (pts) with unresectable or metastatic brafv600 mutated melanoma (brim7). Presented at: ESMO2012-Melanoma and other skin tumors.
  38. Gore L., Lewis K., Von Hoff D.D. et al.47th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology.2011. Chicago,USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 29(15S). P. 195 s. Abstract 3007.
  39. Hagemann C. and Rapp U.R. 1999. Isotype-specific functions of Raf kinases. *Exp.Cell Res.* 253 (1), 34–46. PMID: 10579909.
  40. 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 pemretrexed 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.
  41. 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.

42. Haura E.B., Ricart A.D., Larson T.G. et al. 2010. A phase II study of PD-0325901, an oral MEK inhibitor, in previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 16(8), 2450–2457. PMID: 20332327. Epub 2010 Mar 23.
43. Hayes D.N., Lucas A.S., Tanvetyanon T. et al. 2012. Phase II efficacy and pharmacogenomic study of Selumetinib (AZD 6244; 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.
44. Herreros-Villanueva M., Chen C.C. Yuan S.S. et al. 2014. KRAS mutations: analytical considerations. *Clin. Chim. Acta.* 431, 211–220.
45. Honda K., Yamamoto N., Nokihara H., et al. 2013. Phase I and pharmacokinetic/ pharmacodynamics study of RO5126766, a first-in-class dual Raf/MEK inhibitor, in Japanese patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 72(3), 577–584.
46. 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.
47. 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. 198 s. Abstract 3019.
48. 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.
49. Infante J.R., Fecher L.A., Falchook G.S. 2012. Safety, pharmacokinetic, pharmacodynamic, and efficacy data for the oral MEK inhibitor trametinib: a phase I dose-escalation trial. *Lancet Oncol.* 13(8), 773–781.
50. 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. *Mol Cancer Ther.* 10(11s), Abstract B128.
51. 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.
52. Iverson C., Larson G., Lai C., et al. 2009. RDEA119/BAY 869766: a potent, selective, allosteric inhibitor of MEK1/2 for the treatment of cancer. *Cancer Res.* 69, 6839–6847.
53. 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.
54. Johnson G.L., Vaillancourt R.R. 1994. Sequential protein kinase reactions controlling cell growth and differentiation. *Curr Opin Cell Biol.* 6(2), 230–238. PMID: 8024815.
55. Jose D.G. and De Kretser T. 1984. Oncogenes of Human tumour cells. A review of advances in virology and molecular biology of cancer. *Australas Radiol.* 28(1), 43–50. PMID: 6089728.
56. Juric D. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 32(15S). P. 584 s. Abstract 9051.
57. 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.
58. 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 Dec 17.
59. 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.
60. 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.
61. Kolch W., Heidecker G., Lloyd P., et al. 1991. Raf-1 protein kinase is required for growth of induced NIH/ 3T3 cells. *Nature.* 349 (6308), 426–428. PMID: 1992343.
62. 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. 215 s. Abstract 3085.
63. Lee J.H., Lee E.S., Kim Y.S. 2007. Clinicopathologic significance of BRAF V600E mutation in papillary carcinomas of thyroid: meta-analysis. *Cancer.* 110(1), 38–46.
64. 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.
65. Leijen S., Middleton M.R., Tresca P., et al. 2012. Phase I dose-escalation study of the safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the MEK inhibitor RO4987655 (CH4987655) in patients with advanced solid tumors. *Clin. Cancer Res.* 18(17), 4794–4805.
66. Lewis T.S., Shapiro P.S., and Ahn N.G. 1998. Signal transduction through MAP kinase cascades. *Adv Cancer Res.* 74, 49–139. PMID: 9561267.
67. Lim H.Y., Yen C.J., Tak W.Y. et al. 48th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2012. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 30(15S). P. 264 s. Abstract 4103.
68. Liu S., Kurzrock R. 2014. Toxicity of targeted therapy: Implications for response and impact of genetic polymorphisms. *Cancer Treatment Reviews,* 40(7), 883–89.
69. Long G.V. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 32(15S). P. 574 s. Abstract 9011.
70. LoRusso P., Shapiro G., Pandaya S.S. et al. 48th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2012. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 29(15S). P. 158 s. Abstract 2566.
71. 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.
72. 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.
73. Macarulla T., Cervantes A., Rosello S., et al. 2012. Phase I/II study of folfiri plus the MEK ½ inhibitor pimasrtib (msc1936369b) as second-line treatment for KRAS mutated metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 23 (suppl 4): iv19-iv 30.
74. Mala C., Neville N.G., Haindl E. et al. 2010. A phase I, first-in-human single ascending dose study of the MEK inhibitor WX-554 given to healthy male subjects. *J Clin Oncol.* 28(15 s) Abstract 13666.
75. Malumbres M., Baracid M. 2003. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat. Rev. Cancer.* 3, 459–465.
76. Marshall C.J. 1996. Cell signaling. Raf gets it together. *Nature.* 383(6596), 127–128. PMID 8774875.
77. Martinez-Garcia M., Banerji U., ALbanell J. et al. 2012. First-in-human phase I dose-escalation study of the safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of RO 5126766. A first-in-class dual MEK/RAF inhibitor in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res.* 18(17), 4806-4819. PMID: 22761467. Epub 2012 Jul 3.
78. McArthur G.A. 2012. The coming age of MEK. *Lancet Oncology.* 13(8), 744–745.
79. Meier F.E. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. *J. Clin. Oncology.* 32(15S). P. 587 s. Abstract 9062.
80. Meloche S. and Pouyssegur J. 2007. The ERK ½ mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. *Oncogene.* 26(22), 3227–3239. PMID: 17496918.
81. Miller C.R., Oliver K.E., Farley J.H. 2014. MEK 1/2 inhibitors in the treatment of gynecologic malignancies. *Gynecologic Oncology.* 133(1), 128–137.
82. Moodie S.A., Willumsen B.M., Weber M.J., et al. 1993. Complexes of Ras. GTP with Raf-1 and mitogen-activated

- protein kinase kinase. *Science*; 260 (5114), 1658–1661. PMID: 8503013.
83. Na J., Furue M.K., Andrews P.W. 2010. Inhibition of ERK1/2 prevents neural and mesendodermal differentiation and promotes human embryonic stem cell self-renewal. *Stem Cell Res.* 5(2), 157–169. PMID: 20675210. Epub 2010 Aug 3.
84. Narita Y., Okamoto K., Kawada M.I., et al. 2014. Novel ATP-competitive MEK inhibitor E6201 is effective against vemurafenib-resistant melanoma harboring the MEK 1-C121S mutation in a preclinical model. *Mol. Cancer Ther.* 13(4), 823–832.
85. 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. 436 s. Abstract 6582.
86. 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.
87. 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.
88. Paik P.K., Arcila M.E., Fara M. et al. 2011. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. *J. Clin. Oncol.* 29(15), 2046–2051.
89. Pecorino L. 2012. *Molecular Biology of Cancer. Mechanisms, Targets, and Therapeutics.* Oxford. Oxford University Press.
90. Pollock P.M., Harper U.L., Hansen K.S. et al. 2003. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat. Genet.* 33(1), 19–20.
91. Raman M., Chen W., Cobb M.H. 2007. Differential regulation and properties of MAPKs. *Oncogene.* 26(22), 3100-3112. PMID: 17496909.
92. Ramanathan R.K. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 32(15S). P. 164 s. Abstract 2588.
93. Riess H. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 32(15S). P. 287 s. Abstract 4129.
94. Rinehart J., Adjei A.A., Lorusso P.M. et al. 2004. Multicenter phase II study of the oral MEK inhibitor, CI-1040 in patients with advanced non-small-cell lung, breast, colon and pancreatic cancer. *J Clin Oncol.* 22(22), 4456–4462. PMID: 15483017. Epub 2004 Oct 13.
95. Roskoski R Jr. 2012. ERK ½ MAP kinases: structure, function and regulation. *Pharmacol. Res.*; 66(2), 105–143. PMID: 22569528. Epub 2012 Apr 27.
96. Shapiro G., LoRusso P., Kwak E.L. et al. 2011. 47th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2011. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 29(15S). P. 195 s. Abstract 3005.
97. Shaul Y.D. and Seger R. 2007. The MEK/ERK cascade: from signaling specificity to diverse functions. *Biochim Biophys Acta.* 1773(8), 1213-1226. PMID: 17112607. Epub 2006 Oct 19.
98. Singer G., Oldt R., Cohen Y., et al. 2003. Mutations in BRAF and KRAS characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 95, 484–486.
99. Solit d.B., Garraway L.A., Pratilas C.A., et al. 2006. BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition. *Nature.* 439, 358–362.
100. Sosman J.A. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 32(15S). P. 573 s. Abstract 9009.
101. Sosman J.A., Adjei A.A., LoRusso P. et al. 47th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2011. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 29(15S). P. 18 s. Abstract TPS145.
102. 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.
103. 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.
104. 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.
105. Van Laethem J.L., Heinemann V., Martens U.M. et al. 48th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2012. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 30(15S). P. 250 s. Abstract 4050.
106. Von Euw E., Atefi M., Attar N., et al. 2012. Antitumor effect of the investigational selective MEK inhibitor TAK733 against cutaneous and uveal melanoma cell lines. *Mol. Cancer.* 11, 22.
107. Wan P.T., Garnett M.J., Roe S.M. et al. 2004. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell.* 116, 855–867.
108. Wasyluk 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.
109. Weekes C.D., Von Hoff D.D., Adjei A.A. et al. 2013. Multicenter Phase 1 trial of the Mitogen- Activated Protein Kinase 1/2 inhibitor BAY 860976 in patients with Advanced Cancer. *Clin Cancer Res.* 19(5), 1232-1243. PMID: 23434733. Epub 2013 Feb 22.
110. Weinstein-Oppenheimer 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.
111. 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.
112. Wong K.K., Tsang Y.T., Deavers M.T. et al. 2010. BRAF mutation is rare in advanced-stage low-grade ovarian serous carcinomas. *Am. J. Pathol.* 177, 1611–1617.
113. Xu X., Quiros R.M., Gattuso P., et al. 2003. High prevalence of BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid cell lines. *Cancer Res.* 63(15), 4561–4567. PMID: 12907632.
114. 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.
115. Zhang J. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. 2014. Chicago, USA. Suppl. J. Clin. Oncology. 32(15S). P. 164 s. Abstract 2589.