

# Nowoczesne terapie przeciwnowotworowe

## Modern anticancer therapies

**STRESZCZENIE:** Nadrzędnym celem terapii przeciwnowotworowej jest zwiększenie skuteczności terapeutycznej i ograniczenie działań niepożądanych. Powyższe wymagania spełnia molekularna terapia celowana ukierunkowana na swoiste struktury komórek patologicznych. Dużą nadzieję wiąże się z inhibitorami kinazy tyrozynowej, wpływającymi na proces przekazywania sygnału. Istotne znaczenie posiada imatynib, erlotynib i gefitynib – skuteczny wobec raka płuc opornego na klasyczną chemioterapię. Perspektywnym punktem uchwytu może być również białko ras (tipifarnib), proteasomy (bortezomib), a także kinazy m-TOR (rapamycyna). Trwają również badania nad aktywnością białek szoku cieplnego, które decydują o rozwoju transformacji nowotworowej.

**SŁOWA KLUCZOWE:** molekularna terapia celowana, kinazy tyrozynowe, gefitynib, przewleka białaczka szpikowa, inhibitory proteasomów, białko ras, rapamycyna, chaperony

**SUMMARY:** The major target of anticancer therapy is improvement of therapeutic efficacy and reducing of side effects. These requirements are met by the molecular targeted therapy targeted to the specific structure of the pathological cells. A lot of expectations are associated with tyrosine kinase inhibitors which affect the process of signal transduction. Gefitinib – effective against lung cancer resistant to standard chemotherapy, imatinib and erlotinib are significant. Perspective point of the action can be also a protein ras (tipifarnib), proteasome (bortezomib), and kinase m-TOR (rapamycin). There are also ongoing research to identify of the activity of heat shock proteins, which determine the development of cancer transformation.

**KEY WORDS:** molecular targeted therapy, thysosine kinases, gefitinib, chronic myeloid leukemia, protesosome inhibitors, ras protein, rapamycin, heat shock protein

Zatwierdzono do publikacji: marzec 2011 r.

Chemioterapia i terapia hormonalna to klasyczne formy systemowego leczenia chorób nowotworowych, których niepodważalne znaczenie terapeutyczne, szczególnie w połączeniu z nowoczesną chirurgią i radioterapią, w istotny sposób przełożyło się na wyniki kliniczne. W żadnym jednak przypadku nie można mówić o spektakularnym przełomie. Gwałtowny rozwój biologii molekularnej przyczynił się do odkrycia protoonkogenów oraz czynników transkrypcyjnych warunkujących transformację nowotworową. Ogromne nadzieje budzi obecnie molekularna terapia celowana – strategia ukierunkowana na swoiste struktury komórek patologicznych związane z procesami proliferacyjnymi. Teoria „złotego pocisku”, który niszczy komórki rakowe, i nie wpływa na tkanki zdrowe nie sprawdziła się jednak całkowicie. Okazało się, że nowe leki onkologiczne wykazują wie-

lokierunkową i zmienną aktywność biologiczną różniącą się od skutków tradycyjnej chemioterapii.

### Znaczenie kinaz tyrozynowych w mechanizmach przesyłania sygnału

Proces przekazywania sygnału w komórce uwarunkowany jest obecnością specyficznych białek receptorowych, które odbierają sygnał od pozakomórkowych ligandów (hormonów peptydowych, czynników wzrostu, cytokin) niezdolnych do swobodnego przekraczania błony biologicznej. Proces przyczynia się do indukcji przekaźników II rzędu (*second messengers*), które oscylują między ufosforylowaną formą aktywną, a postacią defosforylowaną. Precyzyjna regulacja kaskad sygnałowych warunkuje podziały komórki, i tym samym prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Mutacje genów kodujących kinazy tyrozynowe



mgr farm.

**Michał Pstrągowski**

GIF, Departament Nadzoru, Warszawa  
Apteka Ordynacka, Warszawa

mogą więc prowadzić do niekontrolowanej proliferacji i tworzenia przerzutów. Poszukiwanie skutecznego inhibitora każdego z etapów sygnalizacji transbłonowej uwarunkowanej aktywności enzymów jest więc obecnie przedmiotem wielu badań prowadzonych pod kątem terapii przeciwnowotworowej [1].

### Drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych

Badania nad drobnocząsteczkowymi inhibitorami kinaz tyrozynowych, określanych również jako tyrfostiny (*tyrosine phosphorylation inhibitor*) rozpoczęły się w latach osiemdziesiątych XX wieku, gdy zaobserwowano, że związki naturalne (kwercetyna, genisteina, erbastyna) nie-selektywnie hamują aktywność enzymów. Posłużyły one jako pierwowzór syntetycznych analogów opisanych po raz pierwszy w 1992 roku.

Przełomem było wprowadzenie na rynek gefitynibu wykazującego wysokie powinowactwo do zmutowanej kinazy EGF, odpowiadającej za patomechanizm złośliwych nowotworów pochodzenia nabłonkowego. Jak się później okazało,

enzym ulega wysokiej ekspresji także w przypadku grup niskiego ryzyka m.in. u osób niepalących. Terapia gefitynibem przyniosła szybką regresję niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) opornego dotychczas na działanie klasycznych cytostatyków. Wykazano jednak, że po zaprzestaniu leczenia guz odrastał, co sugeruje, że aktywność EGFR jest nieistotna dla przeżycia komórek nowotworowych lub sama terapia wymaga długoterminowego podawania preparatu. Znacznie korzystniejszą odpowiedź kliniczną zaobserwowano w przypadku leczenia erlotynibem. Związek wykazuje ponad stukrotnie większe powinowactwo w stosunku do receptorów HER1 niż HER2 oraz dodatkowo hamuje nie-receptorowe kinazy, które mogą decydować o tworzeniu przerzutów [2].

Gefitynib oraz erlotynib zaliczane są do inhibitorów odwracalnych. Osiągnięcie pożądanej aktywności farmakologicznej wymaga podawania wysokich dawek, co znacznie zwiększa ryzyko wystąpienia objawów toksyczności. Otrzymano więc serię pochodnych (kanertynib, neratynib), które nieodwracalnie wiążą się z enzymem docelowym, co w istotny sposób wpływa na przedłużenie biologicznego okresu półtrwania substancji czynnej. Kanertynib badany jest obecnie pod kątem skuteczności wobec ostrej białaczki szpikowej. Wykazano, że związek indukuje apoptozę komórek nowotworowych niezależną od ekspresji EGFR [3].

### Znaczenie genu ABL w rozwoju przewlekłej białaczki szpikowej

Wykazujące aktywność kinazy tyrozynowej białko Abl zaangażowane jest w procesy różnicowania, proliferacji i reakcji komórki na czynniki stresowe. Potwierdzono, że nadekspresja enzymu nie warunkuje bezpośrednio transformacji nowotworowej. Dopiero delecja fragmentu genu kodującego białko Abl może determinować obecność tzw. chromosomu Philadelphia związanego z patogenezą przewlekłej białaczki limfatycznej (BCL). W wyniku translokacji (9;22) dochodzi do połączenia fragmentów sekwencji genów BCR (*breakpoint cluster region*) i ABL.

Istotne znaczenie w terapii przewlekłej białaczki szpikowej i nowotworów przewodu pokarmowego (*gastrointestinal stro-*

*mach tumor*, GITS) posiada imatynib – pierwszy, zarejestrowany inhibitor fuzyjnego białka Bcr – Abl. Zastosowanie terapeutyczne związku podlega jednak licznym ograniczeniom związanym z opornością komórek nowotworowych. Wykazano, że substytucja treoniny przez izoleucynę w domenie wiążącej ATP (mutacja T315I) w znacznym stopniu zmniejszając aktywność farmakologiczną imatynibu [5]. Obecnie trwają intensywne poszukiwania związku, który skutecznie przełamuje powstałą oporność. Perspektywnym inhibitorem okazał się dasatynib zarekomendowany w 2007 roku do leczenia wszystkich stadiów przewlekłej białaczki szpikowej, a także ON-012380 badany pod kątem terapii skojarzonej z imatynibem [4,5].

### Inhibitory proteasomów

Proteasomy to odkryte w 1980 roku przez Wilka i Orłowskiego kompleksy enzymatyczne występujące we wszystkich dotychczas zbadanych komórkach eukariotycznych. Odpowiadają za degradację 90 proc. białek komórkowych, zarówno regulacyjnych o krótkim okresie półtrwania, jak i stabilnych peptydów strukturalnych. Podkreśla się także ich znaczenie w procesie usuwania protein cytoplazmatycznych, które mogą uczestniczyć w transformacji nowotworowej. Okazało się, że inhibitory proteasomów wykazują działanie ograniczające wzrost guza. Całkowita blokada kompleksu pociąga za sobą negatywną regulację NF-κB odpowiedzialnego za przeżycie komórki nowotworowej.

Struktura większości związków tej klasy oparta jest o cząsteczki krótkołańcuchowych peptydów różniących się grupami funkcyjnymi przy końcu łańcucha węglowego. Duże znaczenie kliniczne posiada bortezomib – wskazany w terapii szpiczaka mnogiego w przypadku pacjentów, u których po zastosowaniu co najmniej dwóch schematów leczenia nastąpił nawrót choroby. Skrócenie łańcucha peptydowego o jeden aminokwas oraz wprowadzenie reszty kwasu boronowego zmniejszyło siłę działania, a także przyczyniło się do wzrostu przepuszczalności leku przez błony biologiczne. Konsekwencją jest większa selektywność, a także dłuższe oddziaływanie związku z kompleksem enzymatycznym, co zastosowaniu niskich dawek leku [6].

Leczenie z zastosowaniem bortezomibu wiąże się z ryzykiem wystąpienia trombocytopenii. Wskazane jest ściśle monitorowanie liczby płytek krwi przed każdym podaniem leku. Środki ostrożności należy zachować w przypadku chorych ze stwierdzoną niewydolnością mięśnia sercowego. Potwierdzono przypadki wystąpienia hipotonii ortostatycznej związanej neuropatią układu autonomicznego oraz znaczne wydłużenie się odstępu QT w EKG. Leczenie bortezomibem nie jest także wolne od interakcji z lekami oddziałującymi na cytochromy CYP3A4 i CYP2C19 (m.in. z galusanem epigallokatechiny – składnikiem zielonej herbaty).

Obecnie inhibitory proteasomu stanowią przedmiot intensywnych badań prowadzonych pod kątem terapii nowotworów układu krwiotwórczego. Duże nadzieje wiąże się z carfilozomibem – pochodną eponemycyny wyizolowaną ze szczepu *Actinomycetes* (FDA przewiduje, że procedura rejestracyjna leku zakończy się najprawdopodobniej w 2011 roku), a także z salinosporamidem - β-laktonu uzyskanego z morskiego promieniowca *Salinispora tropica*, który został włączony do badań klinicznych już 3 lata po odkryciu [7].

### Znaczenie białka Ras w procesie onkogenezy

Rodzina białek Ras, poprzez aktywne uczestnictwo w regulacji łańcucha przekazników wewnątrzkomórkowych odgrywa kluczową rolę w procesach wzrostu i różnicowania komórek. Mutacje genów RAS prowadzą do nadprodukcji protein, czego konsekwencją jest przekazanie sygnałów niepodlegających regulacji. Wykazano, że opisane zmiany charakterystyczne są dla 30 proc. nowotworów występujących u dorosłej populacji (w przypadku raka trzustki prawdopodobieństwo pojawienia się zmian może sięgać nawet 90 proc.). Stwierdzenie, że dla funkcjonowania białek Ras niezbędne jest ich zakotwiczenie w błonie komórkowej uwarunkowane przyłączeniem hydrofobowego ugrupowania farnezylowego, doprowadziło do otrzymania związków bezpośrednio hamujących transferazę farnezylową. Skutecznym inhibitorem okazały się tipyfarnib i lonafarnib badane obecnie pod kątem skuteczności wobec ostrej białaczki szpikowej i raka piersi.

Potwierdzono, że zmutowane białko Ras nie warunkuje całkowicie antyproliferacyjnej aktywności inhibitorów farnezylotransferazy. W procesie transformacji nowotworowej uczestniczą również CENP-E i CENP-F – farnezylowane białka związane z centromerem chromosomu, odpowiadające za aktywność wrzeciona kariokinetycznego. Zastosowanie typyfarinibu nie tylko hamuje więc przyłączenie się białka do błony komórkowej, ale również przyczynia się do bezpośredniego zahamowania procesu mitozy [8].

### Inhibitory kinazy m-TOR

Kinaza m-TOR, określana również jako ssaczy cel rapamycyny (*mammalian target of rapamycin*) zaliczana jest do klasy białkowych enzymów uczestniczących w regulacji komórkowej kaskady AKT. Wykazano, że nadmierna stymulacja szlaku przyczynia się do wzrostu aktywności białek warunkujących aktywację czynników PDGF, VEGF modyfikację elastyny i kolagenu oraz nadmierną ekspresję receptorów GLUT-1 na powierzchni komórek nowotworowych. Potwierdzono, że zmiany te warunkują lekooporność oraz wysoką inwazyjność nowotworu nerek (RCC, *renal cell carcinoma*).

Skutecznym inhibitorem kinazy m-TOR okazała się rapamycyna – antybiotyk makrolidowy wyizolowany w 1975 roku ze szczepu *Streptomyces hygroscopicus*. Strukturalne podobieństwo do takrolimusu stosowanego w terapii atopowego zapalenia skóry, nie warunkuje jednak powinowactwa związku do kalcyneuryny – białkowej fosfatazy uczestniczącej w regulacji komórkowej odpowiedzi immunologicznej.

Rapamycyna była stosowana początkowo jako środek przeciwgrzybiczy i immunosupresyjny zapobiegający odrzucaniu przeszczepu u pacjentów po transplantacjach. Odkrycie przeciwnowotworowych właściwości temsirolimusu – pochodnej rapamycyny przyczyniło się do badań nad laktonowymi analogami związku. Potwierdzono, że inhibitory m-TOR stanowią skuteczną strategię terapeutyczną u pacjentów opornych na blokery kinaz tyrozynowych. W 2008 roku everolimus został zarejestrowany przez FDA w terapii uogólnionego raka nerki. Znacznie szerszy indeks terapeu-

tyczny posiada ridaforolimus (ridaforolimus) znajdujący się aktualnie w III fazie badań klinicznych.

Potwierdzono, że inhibitory kinazy m-TOR pomimo udowodnionej skuteczności terapeutycznej wchodzi w liczne interakcje z innymi preparatami. Równoczesne podanie repamacyny z innym inhibitorem kalcyneuryny (np. takrolimusem) znacznie zwiększa ryzyko zespołu hemolitycznego, zakrzepicy i mikroangiopatii. Zaleca się również ściśle monitorowanie równoległego stosowania tego leku ze statynami i ACE-inhibitorami. Warto zwrócić uwagę, że nowe inhibitory kinazy m-TOR (np. ewerolimus) rzadziej wchodzi w opisane interakcje [9].

### Inhibitory białek opiekuńczych

Każde komórkowe białko wymaga odpowiedniego sfałdowania łańcucha polipeptydowego i przyjęcia charakterystycznej struktury przestrzennej. Nie wszystkie jednak proteiny w warunkach fizjologicznych przybierają właściwą konformację. Szacuje się, że 10 proc. białek posiada strukturę inną niż pożądana, co rzutuje na aktywność biologiczną. Prawidłowe przestrzenne ułożenie łańcucha peptydowego zapewniają białka opiekuńcze (chaperony).

Klasa chaperonów zawiera wysoce konserwatywne białka szoku cieplnego (*heat shock protein*, HSP), odpowiedzialne za translokację i degradację struktur komórkowych. Synteza HSP związana jest z odpowiedzią na niekorzystne warunki środowiskowe (wysoką temperaturę, analogi aminokwasów, etanol, metale ciężkie, nadtlenek wodoru, wolne rodniki). W momencie, gdy naprawa peptydów nie jest możliwa, HSP przyczyniają się do ich eliminacji. Stwierdzono także, że HSP27 i HSP90 na kilku etapach hamuje szlak zaprogramowanej śmierci komórki. Może to być jednak zgubne w momencie, gdy w organizmie rozwija się proces nowotworowy. Zahamowanie apoptozy bezpośrednio chroni komórkę rakową.

Inhibitory HSP90 posiadają aktualnie istotne znaczenia w badaniach nad rozwojem terapii przeciwnowotworowej. Pochodne geldanamycyny – antybiotyku ansamycynowego przyłączają się do swoich regionów chaperona, co powoduje

degradację onkogennych (m.in. telomerazy) produktów białkowych przy udziale ubikwiny. Wykazano, że analogi geldanamycyny stymulują apoptozę linii komórkowych szpiczaka mnogiego opornego na deksametazon, talidomid i antracykliny. Zastosowanie związków jest jednak problematyczne, głównie ze względu na hepatotoksyczność. Znacznie bezpieczniejsza jest rozpuszczalna pochodna nowej generacji – IPI-504 – skuteczna wobec niedrobnokomórkowego raka płuc opornego na gefitynib. Pełne wyniki badań klinicznych opublikowane będą w 2011 roku.

### Perspektywy rozwoju molekularnej terapii celowanej

W poszukiwaniu nowych związków o działaniu przeciwnowotworowym medycyna wykorzystuje wszystkie dostępne możliwości. Prognozuje się, że leczenie onkologiczne stanie się w najbliższym czasie głównym przedmiotem badań ośrodków naukowych na całym świecie. Gruntowna analiza mechanizmu działania kilku klas nowych lub potencjalnych leków onkologicznych pozwoliła na ocenę skuteczności terapeutycznej, toksyczności i interakcji związków z innymi lekami. Jak się jednak okazało, w wielu przypadkach ich aktywność biologiczna jest niewystarczająca do degradacji komórki rakowej, co nie znaczy jednak, że należałoby zaprzestać stosowania leków tej klasy.

mgr farm. Michał Pstrągowski  
e-mail: pstrag21@op.pl

#### Piśmiennictwo:

- [1] A. Klein, J. Kisielewska, Tyrfostyny – drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych, *Postępy Biologii Komórki*, str. 477-494, 2008.
- [2] G. Zografos, P. Domeyer, Inhibitory kinazy tyrozynowej i przekazniczo sygnału: mechanizmy molekularne w aspekcie najnowszych danych, *Współczesna Onkologia*, str. 43-47, 2006.
- [3] M. Lazzaral, K. Lane, R. Chan, Impaired SHP2-Mediated Extracellular Signal-Regulated Kinase Activation Contributes to Gefitinib Sensitivity of Lung Cancer Cells with Epidermal Growth Factor Receptor-Activating Mutations, *Cancer Research*, 2010.
- [4] S. Sahdab, Nilotinib: a novel Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitor for the treatment of leukemias, *Expert Opinion on Investigational Drugs*, str. 1127-1136, 2008.
- [5] K. Mac, M. Wójcik, Kliniczna i molekularna charakterystyka nowotworów pościeliskowych przewodu pokarmowego, *Postęp Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, str. 697-706, 2009.
- [6] M. Lei, X. Zhao, Z. Wang, Pharmacophore Modeling, Docking Studies, and Synthesis of Novel Dipeptide Proteasome Inhibitors Containing Boron Atoms, *J. Chem. Inf. Model.*, str. 2092-2100, 2009.
- [7] H. Zhou, M. Aujay, M. Bennett, Design and Synthesis of an Orally Bioavailable and Selective Peptide Epoxyketone Proteasome Inhibitor, *J. Med. Chem.* str. 3028-3038, 2009.
- [8] R. Kurzrock, H. Kantarjian, M. Blaskovich, Phase I Study of Alternate-Week Administration of Tipifarnib in Patients with Myelodysplastic Syndrome *Clinical Cancer Research*, 2008.
- [9] M. Miyazawa, M. Yasuda, M. Fujita, Therapeutic strategy targeting the mTOR-HIF-1 $\alpha$ -VEGF pathway in ovarian clear cell adenocarcinoma, *Pathol Int.*, str. 19-27, 2009.