

## Aktualne kierunki w poszukiwaniach nowych leków przeciwnowotworowych

### *Current concepts in new antineoplastic drugs development*

Łukasz Dobrek<sup>1</sup>, Piotr Szcześniak<sup>2</sup>, Piotr Thor<sup>1</sup>, Daria Orszulak-Michalak<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Patofizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Katedra Patofizjologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

<sup>2</sup> Zakład Biofarmacji, Katedra Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

### Streszczenie

Choroby nowotworowe są w Polsce i na świecie wraz z chorobami układu krążenia zasadniczą przyczyną przedwczesnych zgonów. Mimo znacznego postępu, jaki dokonał się podczas ostatnich kilku dekad w zakresie podstaw molekularnych procesu karcynogenezy, procesów diagnostycznych i profilaktycznych, obecnie stosowane leczenie schorzeń nowotworowych jest nadal mało specyficzne i efektywne. Stoimy obecnie przed licznymi wyzwaniami związanymi z poszukiwaniem postępu w chemioterapii nowotworowej. Artykuł omawia kolejne możliwości terapeutyczne chemioterapii nowotworów, do których zaliczamy nowe związki chemiczne pochodzenia naturalnego o działaniu przeciwnowotworowym oraz selektywne leki przeciwnowotworowe, działające w oparciu o molekularne mechanizmy patofizjologiczne obecne w komórkach stransformowanych nowotworowo, do których zaliczamy: inhibitory cytokin wzrostowych, wewnątrzkomórkowych kinaz białkowych, jądrowych czynników transkrypcyjnych, proteasomów oraz inhibitory neoangiogenezy i matrixmetaloproteinaz. *Geriatrics 2008; 2: 37-46.*

*Słowa kluczowe: leki przeciwnowotworowe, chemioterapia nowotworów, inhibitory matrixmetaloproteinaz*

### Summary

Neoplastic diseases together with cardiovascular ones are fundamental causes of premature deaths in Poland and in the world. In spite of considerable progress which took place during a few last decades in the scope of molecular bases of the carcinogenesis, diagnostic and preventive methods, the practiced antineoplastic treatment is still not very unique and effective. At present, we are standing before numerous challenges connected with seeking progress in the cancerous chemotherapy. The article is discussing next therapeutic possibilities of the antineoplastic agents. Among them, new plants-derived chemicals of antineoplastic properties are mentioned. Selective anti-tumor agents, which act basing on pathophysiological, molecular mechanisms present only in cancer-transformed cells are regarded to be the future of cancer chemotherapy. Thus, the authors pay attention to growth cytokines, intracellular kinases, nuclear transcription factors and proteasomes inhibitors and anti-angiogenesis factors together with matrixmetaloproteinases inhibitors. *Geriatrics 2008; 2: 37-46.*

*Keywords: antineoplastic drugs, cancerous chemotherapy, matrixmetaloproteinases inhibitors*

Choroby nowotworowe są w Polsce i na świecie wraz z chorobami układu krążenia zasadniczą przyczyną przedwczesnych zgonów. Według danych epidemiologicznych Polskiej Unii Onkologii i Centrum Onkologii-Instytutu w Warszawie, opartych na

raportach WHO, do roku 2020 w wymiarze globalnym dojdzie do podwojenia liczny nowych zachorowań na choroby nowotworowe (z 10 do 20 milionów) oraz niemal 70% wzrostu zgonów z powodu nowotworów i ich powikłań (z 6 do 10 milionów). W Polsce do roku

2010 prognozuje się odpowiednio wzrost zachorowań z 130 000 do 160 000 oraz wzrost śmiertelności z 85 000 do 100 000 rocznie. W roku 2005 każdego dnia zachorowało 300 nowych osób a zmarło 220 pacjentów nowotworowych. Dane te najdobitniej obrazują skalę problemu oraz wskazują na konieczność opracowania skutecznego, nowoczesnego leczenia [1].

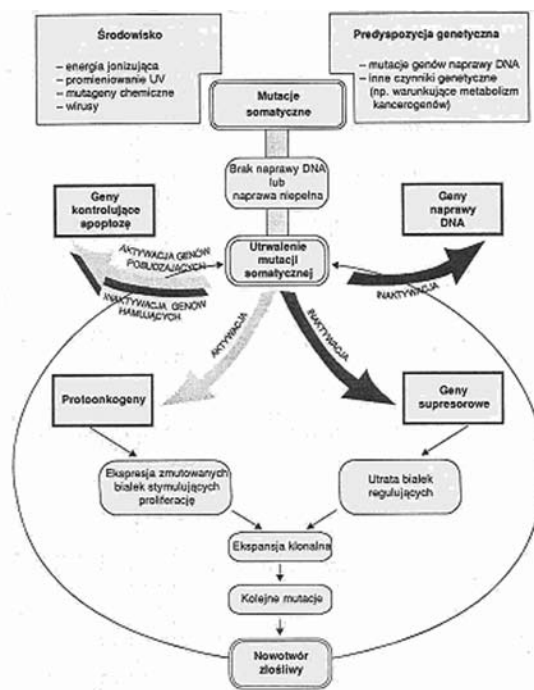
Patofizjologia zjawiska karcynogenezy jest bardzo złożona i wciąż nie w pełni poznana. Nowotwór jest stanem patologicznym, w którym dochodzi do zaburzenia homeostazy w zakresie proliferacji i różnicowania komórek. Proces transformacji nowotworowej, powodowany przez liczne fizyczne, chemiczne oraz biologiczne (niektóre wirusy onkogenne) czynniki karcynogenne, wiąże się ze zmianami w aparacie genetycznym komórki. Główną rolę w zaburzeniach genetycznych przypisuje się protoonkogenom oraz genom supresorowym.

Protoonkogeny, w wyniku mutacji aktywującej typu przyrostu funkcji, stają się onkogenami, kodującymi szereg czynników pobudzających proliferację komórki (czynniki wzrostowe i receptory dla czynników wzrostowych, układ białek wewnątrzkomórkowych odpowiedzialnych za przekazywanie sygnału proliferacyjnego do jądra komórkowego, czynniki transkrypcyjne i inne). Przykładami protoonkogenów, których rola w karcynogenezie u ludzi została udowodniona, są: *HER2* kodujący powierzchniowy receptor dla czynnika wzrostowego o tym samym symbolu (zaburzenia odkryte w raku żołądka i płuc), *fos*, *myc* kodujące czynniki transkrypcyjne (nowotwory płuc, piersi, jelita grubego, chłoniaki), gen *BCR-ABL* szczególnie istotny w patogenezie przewlekłej białaczki szpikowej (CML) czy onkogeny typu *Ras* i *Raf* kodujące różne kinazy tyrozynowe oraz serynowo-treoninowe. Ważnymi onkogenami są również geny kodujące białka będące regulatorami zegara cyklu komórkowego, zwane kinazami cyklino-zależnymi oraz *BCL-2* oraz *MDM-2*, kodujące białka antyapoptyczne o działaniu antagonistycznym do białka p53.

Istotna jest również mutacja w genach supresorowych, które w warunkach fizjologicznych działają jak „hamulec komórkowy”, zatrzymując komórkę w fazie spoczynkowej G0 i uruchamiając procesy naprawcze, a w sytuacjach krytycznych zaburzeń mutacyjnych kierują komórkę na szlak apoptozy („śmierci programowej”). W procesie karcynogenezy geny te muszą ulec mutacji dezaktywującej typu utraty funkcji. Genami supresorowymi o ważnej funkcji w onkogenezie są:

*BRCA1* i *2* jako geny naprawcze DNA (udowodniono ich zaburzenia w raku piersi), *hMSH2* o podobnej funkcji, których dysfunkcje odkryto w licznych nowotworach przewodu pokarmowego oraz geny *TP53* i *RBI* jako główne geny kodujące czynniki proapoptyczne [2,3].

Podsumowując, współlistnienie somatycznych, nieletalnych mutacji aktywujących protoonkogeny i dezaktywujących geny supresorowe wiedzie do transformacji nowotworowej czego kliniczną ekspresją jest niekontrolowana proliferacja komórkowa, zaburzenie wzrostu i różnicowania komórkowego oraz liczne zaburzenia metaboliczne komórek nowotworowych. Wyrazem tego jest ich zdolność do ektopowego wydzielania licznych związków chemicznych o charakterze białek, antygenów, enzymów i hormonów (co ma znaczenie diagnostyczne). Ponadto stransformowane nowotworowo komórki cechują się dodatkowo innymi zaburzeniami - odmienną antygenowością błony komórkowej (co jest w nieznanym mechanizmie tolerowane przez układ immunologiczny chorego), zdolnością do wzrostu bez zahamowania kontaktowego, możliwością tworzenia miejscowej inwazji tkankowej oraz odległych przerzutów.



Rycina 1. Rola zaburzeń genetycznych w procesie karcynogenezy

Uproszczony schemat procesu karcynogenezy i roli zaburzeń genetycznych w jej patogenezie obrazuje Rycina 1. zamieszczona obok [2]:

Wraz z postępującą wiedzą w zakresie patofizjologii nowotworów otwierają się więc nowe możliwości dla nowych chemioterapeutyków.

Mimo znacznego postępu, jaki dokonał się podczas ostatnich kilku dekad w zakresie podstaw molekularnych procesu karcynogenezy, procesów diagnostycznych i profilaktycznych, obecnie stosowane leczenie schorzeń nowotworowych jest nadal mało specyficzne i efektywne. Ważne miejsce w leczeniu nowotworów zajmują leki cytostaticzne i antyproliferacyjne, czyli tak zwane chemioterapeutyki przeciwnowotworowe. Holistyczna koncepcja terapii chorób nowotworowych uwzględnia skojarzone zastosowanie metod chirurgicznych, radioterapii oraz chemioterapii w terapii większości stanów nowotworowych. Chemioterapia przeciwnowotworowa, jako leczenie adiuwantowe bądź neoadiuwantowe, jest więc ważną składową procesu leczenia skojarzonego. Ponadto, istnieje grupa nowotworów, dla których chemioterapia jest jedyną i główną metodą terapeutyczną.

Niestety, mimo uzasadnionej pozycji leków antykarcynogennych w schematach terapeutycznych, obecne możliwości ich zastosowania powoli się wyczerpują. Jest to związane z narastającą opornością komórek nowotworowych na konwencjonalne, szeroko stosowane leki cytotoksyczne, które tracąc na swej skuteczności muszą być wycofywane z terapii. Ponadto wciąż dużą wadą są liczne działania niepożądane wynikające z małej selektywności „klasycznych” leków cytostaticznych. Dużym problemem jest również konieczność stosowania wielu cytostatyków w długotrwałych, sekwencyjnych schematach wielolekowych oraz konieczność ich podawania drogą parenteralną, w warunkach szpitalnych, co dodatkowo zmniejsza komfort pacjenta podczas leczenia.

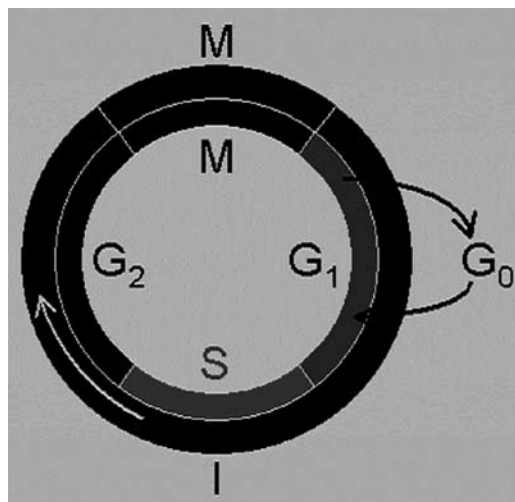
Biorąc pod uwagę powyższe zastrzeżenia, wydaje się, iż stoimy obecnie przed licznymi wyzwaniem związanymi z poszukiwaniem postępu w chemioterapii nowotworowej. Nowe zainteresowania obecnie koncentrują się wokół wielu możliwości, do których zaliczamy między innymi [4]:

- Poszukiwanie ulepszonych form farmaceutycznych (postaci leków, zwłaszcza doustnych o łatwym schemacie dawkowania) i nowych analogów obecnie stosowanych leków przeciwnowotworowych

- Poszukiwanie działania przeciwnowotworowego wśród leków obecnie stosowanych z innych wskazań niż stany nowotworowe
- Poszukiwanie nowych związków chemicznych pochodzenia naturalnego lub syntetycznego o działaniu przeciwnowotworowym
- Poszukiwanie związków przeciwnowotworowych o precyzyjnym działaniu przeciwnowotworowym, działających w oparciu o selektywne mechanizmy patofizjologiczne obserwowane w transformowanych karcynogennie komórkach
- Wykorzystanie układu odpornościowego do generowania odpowiedzi immunologicznej przeciwnowotworowej

Nadzieje z nowymi lekami cytostaticznymi i antyproliferacyjnymi o znanych mechanizmach działania, kwalifikujących ich do znanych już grup chemioterapeutyków przeciwnowotworowych, wiążą się ze spodziewaną skutecznością w chemioopornych nowotworach, mniejszą toksycznością oraz możliwością ich kojarzenia ze standardowymi lekami. Należy jednak podkreślić, że leki te również działają w danej fazie cyklu komórkowego. W warunkach spoczynkowych komórka znajduje się w fazie G<sub>0</sub>. Pod wpływem licznych bodźców proliferacyjnych egzogenicznych i endogennych wchodzi w cykl komórkowy składający się w kilku faz (G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> – fazy przygotowawcze, S – faza replikacyjna DNA i faza M – właściwa kariokineza i cytokineza) [2,3].

Cykl komórkowy opisany powyżej obrazuje Rycina 2. zamieszczona poniżej.



Rycina 2. Schemat faz cyklu komórkowego

Klasyczne leki cytotoksyczne i antyproliferacyjne są niespecyficzne odnośnie cyklu a swoiste odnośnie fazy, co oznacza, iż działają na wszystkie komórki będące w cyklu i w danej jego fazie. Hydroksymocznik, aktynomycyna działają głównie w fazie G1. Faza replikacyjna S jest hamowana przede wszystkim przez antymetabolity - analogi puryn i pirymidyn. Faza G2 jest punktem uchwytu dla bleomycyny i innych antybiotyków glikopeptydowych o działaniu cytotoksycznym. Mitoza ulega zaburzeniom pod wpływem toksyn wrzeciona mitotycznego, dla których zaliczamy alkaloidy barwinka lub pochodne kampotecyny [3]. Brak specyficzności odnośnie cyklu warunkuje znaczną toksyczność klasycznych chemioterapeutyków przeciwnowotworowych, ponieważ wpływają one na wszystkie komórki często wchodzące w cykl komórkowy (czyli na komórki o fizjologicznie uwarunkowanej dużej aktywności mitotycznej, zwłaszcza na nabłonki oraz hematopoetyczne komórki szpiku kostnego). Wspomniane poniżej leki, jako analogi leków już istniejących, nie są pozbawione zatem działań niepożądanych właściwych dla chemioterapii nowotworów, chociaż badania kliniczne wskazują na ich mniejszą toksyczność przy niewątpliwiej zalecie, jaką jest wrażliwość wielu nowotworów na nowe pochodne. Związki te znajdują już zastosowanie w chemioterapii bądź są obecnie w zaawansowanej fazie badań klinicznych i należy się spodziewać ich szerokiego zastosowania w bliskiej przyszłości.

Do nowych leków alkilujących, wykazujących działanie cytotoksyczne w znanym mechanizmie działania, można zaliczyć TEMOZOLAMID, szczególnie skuteczny w nowotworach ośrodkowego układu nerwowego, jak wielopostaciowe glejaki mózgu. AMBUSTYNA okazała się aktywna w ziarnicy złośliwej. Jeszcze szersze spektrum działania wykazuje BENDAMUSTYNA, w badaniach klinicznych skuteczna w chemioterapii chłoniaków, szpiczaka mnogiego, raka sutka i drobnokomórkowego raka płuca. Nową pochodną cis-platyny jest związek określany w badaniach jako BBR3464, o około 4-8 krotnym silniejszym działaniu od cis-platyny, a w odróżnieniu od niej z liniową kinetyką i długim okresem półtrwania oraz słabym działaniem nefrotoksycznym. Podobne właściwości wykazuje NEDAPLATYNA [6].

Nowym interesującym analogiem antymetabolitów jest PEMETREXED (LY 231514) mający charakter antagonisty folianu, który hamuje aktywność trzech enzymów zaangażowanych w metabolizm kwasu

foliowego oraz syntezę pirymidyn i puryn: syntazy tymidylanowej, reduktazy dihydrofolianu i transferazy glicynoamidorybotyloformylowej. Lek ten wykazuje aktywność w stosunku do drobnokomórkowego raka płuca, sutka, jelita grubego, trzustki, pęcherza moczowego oraz szyjki macicy. Syntazę tymidylanową hamuje także RALTITREXED, zalecany do leczenia raka jelita grubego oraz raka odbytnicy. KAPECYTABINA, stosowana już w leczeniu raka jelita grubego jest prolekiem, który po podaniu doustnym podlega przemianie do 5-FU a wykazuje mniej działań niepożądanych [6].

Do nowych analogów antracyklin można zaliczyć związek określany symbolem MEN-10755, który w badaniach przedklinicznych wykazywał aktywność cytotoksyczną w raku sutka, jajnika i płuca większą od doksorubicyny. Dużo wysiłków poświęca się również pracom nad liposomalnymi postaciami „klasycznych” antracyklin – doxorubicyny i daunorubicyny, wykazujących w takiej formulacji farmaceutycznej mniejszą kardiotoxyczność [6].

Nowe alkaloidy hamujące mikrotubule wrzeciona kariokinetycznego obejmują WINFLUNINĘ – półsyntetyczną pochodną winorelbiny oraz DOLASTATYNĘ. Szczególną zaletą WINFLUNINY, podobnie jak winorelbiny, jest hamowanie polimeryzacji mikrotubuli wrzeciona kariokinetycznego przy braku wpływu na mikrotubule aksonalne, a zatem rzadsze powikłania neurologiczne. Ciekawym związkiem, będącym również trucizną wrzeciona kariokinetycznego jest EPOTHILONE B oraz podobny do niego DISCODERMOLIDE, które hamują również kariokinetykę ale w mechanizmie zahamowania depolimeryzacji mikrotubul wrzeciona. Prowadzone są również badania nad nowymi postaciami farmaceutycznymi taksanów, jaką jest ABI-007, czyli nanocząsteczkami paklitakselu stabilizowanych albuminami i zawieszonymi w soli fizjologicznej, co pozwala na zastosowanie wysokiej dawki leku w czasie jednego podania [6].

Kolejnymi nowymi lekami antyproliferacyjnymi są analogi kampotecyn, blokujące topoizomerazę I. Przykładem tej grupy leków są KARENITECYNA oraz EXATACAN. W badaniach klinicznych leki te były skuteczne w nowotworach płuca, trzustki, nerki, jelita grubego i w ostrych białaczkach. Prowadzone są prace nad postaciami liposomalnymi pochodnych kampotecyny takimi jak SILATECAN oraz LURTOTECAN [6].

Prowadzone są również poszukiwania nad

nowymi związkami chemicznymi o działaniu przeciwnowotworowym otrzymywanymi drogą naturalną. Szczególne zainteresowania obecnie koncentrują się na BRYOSTATYNIE-1 oraz DIDEMNINIE B – jako związkach indukujących apoptozę. Z innych substancji pochodzenia naturalnego działanie indukujące apoptozę w badaniach przedklinicznych wykazują między innymi: kwercetyna, rutyna, berberyna, kapsaicyna, kurkumina, kofeina, disiarczek diallilu, witanolid, epigallokateichiny, likopen oraz lektyny. Innym związkiem chemicznym o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym jest ECTEINASCYDYNA-743 również o działaniu proapoptycznym. Ponadto związek ten, co ciekawe, hamuje ekspresję genu MDR-1, który koduje błonową pompę białkową odpowiedzialną za oporność wielolekową powodującą obniżenie skuteczności wielu leków przeciwnowotworowych [7].

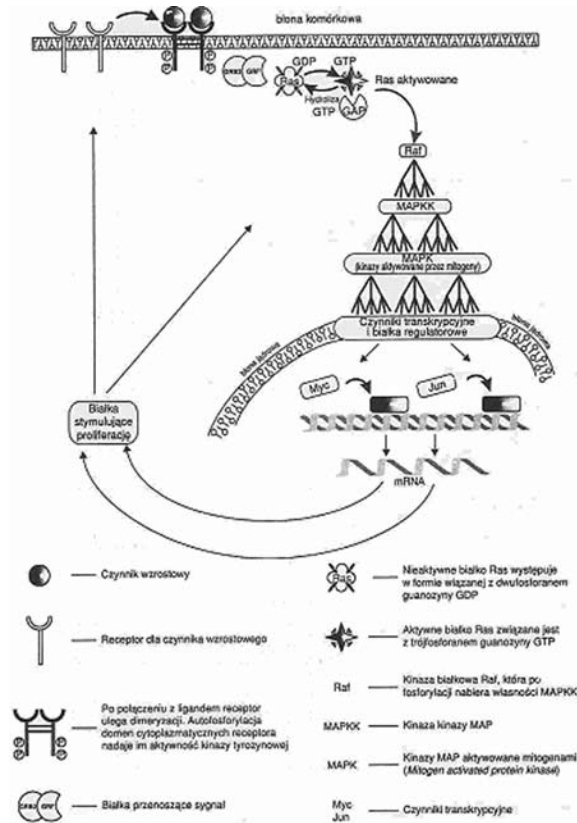
Jak wspomniano wyżej, ulepszenie już znanych i cenionych leków w postaci nowych form farmaceutycznych bądź poszukiwanie nowych pochodnych o lepszym współczynniku terapeutycznym i bardziej dogodnej drodze podania jest jednym ze sposobów pozyskiwania nowych leków przeciwnowotworowych. Jednak kierunkiem, który dominuje w rozwoju chemioterapii nowotworów, jest możliwość wpływu na specyficzne jedynie dla struktur nowotworowych patogenetyczne mechanizmy na poziomie komórkowym i molekularnym.

Z punktu widzenia klasyfikacji związków działających selektywnie na komórki nowotworowe i mechanizmy karcynogenezy, można wyróżnić [4]:

- ✓ Inhibitory cytokin o działaniu stymulującym proliferację komórek
- ✓ Blokery receptorów cytokin
- ✓ Inhibitory wewnątrzkomórkowych kinaz białkowych przekazujących sygnał od receptora błonowego do jądra komórkowego
- ✓ Inhibitory czynników transkrypcyjnych
- ✓ Inhibitory białek cyklu komórkowego
- ✓ Inhibitory cząstek adhezyjnych istotnych w procesach implantacji guza pierwotnego i przerzutach nowotworowych
- ✓ Inhibitory proteasomów komórek nowotworowych i procesu trawienia wewnątrzkomórkowego białek

Wspomniane możliwości oddziaływania na kaskadę sygnału wewnątrzkomórkowego obrazuje Rycina 3. zamieszczona poniżej będąca schematem obrazującym rolę i miejsce poszczególnych białek

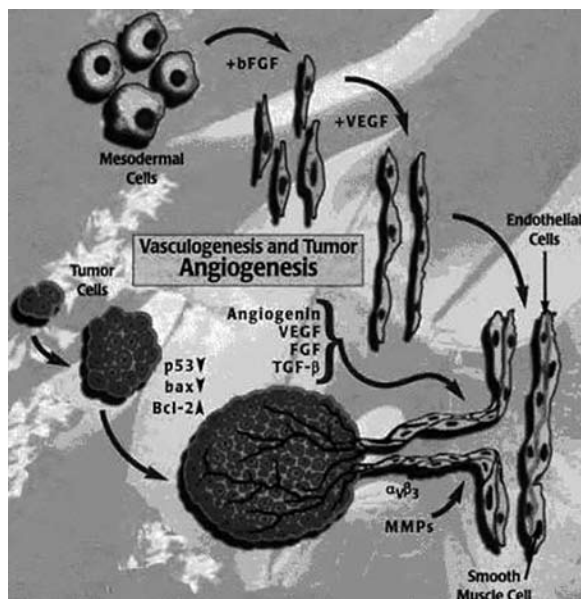
wewnątrzkomórkowych w kaskadzie przekazywania sygnału proliferacyjnego do jądra komórkowego [2].



Rycina 3. Wewnątrzkomórkowa kaskada sygnału proliferacyjnego

Ponadto kolejne możliwości terapeutyczne można również uzyskać wpływając nie tylko na same komórki nowotworowe ale i na otoczenie nowotworu – tak zwaną macierz zewnątrzkomórkową nowotworu (ECMN – Extracellular Matrix of Neoplasia), zgodnie ze stwierdzeniem „Not only tumor is the target”. Można wyróżnić tutaj strategie badawcze oparte na oddziaływaniu na [4,6]:

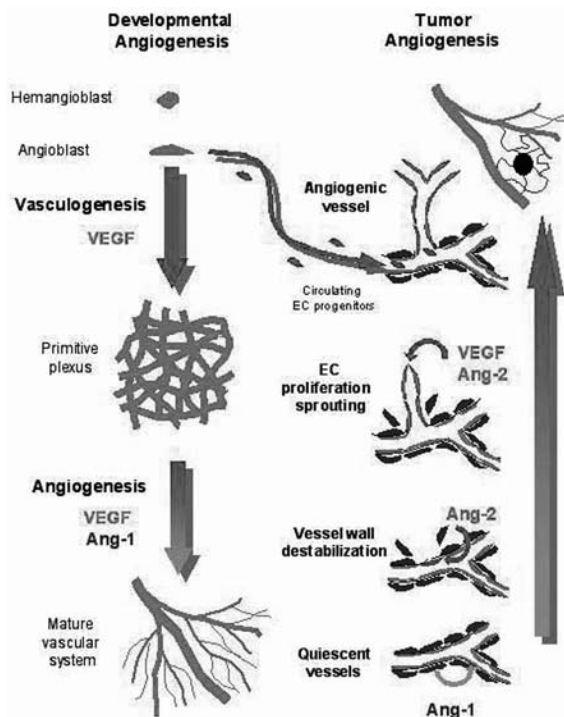
- Unaczynienie guza (proces angiogenezy)
  - Podścielisko guza – „szkielet” zewnętrzny guza i macierz odpowiedzialna za wymianę informacji pomiędzy otoczeniem a komórkami nowotworu
- Neoangiogeneza jest skomplikowanym, wielostopniowym procesem tworzenia nowych naczyń w obrębie zmiany nowotworowej. Patogenezę nowotworzenia naczyń, związaną z licznymi czynnikami ją regulującymi, obrazują Rycina 4. i Rycina 5. zamieszczone poniżej:



Rycina 4. Proces waskulogenezy oraz angiogenezy nowotworowej wraz z czynnikami regulującymi

**Legenda:** bFGF - zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów; VEGF - waskularno-śródbłonkowy czynnik wzrostu; TGF- $\beta$  - transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ ; p53, bax - białka apoptyczne; Bcl-2 - gen kodujący czynniki antyapoptyczne; MMPs - matrixmetaloproteinazy

Cytokiny to grupa stosunkowo niskocząsteczkowych związków, które biorą udział w reakcjach zapalnych i nadwrażliwości. Jednak wyniki badań sugerują, iż pełnią one również ważną rolę w transformacji nowotworowej komórek, procesie angiogenezy oraz ekspansji klonalnej guza pierwotnego czyli tworzenia przerzutów odległych. Cytokiny klasy CXC nazywane czynnikami wzrostu guza TNFs (Tumor Growth Factors), takie jak CXCL8 czyli interleukina 1 oraz CXCL1 czyli GRO $\alpha$  - Tumor Growth related oncogene  $\alpha$ ) są uznawane za główne czynniki promujące aktywację onkogenną. Ponadto TNFs wykazują również działanie autokrynne stanowiąc dla komórki czynnik wzrostu. Związki te działają na swoje receptory, które również stanowią kolejny cel w farmakoterapii schorzeń nowotworowych. Stworzono antagonistów receptora CXCR2, takich jak pochodna mocznika [N-(2-hydroksy-4-nitrofenylo)N'-



Rycina 5. Etapy waskulogenezy otoczenia nowotworu oraz neoangiogenezy

**Legenda:** VEGF - waskularno-śródbłonkowy czynnik wzrostu; Ang-1, 2 - angiopoetyna; EC progenitors - czynniki pobudzające komórki endotelialne (śródbłonkowe)

(2-bromofenylo)mocznik] oraz dwucykliczny peptyd AMD3100 blokujący receptor CXCR4, uzyskując obiecujące wyniki supresji wzrostu nowotworów o charakterze adenocarcinoma oraz zahamowania internalizacji wirusa HIV do limfocytów T [10]. Duże nadzieje wiąże się również z interferonami. Udowodniono przeciwwirusowe ale i przeciwnowotworowe działanie IFN $\alpha$ 2, który wywołuje swoje działanie poprzez bezpośredni wpływ na swój błonowy receptor oraz poprzez stymulację odpowiedzi immunologicznej organizmu chorego skierowanej przeciwko komórkom nowotworowym. W badaniach klinicznych wykazano korzystny wpływ IFN $\alpha$ 2 w leczeniu przewlekłej białaczki szpikowej, białaczki włochatokomórkowej, mięsaka Kaposiego, czerniaka, chłoniaków nie Hodgkinowskich oraz raka nerki. Obecnie badana jest nowa postać farmaceutyczna tego związku jako długo działającego leku będącego wynikiem połączenia IFN z glikolem polie-

tylenowym (PEG); tak zwanego PEGYLATED IFN $\alpha$ . W świetle wzrastającej roli cytokin i ich receptorów w karcynogenezie, wpływ na szlak sygnalizacyjny związany z tymi związkami wydaje się być bardzo obiecujący [11].

Wzrastająca znajomość szlaku wewnątrzkomórkowych kinaz białkowych przekazujących sygnał od receptora błonowego do jądra komórkowego stwarza kolejne możliwości terapeutyczne. Układ białek RAS-RAF-MEK-ERK o właściwościach katalitycznych kinaz odgrywa zasadniczą rolę w funkcjonowaniu komórki. Odkryto mutacje RAF oraz RAS, które w wyniku generowania nadmiernej aktywności proliferacyjnej prowadziły do indukcji nowotworów. Stąd, modulacja szlaku kinaz i blokowanie receptorów tego szlaku jest nowym, interesującym wyzwaniem w postępie w chemioterapii nowotworów. Oddziaływanie na rodzinę receptorów ErbB jest tematem licznych prac badawczych. Blokada receptora dla epidermalnego czynnika wzrostu ErbB2 (HER2) monoklonalnym przeciwciałem (TRASTUZUMAB) okazała się skuteczna w hamowaniu progresji raka piersi. Kolejnym związkiem o podobnym działaniu jest CETUXIMAB. Interesującym związkiem jest GEFITINIB – IRESSA oraz ERLOTINIB – TARCEVA, które blokują wewnątrzkomórkowe domeny receptora naskórkowego czynnika wzrostu EGRF. Gefitinib jest obecnie w trakcie rejestracji w USA jako lek o wysokiej skuteczności w leczeniu raka płuc podczas gdy erlotinib wykazuje skuteczność w leczeniu raka jajnika. Równie obiecująco przedstawiają się wyniki leczenia raka jelita grubego innym przeciwciałem monoklonalnym będącym antagonistą czynnika wzrostu śródbłonna – BEVACIZUMAB – AVASTIN [4,6,12].

Błonowe białko RAS stanowi kolejny potencjalny punkt uchwytu dla nowych chemioterapeutyków. Białko to zyskuje aktywność w wyniku posttranslacyjnego enzymatycznego procesu zwanego farnezyzacją, polegającego na dołączeniu reszty 15 węglowej. Opracowano inhibitory transferazy farnezylowej, takie jak LONAFARNIB oraz TIPIFARNIB, które obecnie przechodzą próby kliniczne. Również kolejne białko RAF, obecne w kaskadzie kinaz, stanowi obiekt badań. SORAFENIB jest syntetycznym inhibitorem kinazy RAF o udowodnionej aktywności onkostatycznej w raku nerki; obecnie przechodzi on zaawansowane próby kliniczne w USA [12-14].

Hamowanie działania czynników transkrypcyjnych jest również kolejnym miejscem działania nowych

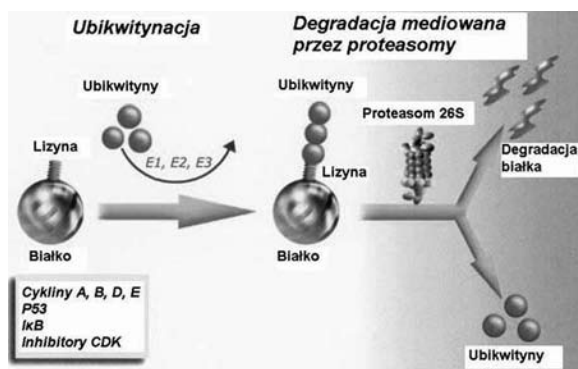
związków przeciwnowotworowych. W badaniach odkryto, że cztery główne jądrowe czynniki transkrypcyjne; Stat3, Stat5, NF- $\kappa$ B oraz HIF-1 są związane z rozwojem nowotworów. Toczą się badania mające na celu syntezę inhibitorów wymienionych czynników („peptydomimetyki” wykazujące antagonizm strukturalny do czynników transkrypcyjnych) [15]. Inną możliwością jest zahamowanie syntezy czynników transkrypcyjnych z użyciem metod antysensownych oligonukleotydów. Strategia antysens opiera się na wykorzystaniu zjawiska komplementarności kwasów nukleinowych i polega na zneutralizowaniu patologicznego zapisu genetycznego komplementarnym oligonukleotydem nie wykazującym ekspresji genetycznej – „antysens”. Należy podkreślić, iż wspomniana metoda jest również stosowana celem zahamowania ekspresji genów Bcl-2 i Bcl-x, kodujących antyapoptyczne białka, uniemożliwiających śmierć programową komórki i warunkujące „nieśmiertelność” komórek nowotworowych. Zaburzenie genetyczne tego typu jest szczególnie istotne w przewlekłej białaczce szpikowej, w której w wyniku translokacji chromosomalnej protoonkogenu ABL zlokalizowanego na chromosomie 9 na tzw. miejsce złamań chromosomu 22 powstaje hybrydowy gen BCR-ABL o aktywności onkogennej kodujący antyapoptyczne białko bcl-2 oraz białko p210 o aktywności kinazy tyrozynowej. OBLIMERSEN – GENASENSE jest lekiem, który obecnie również jest w fazie badań klinicznych. AFFINITAK (ISIS 3521) to kolejny przykład nowego związku opartego na koncepcji antysens, „wyłączającego” kinazę białkową C (PKC-alpha) [16,17].

Inhibitory białek cyklu komórkowego stanowią kolejną alternatywę chemioterapii nowotworów. Cykl komórkowy, wspomniany wyżej, jest regulowany przez liczne czynniki; wśród nich przez tak zwane cyklinozależne kinazy. Alkaloid FLAVOPIRIDOL, pochodne purynowe OLOMOUCYNA i ROSCOVITYNA oraz produkt grzybów z rodzaju *Aspergillus* BUTYROLACTON-I są przykładami związków, które wywierają efekt antymitotyczny poprzez zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 oraz w przejściu z fazy G2 do fazy M. Związki te przechodzą obecnie dalsze badania kliniczne pod kątem zastosowania ich w terapii licznych nowotworów: płuc, piersi, pęcherza oraz białaczkach. Co więcej, wywierają one dodatkowy efekt proapoptyczny (choć w słabo poznanym mechanizmie) [18].

Innym kierunkiem w poszukiwaniach nowych

związków przeciwnowotworowych są inhibitory proteasomów oraz związki nasilające ubikwitynazję. Proteasomy to zespoły wewnątrzkomórkowych enzymów (kompleks proteaz) odpowiedzialnych za degradację białek zbędnych dla komórki. Białka takie ulegają „znakowaniu” poprzez kowalencyjne przyłączenie do innych białek z grupy ubikwityn. Ubikwityny są drobnocząsteczkowymi białkami obecnymi we wszystkich komórkach eukariotycznych, odgrywające ważną rolę w kontrolowanej degradacji białek. Sama ubikwityna jest odporna na proteolityczne działanie proteasomów i ma strukturę wysoce konserwatywną - białko ludzkie i mikroorganizmów różnią się tylko trzema aminokwasami. Za odkrycie procesu degradacji białek w komórkach, w którym bierze udział ubikwityna Irwin Rose, Avram Hershko i Aaron Ciechanover otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii w roku 2004 [19].

Rycina 6. zamieszczona poniżej przedstawia uproszczony schemat roli proteasomów w komórce.



Rycina 6. Schemat wewnątrzkomórkowej degradacji białek

Zahamowanie proteasomów powoduje, iż komórka staje się metabolicznie niewydolna wskutek nagromadzenia licznych toksycznych, zbędnych metabolitów białkowych. Można potęgować efekt przeładowania komórki związkami, które powinny być zniszczone (w tym białek istotnych dla fizjologicznego funkcjonowania komórki) poprzez nasilenie ubikwitynazji w kombinacji z hamowaniem proteasomów. Jest to groźniejsze dla komórek nowotworowych z uwagi na ich większą aktywność metaboliczną w porównaniu z komórkami zdrowymi. Pierwszym z inhibitorów proteasomów jest BORTEZOMIB (VELCADE) [4].

Grupą nowych leków, z którymi obecnie wiąże się bardzo duże nadzieje to związki oddziałujące nie

na same komórki nowotworowe, ale ich otoczenie zewnętrzne. Wśród nich najczęściej badaną grupą są INHIBITORY ANGIOGENEZY. Rosnący nowotwór musi wytworzyć sieć „prywatnego” krążenia potrzebną do swojego wzrostu i ekspansji. Proces ten i jego regulacja przebiega wielostopniowo, z udziałem licznych czynników humoralnych i enzymów proteolitycznych. Do związków antyangiogennych można zaliczyć blokery licznych czynników angiopoetycznych i ich receptorów, takich jak: inhibitor zasadowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF) – TALIDOMID, przeciwciało przeciwkoaskularnego czynnika wzrostowego VEGF – ANTY-VEGF lub inhibitory receptora dla VEGF. Badania nad patofizjologią procesu nowotworzenia naczyń nowotworu i jego supresji wskazują również na kolejny punkt uchwytu jakim jest blokowanie integryn – białek przylegania międzykomórkowego i białek adhezyjnych śródbłonna włóścińce oraz hamowanie proliferacji i migracji komórek śródbłonna. Badania te znajdują się obecnie na wczesnym etapie i trudno przesadzać o ich wynikach [6,21,22]. Trwają również poszukiwania inhibitorów angiogenezy nowotworowej pochodzenia naturalnego. Badania fitochemiczne ujawniły obecność związków obdarzonych potencjałem antyangiogennym w wielu roślinach. Należą do nich: SANGWINARYNA, KOMBRETASTATYNA, GINSENOZYDY Rb1, Rb2, Rg3, IZOLIKWIRYTYNA, SINOMENINA, TRYPTOLID, GENISTEINA. Właściwości takie posiadają również znane już związki pochodzenia roślinnego takie jak PAKLITAKSEL, KAMPTOTECYNA oraz WINKRYSTYNA. Udowodniono również, że systematyczne spożywanie pokarmów zawierających polifenole również wiąże się ze zmniejszonym ryzykiem występowania nowotworów [7].

Istotny jest również wpływ na matrix (macierz) zewnątrzkomórkową nowotworu, która stanowi dla niego podścielisko, szkielet tkankowy, miejsce umożliwiające angiogenezę oraz wymianę informacji międzykomórkowej. Efekt taki można uzyskać stosując INHIBITORY MATRIXMETALOPROTEINAZ. Metaloproteinazy są enzymami, które są wydzielane przez komórki nowotworowe do otoczenia celem „wytrawienia” sąsiadujących tkanek i umożliwienia dalszej ekspansji komórkowej. Blokada matrixmetaloproteinaz utrudnia inwazję guza oraz jego unacynienie poprzez pośrednie utrudnienie angiogenezy oraz jego przerzutowanie. Do nowych leków tego typu zaliczamy MARIMASTAT oraz BATIMASTAT.



Prowadzone ostatnio badania wykazują, iż właściwości takie wykazuje również wyciąg z chrząstki rekina – NEOVASTAT [4,6]

Na marginesie należy również dodać o wykorzystaniu naturalnych sił odpornościowych ustroju w walce z nowotworem. Postępy w inżynierii genetycznej otworzyły nowe możliwości stymulacji endogennej immunologicznej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Funkcjonuje obecnie pojęcie przeciwnowotworowej terapii immunogenetycznej, która może być zdefiniowana jako manipulacja materiału genetycznego celem wyzwolenia immunologicznej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Metody używane w tej terapii obejmują genetyczne wektory wirusowe oraz niewirusowe, podawanie adiuwantów nasilających reakcje immunologiczne lub bierną immunizację za pomocą przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom wyizolowanym z komórek nowotworowych. Stosuje się również podawanie szczepionek przeciwnowotworowych jako metodę czynnej immunizacji. Metody immunologiczne wymagają jednak wiele badań i zaawansowanych technik [23-25].

Podsumowując, doszło do wielkiego progressu w poszukiwaniach nowych substancji przeciwnowotworowych. Klasyczna chemioterapia, oparta na

nieswoistych cytostatykach, wykazujących agresywne działanie i liczne poważne działania niepożądane, jest stopniowo zastępowana metodami celowanej chemioterapii o znacznie mniejszej toksyczności. Nowe chemioterapeutyki przeciwnowotworowe posługują się precyzyjnymi metodami uderzającymi w mechanizmy, których zaburzenia leżą u podłoża transformacji nowotworowej. Pojawia się coraz więcej koncepcji terapeutycznych, które podważają i kwestionują panujące od wielu lat utarte standardy leczenia nowotworowego. Nie bez znaczenia jest też wzrastająca ilość preparatów doustnych, które chory może przyjmować w warunkach ambulatoryjnych. Dzięki postępowi jaki się obecnie dokonuje, leczenie farmakologiczne chorób nowotworowych zyskuje na coraz większym znaczeniu, stawiając w perspektywie bliskiej przyszłości chemioterapeutyki przeciwnowotworowe na pozycji głównej metody w leczeniu tych schorzeń.

Adres dla korespondencji:

Łukasz Dobrek  
Zakład Patofizjologii Doświadczalnej i Klinicznej  
Collegium Medicum UJ w Krakowie  
ul. Czysa 18, 31-121 Kraków  
E-mail: lukasz@wp.pl

## Piśmiennictwo

1. Statystyka zapadalności na choroby nowotworowe Polskiej Unii Onkologii. <http://www.puo.pl/page.php>
2. Jarzab B. Nowotwory. W: Zahorska-Markiewicz B, Malecka-Tendera E. (red.) Patofizjologia kliniczna. Podręcznik dla studentów medycyny. Wrocław: Volved; 2001.
3. Nowotwory. W: Thor P. Podstawy patofizjologii człowieka. Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego; 2001.
4. Jędrzejczak WW. Poszukiwanie postępu w chemioterapii nowotworów. Współczesna Onkologia 2003; 7(1): 6-10.
5. [[http://pl.wikipedia.org/wiki/Grafika:Cell\\_cycle.png](http://pl.wikipedia.org/wiki/Grafika:Cell_cycle.png)]
6. Pawlicki M, Wiczyńska B. Nowe leki przeciwnowotworowe - postęp czy stagnacja? Nowotwory - Journal of Oncology 2001; 51(5): 507-14.
7. Głowniak K, Świątek Ł. Związki chemiczne pochodzenia naturalnego w terapii chorób nowotworowych. Rośliny lecznicze w Polsce i na Świecie 2007; 2-4 (10-12): 12-19.
8. [<http://www.emdbiosciences.com/SharedImages/cnuk/angiogenesis.jpg>]
9. [[http://www.chuv.ch/cpo\\_research/images/angiogenesis.jpg](http://www.chuv.ch/cpo_research/images/angiogenesis.jpg)]
10. Arya M, Patel HRH, Williamson M. Chemokines: key players in cancer. Current Medical Research and Opinion 2003; 19(6): 557-64.
11. Parmar S, Platanius LC. Interferons: mechanisms of action and clinical applications. Current Opinion in Oncology 2003; 15: 431-9.
12. Rowinsky EK. Challenges of developing therapeutics that target signal transduction in patients with gynecologic and other malignancies. Journal of Clinical Oncology 2003; 21(10s): 175s-186s.
13. Smith RA, Dumas J, Adnane L, Eilhelm SM. Recent advances in the research and development of RAF kinase inhibitors. Current Topics in Medicinal Chemistry 2006; 6: 1071-89.
14. Echeverria CG, Fabbro D. Therapeutically targeted anticancer agents: inhibitors of receptor tyrosine kinases. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 2004; 4: 273-83.
15. Redell MS, Tweardy DJ. Targeting transcription factors for cancer therapy. Current Pharmaceutical Design 2005; 11: 2873-87.
16. Dean NM, Bennett CF. Antisense oligonucleotide-based therapeutics for cancer. Oncogene 2003; 22: 9087-96.

17. Shangary S, Johnson DE. Recent advances in the development of anticancer agents targeting cell death inhibitors in the Bcl-2 protein family. *Leukemia* 2003; 17: 1470-81.
18. Dobashi Y, Takehana T, Ooi A. Perspectives on cancer therapy: Cell cycle blockers and perturbators. *Current Medicinal Chemistry* 2003; 10: 2549-58.
19. [<http://pl.wikipedia.org/wiki/Ubikwityna>]
20. [<http://www.jurczyszyn.zdrowemiasto.pl/publikacje/img/Rycina1a.jpg>]
21. Zhong H, Bowen JP. Antiangiogenesis drug design: Multiple pathways targeting tumor vasculature. *Current Medicinal Chemistry* 2006; 13: 849-62.
22. Bainbridge J, Sivakumar B, Paleolog E. Angiogenesis as a therapeutic target in arthritis: lessons from oncology. *Current Pharmaceutical Design* 2006; 12: 2631-44.
23. Parney IF, Chang LJ. Cancer immunogene therapy: a review. *Journal of Biomedical Science* 2003; 10: 37-43.
24. Davis JJ, Fang B. Oncolytic virotherapy for cancer treatment: challenges and solutions. *The Journal of Gene Medicine* 2005; 7: 1380-9.
25. Ribas A, Butterfield LH, Glaspy JA, Economou JS. Current developments in cancer vaccines and cellular immunotherapy. *Journal of Clinical Oncology* 2003; 21: 2415-32.