

Received: 2012.06.14
Accepted: 2012.09.28
Published: 2012.11.15

Indywidualizacja terapii przeciwnowotworowej; molekularne uwarunkowania mechanizmów działania nowoczesnych leków onkologicznych

Individualization of anticancer therapy; molecular targets of novel drugs in oncology

Katarzyna Regulska¹, Beata Stanis², Miłosz Regulski³

¹ Wielkopolskie Centrum Onkologii im. Marii Curie-Skłodowskiej w Poznaniu

² Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

³ Katedra i Zakład Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Dysregulacja procesu transmisji sygnału na poziomie komórkowym, wynikająca z genetycznych nieprawidłowości, jest istotnym czynnikiem inicjacji, promocji i progresji nowotworów. Możliwość kontrolowania aktywności odpowiednich białek przekaźnikowych oraz normalizacji wymienionych zaburzeń za pomocą swoistych inhibitorów stanowi ideę terapii celowanej molekularnie, która umożliwia współczesnej medycynie wpływanie na przebieg onkogenezy oraz skuteczne leczenie niektórych chorób nowotworowych. W pracy scharakteryzowano najważniejsze leki stosowane w terapii celowanej molekularnie, do których należą: przeciwciała monoklonalne oraz drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych, z uwzględnieniem ich budowy chemicznej, punktu uchwytu, mechanizmu działania i zastosowania w leczeniu. Przedstawiono także charakterystykę cząsteczek predysponujących do włączenia do rutynowej praktyki klinicznej, które obecnie oceniane są pod względem bezpieczeństwa i skuteczności przeciwnowotworowej w przebiegu rozlicznych badań klinicznych fazy I, II i III, a także substancji będących na etapie badań przedklinicznych. Ponadto wskazano dalsze kierunki rozwoju w dziedzinie medycyny i farmacji onkologicznej, do których należą systematyczne poszukiwania nowych zaburzeń molekularnych odpowiedzialnych za rozwój chorób nowotworowych, działania mające na celu poprawę parametrów farmakologicznych istniejących już inhibitorów oraz dążenia do uniezależnienia ich aktywności od zjawiska oporności lekowej. Podkreślono także rolę indywidualizacji leczenia onkologicznego, z czym nieodłącznie związana jest konieczność określenia wiarygodnych czynników predykcyjnych stanowiących podstawę selekcji chorych do odpowiedniego schematu terapeutycznego.

Słowa kluczowe:

drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz • transmisja sygnału • onkologia • przeciwciała monoklonalne • badania kliniczne

Summary

Deregulation of cellular signal transduction, caused by gene mutations, has been recognized as a basic factor of cancer initiation, promotion and progression. Thus, the ability to control the activity of overstimulated signal molecules by the use of appropriate inhibitors became the idea of targeted cancer therapy, which has provided an effective tool to normalize the molecular disorders in malignant cells and to treat certain types of cancer. The molecularly targeted drugs are divided into two major pharmaceutical classes: monoclonal antibodies and small-molecule kinase

inhibitors. This review presents a summary of their characteristics, analyzing their chemical structures, specified molecular targets, mechanisms of action and indications for use. Also the molecules subjected to preclinical trials or phase I, II and III clinical trials evaluating their efficiency and safety are presented. Moreover, the article discusses further perspectives for development of targeted therapies focusing on three major directions: systematic searching and discovery of new targets that are oncogenic drivers, improving the pharmacological properties of currently known drugs, and developing strategies to overcome drug resistance. Finally, the role of proper pharmacodiagnosics as a key to rational anticancer therapy has been emphasized since the verification of reliable predictive biomarkers is a basis of individualized medicine in oncology.

Key words: small-molecule kinase inhibitors • signal transmission • oncology • monoclonal antibodies • clinical trials

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1019649>

Word count: 5669

Tables: –

Figures: 1

References: 112

Adres autorki: mgr. farm. Katarzyna Regulska, Wielkopolskie Centrum Onkologii, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań, e-mail: katarzyna.regulska@wco.pl

Wykaz skrótów: **Akt** – kinaza serynowo-treoninowa (patrz PKB); **ALK** – anaplastyczna kinaza chłoniaka (anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase); **ATP** – kwas adenozynotrifosforowy; **BAX** – białko o funkcji proapoptotycznej; **BCL-2** – białko o funkcji antyapoptotycznej; **BCR** – break point cluster region; **BCR-ABL** – onkogenna kinaza tyrozynowa, produkt genu fuzyjnego BCR-ABL; **CAK** – kinaza aktywująca CDK; **cAMP** – cykliczny adenozynomonofosforan; **CAMs** – białkowe cząsteczki adhezyjne (cellular adhesion molecules); **CDK** – kinazy zależne od cyklin (cyclin-dependent kinase); **ckIT** – receptor o aktywności kinazy tyrozynowej; **DAG** – diacyloglicerol; **EGF** – czynnik wzrostu śródbłonna (epidermal growth factor); **EGFR** – receptor dla czynnika wzrostu śródbłonna (epidermal growth factor receptor); **EPH** – kinaza receptora efryny; **ERK 1/2** – kinaza aktywowana przez czynniki pozakomórkowe 1 i 2 (extracellular signal-regulated kinase 1 and 2); **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów (fibroblast growth factor); **FGFR** – receptor dla czynnika wzrostu fibroblastów (fibroblast growth factor receptor); **FKBP12** – białko wiążące inhibitory mTOR; **GDP** – kwas guanozynodifosforowy; **GIST** – nowotwory wywodzące się z podścieliska przewodu pokarmowego (gastrointestinal stromal tumours); **GTP** – kwas guanozynotrifosforowy; **HER1/2/3/4** – receptory dla naskórkowego czynnika wzrostu 1, 2, 3 i 4; **IP3** – 1,4,5-trifosforan inozytolu; **KRAS** – białko z rodziny Ras (Kirsten rat sarkoma 2 viral oncogene homolog); **MAP** – białka aktywowane przez miogeny (miogen activated proteins); **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana przez miogeny (mitogen-activated protein); **MAP3K** – kinaza kinazy kinazy białkowej aktywowanej przez miogeny (miogen activated kinase kinase kinase); **MEK1/2** – kinaza kinazy białkowej aktywowanej mitogenami 1 i 2; **MET** – protoonkogen kodujący białko zwane czynnikiem wzrostu hepatocytów; **MGMT** – gen kodujący białko zaangażowane w mechanizmy naprawy DNA (methyl-guanine methyl transferase gene); **mTOR** – ssaczy cel rapamycyny, białkowa kinaza serynowo-treoninowa (mammalian target of rapamycin); **NF-κβ** – czynnik transkrypcyjny; **p70S6K** – białko efektorowe mTOR; **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor); **PDGFR** – receptor dla płytkopochodnego czynnika wzrostu (platelet-derived growth factor receptor); **PK1** – kinaza białkowa zależna od fosfatydyloinozytolu (3-phosphoinositide dependent protein kinase-1); **PI3K** – kinaza 3-fosfatydyloinozytolu; **PIP2** – fosfatydyloinozytolo-(4,5)-bisfosforan; **PIP3** – fosfatydyloinozytolo-(3,4,5)-trisfosforan; **PKB** – kinaza białkowa B (protein kinase B); **PKC** – kinaza białkowa C (protein kinase C); **PLC** – fosfolipaza C; **PTEN** – fosfataza PIP3 (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten); **Raf** – serynowo-treoninowa kinaza kinazy kinazy białkowej aktywowanej przez mitogeny; **Ras** – białko, błonowa GTP-aza odpowiedzialna za stymulację rozlicznych szlaków transmisji sygnałów; **Smo** – białko receptorowe uczestniczące w transmisji sygnału na drodze szlaku Hedgehog; **Src** – rodzina niereceptorowych

kinaz tyrozynowych; **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonnka (vascular endothelial growth factor); **VEGFR** – receptor czynnika wzrostu śródbłonnka (vascular endothelial growth factor receptor).

WSTĘP

Transformacja nowotworowa jest złożonym, wieloetapowym i długotrwałym procesem uwarunkowanym genetycznie, wynikającym z kumulacji wrodzonych oraz nabytych mutacji w obrębie genomu komórki prekursorowej, a także ze zmian epigenetycznych, prowadzących wspólnie do naruszenia jej systemu równowag metabolicznych. W prawidłowych warunkach cykl życiowy komórki jest wypadkową aktywności czynników proliferacyjnych i proapoptotycznych, których współdziałanie gwarantuje utrzymanie homeostazy w organizmie. W wyniku nagromadzonych nieprawidłowości w materiale genetycznym, komórki zmienione nowotworowo stają się autonomiczne względem mechanizmów regulacyjnych i zaczynają się dzielić w sposób niekontrolowany, ze wzmoczoną intensywnością przy jednoczesnym zmniejszeniu liczby komórek umierających. Badania molekularne potwierdziły, iż komórki nowotworowe są odmienne fenotypowo od komórek zdrowych z charakterystyczną ekspresją cech umożliwiających im patologiczną proliferację i ekspansję. Do cech tych należą m.in. nadekspresja receptorów czynników wzrostu lub ich konstytutywna aktywacja, a także zdolność do tworzenia patologicznych, proliferacyjnych pętli autokrynych [18,87].

Obecnie podstawową metodą leczenia chorych z nowotworami rozszanymi jest tradycyjna chemioterapia systemowa z wykorzystaniem leków cytostatycznych. Ich działanie polega na indukcji apoptozy oraz na zahamowaniu mitozy przez zaburzenie cyklu komórkowego. Leki cytostatyczne nie działają wybiórczo, uszkadzając również zdrowe, szybko proliferujące komórki gospodarza, takie jak: mielocyty, komórki nabłonkowe czy też gametocyty. Tak niewielka selektywność oraz wąski współczynnik terapeutyczny są przyczyną ich dużej toksyczności prowadzącej do uciążliwych i niebezpiecznych objawów niepożądanych, m.in. do: mielotoksyczności, nudności i wymiotów, wypadania włosów, kardiotoxyczności, pneumotoksyczności czy neurotoksyczności. Stanowi to poważny problem terapeutyczny, który znacząco ogranicza zastosowanie chemioterapii i jest przyczyną jej niezadowalającej skuteczności [80].

Rozwój wiedzy dotyczącej biologii molekularnej i genetyki nowotworów wskazał nowe kierunki poszukiwań skuteczniejszych metod farmakoterapeutycznych, wykorzystujących odkrycia związane z transmisją sygnałów w komórce. Komunikacja między- i wewnątrzkomórkowa stanowi podstawę regulacji mechanizmów odpowiedzialnych za fundamentalne funkcje życiowe, takie jak wzrost, podział, różnicowanie i śmierć, a patologiczny wzrost lub spadek aktywności niektórych cząsteczek biorących udział w wymienionych procesach leży u podłoża progresji nowotworowej. Dlatego molekularnymi punktami uchwytu nowych leków przeciwnowotworowych stały się przede wszystkim te białka przekaźnikowe, które uległy nadekspresji w wyniku mutacji bądź amplifikacji genu oraz takie, których interakcja z lekiem powoduje zakłócenia w transmisji sygnałów przekazywanych przez cząsteczki właściwe dla procesu nowotworzenia [18,87]. Idea terapii celowanej stanowi istotny

postęp w zakresie indywidualizacji leczenia przeciwnowotworowego, ponieważ zgodnie z jej założeniami dobór odpowiedniej strategii terapeutycznej uzależniony jest od predyspozycji genetycznych chorego, które determinują obecność lub brak swoistego celu molekularnego, charakterystycznego dla danego leku. Nie bez znaczenia pozostają również dodatkowe czynniki związane z płcią, wiekiem, rasą czy historią guza, których ogólna ocena powinna stanowić podstawę klasyfikacji chorych do konkretnego schematu leczenia. Niestety określenie jednoznacznych kryteriów kwalifikacji chorych do terapii celowanej molekularnie jest niezwykle problematyczne i z tego powodu wciąż stanowi ogromne wyzwanie dla współczesnej medycyny [70].

MECHANIZMY PRZEKAZYWANIA INFORMACJI W KOMÓRCE A ONKOGENEZA

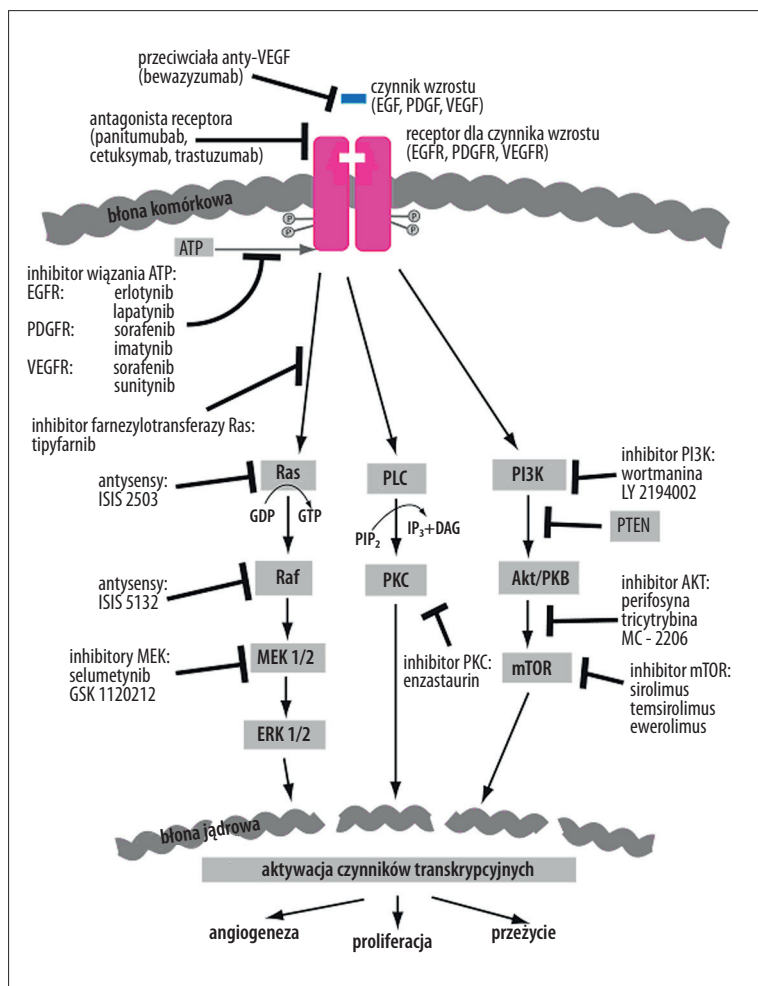
Komunikacja międzykomórkowa odbywa się na zasadzie interakcji substancji sygnałowych, takich jak hormony, cytokiny czy czynniki wzrostu z zewnątrzkomórkową domeną białka receptorowego. Związanie substancji sygnałowej z receptorem jest warunkiem koniecznym, inicjującym kaskadę reakcji biochemicznych we wnętrzu komórki docelowej i prowadzącym do zmiany aktywności białek efektorowych regulujących jej rozliczne funkcje życiowe. Proces aktywacji i przekazu sygnału do jądra komórkowego przebiega wieloetapowo i za pośrednictwem kilku uniwersalnych mechanizmów tworzących skomplikowaną, wewnątrzkomórkową sieć komunikacyjną. Mechanizmy te dotyczą takich procesów jak:

- transmisja sygnału przez receptory sprzężone z białkami G oraz receptory wykorzystujące cAMP lub IP3 i DAG jako wtórne przekaźniki,
- transmisja sygnału przez kanały wapniowe (związane z jonami Ca^{2+} jako wtórnym przekaźnikiem),
- transmisja sygnału przez receptory jonotropowe,
- przekaz informacji przez receptory z wewnętrzną, enzymatyczną aktywnością kinaz,
- mobilizacja tlenu azotu,
- komunikacja za pośrednictwem receptorów integrzyn.

We współczesnej farmakoterapii onkologicznej podstawowe znaczenie ma przekaz sygnału mitogennego związany ze zmianami konformacyjnymi białek przekaźnikowych, które stanowią kolejne ogniwa kaskady sygnałowych. Zmiana konformacji poszczególnych przekaźników jest wynikiem fosforylacji i defosforylacji ich reszt aminokwasowych. Szczególną rolę w tych procesach biologicznych odgrywają reakcje fosforylacji tyrozyny, katalizatorami których są tyrozynowe kinazy białkowe. Wśród nich wyróżnia się:

- receptorowe kinazy tyrozynowe (zawierające zewnątrzkomórkową domenę wiążącą ligand),
- niereceptorowe kinazy tyrozynowe (kinazy związane z receptorami transbłonowymi i wolne kinazy).

Drugą istotną grupę kinaz stanowią kinazy serynowo-treoninowe przenoszące resztę fosforanową z ATP na serynę i treoninę.



Ryc. 1. Uproszczony schemat transmisji sygnału w komórce za pośrednictwem receptora o aktywności kinazy tyrozynowej oraz punkty uchwytu nowoczesnych leków przeciwnowotworowych; Akt – kinaza serynowo-treoninowa (patrz PKB); ATP – kwas adenosynotrifosforowy; DAG – diacylglicerol; EGF – czynnik wzrostu śródbłonnka; EGFR – receptor czynnika wzrostu śródbłonnka; ERK 1/2 – kinaza aktywowana przez czynniki pozakomórkowe 1 i 2; GDP – kwas guanozynodifosforowy; GTP – kwas guanozynotrifosforowy; IP₃ – 1,4,5-trifosforan inozytoli; MEK 1/2 – kinaza kinazy białkowej aktywowanej miogenami 1 i 2; mTOR – ssaczy cel rapamycyny, białkowa kinaza serynowo-treoninowa; PDGF – płytkopochodny czynnik wzrostu; PDGFR – receptor płytkopochodnego czynnika wzrostu; PI3K – kinaza 3-fosfatydyloinozytoli; PIP₂ – fosfatydyloinozytolo-(4,5)-bisfosforan; PIP₃ – fosfatydyloinozytolo-(3,4,5)-trisfosforan; PKB – kinaza białkowa B; PKC – kinaza białkowa C; PTEN – fosfataza PIP₃; Raf – serynowo-treoninowa kinaza kinazy kinazy białkowej aktywowanej przez mitogeny; Ras – białko, błonowa GTP-aza odpowiedzialna za stymulację rozlicznych szlaków transmisji sygnałów; VEGF – czynnik wzrostu śródbłonnka; VEGFR – receptor czynnika wzrostu śródbłonnka

Transmisja sygnału za pośrednictwem receptorowych kinaz tyrozynowych przebiega kilkietapowo i obejmuje następującą sekwencję zdarzeń:

1. Interakcja liganda z receptorem.
2. Dimeryzacja receptorów.
3. Auto- i transfosforylacja reszt tyrozynowych w części cytoplazmatycznej dimerizujących receptorów.
4. Wiązanie białek adaptorowych.
5. Aktywacja białka Ras.
6. Stymulacja serynowo-treoninowych kinaz MAP.

Kinazy MAP tworzą zhierarchizowane układy, w których poszczególne ogniwa aktywują łańcuchowo przez fosforylację ogniwa stojące niżej w szeregu, determinując w ten sposób odpowiedź komórki na rozmaite sygnały z zewnątrz, w postaci transkrypcji odpowiednich genów. Na ryc. 1 przedstawiono schemat przebiegu opisanych wyżej procesów.

Istotną rolę w reakcji transmisji sygnału w kaskadzie tyrozyny pełni monomeryczne białko Ras, które jest małym białkiem G o aktywności GTP-azy, zakotwiczonym po wewnętrznej stronie błony cytoplazmatycznej. Błonowe umiejscowienie białka Ras jest możliwe dzięki obecności w jego strukturze motywu hydrofobowego dołączanego do łańcucha polipeptydowego w trakcie modyfikacji potranslacyjnej w reakcji katalizowanej m.in. przez farnesylotransferazę. Białko Ras w postaci nieaktywnej połączone z GDP

ulega aktywacji po wymianie GDP na GTP na skutek procesów zachodzących w wyniku interakcji receptora z agonistą. Aktywne białko Ras stymuluje kaskadę kinaz MAP, w której pierwszym ogniwem jest serynowo-treoninowa kinaza Raf (kinaza kinazy kinazy białkowej aktywowanej przez mitogeny, MAP3K), która aktywuje kolejne białka przekaźnikowe. Informacja z białka Raf jest przenoszona na MEK1 i MEK2 a dalej na ERK1 i ERK2. Dochodzi wówczas do aktywacji czynników transkrypcyjnych w jądrze komórkowym i do ekspresji genów związanych z proliferacją i różnicowaniem komórek. Geny kodujące białka uczestniczące w procesie transmisji sygnału na drodze opisanego szlaku (tzw. szlaku Ras/Raf/MEK/ERK) są dobrze poznanymi protoonkogenami, a ich mutacje przyczyniają się do inicjacji onkogenezy [104].

Aktywowany przez połączenie z agonistą receptor związany z aktywnością kinazy tyrozynowej może, oprócz wiązania białek adaptorowych i uruchamiania szlaku Ras/Raf/MEK/ERK, również przyłączać białka enzymatyczne, takie jak kinaza 3-fosfatydyloinozytoli (PI3K), która katalizuje reakcję fosforylacji obecnego w błonie cytoplazmatycznej fosfolipidu PIP₂ do PIP₃. W ten sposób uruchomiona zostaje inna ścieżka przesyłu sygnałów, zwana PI3K/Akt/mTOR, gdzie główną rolę odgrywają dwie kinazy serynowo-treoninowe: kinaza białkowa B (PKB, zwana również Akt) oraz jej substrat mTOR, który jest regulatorem licznych procesów komórkowych, takich jak wytwarzanie

VEGF, wzrost, proliferacja czy apoptoza. Przekaz sygnału drogą PI3K/Akt/mTOR jest dodatkowo uzależniony od aktywności fosfatazy PIP3 – PTEN (ryc. 1). Enzym ten jest czynnikiem supresorowym onkogenezy, dlatego w wielu zaawansowanych nowotworach (m.in. glejaku, czerniaku oraz raku żołądka, jajników, nerek, piersi i płuc) obserwowana jest mutacja powodująca jego wyciszenie, skutkująca wzrostem aktywności Akt oraz mTOR [42,49].

BUDOWA CHEMICZNA ORAZ WŁAŚCIWOŚCI LEKÓW STOSOWANYCH W TERAPII CELOWANEJ MOLEKULARNIE

Podstawową zaletą leków celowanych molekularnie jest wynikająca z ich mechanizmu działania wybiórczość i bardziej korzystny w porównaniu z tradycyjnymi cytostatykami profil toksyczności. Działają one na ściśle określone cząsteczki odpowiadające za nieprawidłowe cechy komórek nowotworowych, do których w większości należą elementy opisanych wyżej ścieżek przesyłu sygnałów. W obrębie omawianej grupy leków można wyróżnić następujące podgrupy: przeciwciała monoklonalne, drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz, peptydy oraz flawonoidy.

Przeciwciała monoklonalne

Przeciwciała monoklonalne zbudowane są z czterech łańcuchów polipeptydowych: dwóch lekkich oraz dwóch ciężkich, połączonych mostkiem disiarczkowym. W obydwu typach łańcuchów występują części zmienne (wiążące antygen) oraz części stałe. Ich układ tworzy kształt zbliżony do litery „Y”. Ramiona krótkie to tzw. fragment Fab (fragment antygen binding), na którym umiejscowiona jest antydeterminanta rozpoznająca antygen, natomiast pozostała część to fragment Fc pełniący funkcję efektorową. Ze względu na dużą masę cząsteczkową (~150 kDa) przeciwciała monoklonalne nie przenikają przez błonę komórkową, a ich celem molekularnym są zewnątrzkomórkowe domeny białek sygnałowych. Duża masa cząsteczkowa przedkłada się także na klirens osoczowy i wpływa na okres półtrwania w surowicy (3,1–7,8 dni) [75]. Przeciwciała monoklonalne w onkologii stosowane są jako leki oraz jako nośniki innych leków przeciwnowotworowych lub izotopów promieniotwórczych [75]. Wadami przeciwciał monoklonalnych są: ich wysoki koszt produkcji oraz konieczność podawania dożylnego w warunkach klinicznych. Mają one również tendencję do wywoływania reakcji immunologicznych oraz nietolerancji związanej z podawaniem drogą pozajelitową [75].

Drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz

Drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz są związkami syntetycznymi o małej masie (~500 Da). Ich produkcja jest mniej kosztowna niż przeciwciał monoklonalnych, cechują się zadowalającą trwałością oraz mogą być podawane doustnie. Ich okres biologicznego półtrwania osiąga wartości rzędu 48 h. Metabolizowane są przez system cytochromów P450 i z tego powodu mogą wchodzić w interakcje z innymi lekami [41]. Inhibitory kinaz przenikają przez błonę cytoplazmatyczną i są w stanie osiągnąć wewnątrzkomórkowe cele molekularne [19]. Większość znanych inhibitorów kinaz działa kompetycyjnie w stosunku do ATP, tworząc wiązania wodorowe z aminokwasami znajdującymi się w regionie zawiasowym docelowej kinazy naśladując wiązania typu kinaza-ATP [109]. Wyróżnia się cztery klasy inhibitorów:

- rozpoznające enzym w konformacji aktywnej,
- rozpoznające enzym w konformacji nieaktywnej (imatinib, sunitynib, sorafenib) [56], nilotinib [48,59],
- allosteryczne wiążące się z enzymem poza jego centrum aktywnym, modulujące aktywność enzymu przez indukcję zmiany jego konformacji; ta kategoria inhibitorów cechuje się najwyższą selektywnością [109]. Do inhibitorów allosterycznych należą: GNF-5 wiążący się z miejscem mirsytylacji kinazy BCR-ABL (mirsytylacja jest procesem aktywującym enzym w trakcie obróbki potranslacyjnej) [3] oraz CI-1040, który hamuje aktywność MEK1 i MEK2 przez wiązanie z kieszonką stychną do miejsca wiązania ATP [4,47],
- nieodwracalne, tworzące kowalencyjne wiązania z miejscem aktywnym enzymu wykorzystując nukleofilową reakcję z resztą cysteinową [14]. Najbardziej zaawansowane badania kliniczne w zakresie nieodwracalnej inhibicji kinaz dotyczą cząsteczek blokujących receptor EGFR, do których należą: neratynib, PF00299804, afatynib [10], pelitynib [107], canertynib [27].

PUNKTY UCHWYTU LEKÓW WPŁYWAJĄCYCH NA TRANSMISJĘ SYGNAŁU ZWIĄZANEGO Z RECEPTOREM O AKTYWNOŚCI KINAZY TYROZYNOWEJ

Złożoność procesu transmisji sygnału za pośrednictwem receptorowych kinaz tyrozynowych umożliwia jego wielostopniową regulację za pomocą odpowiednich inhibitorów. Wiadomo, że wewnątrzkomórkowy przekaz informacji może zostać zablokowany właściwie na każdym etapie, co uzasadnia różnorodność mechanizmów działania leków przeciwnowotworowych, z których najważniejsze to:

- unieczynnianie liganda dla receptorowej kinazy tyrozynowej,
- blokowanie receptora poprzez związanie z jego zewnątrzkomórkową domeną wiążącą ligand,
- uniemożliwianie autofosforylacji receptora przez zablokowanie wiązania ATP w obrębie domeny kinazowej receptora,
- hamowanie przekazywania sygnałów przez cytoplazmatyczne przekaźniki drugiego rzędu (ryc. 1).

Wymienione mechanizmy działania leków przeciwnowotworowych celowanych molekularnie oraz ich wpływ na regulację transmisji sygnału mitogennego przez receptorowe kinazy tyrozynowe będą szczegółowo omówione w dalszej części artykułu.

Unieczynnianie liganda receptorowej kinazy tyrozynowej

Związanie czynnika wzrostu z inhibitorem uniemożliwia jego interakcję z odpowiednim receptorem i powoduje jego unieczynnienie oraz zahamowanie dalszej drogi przemian białek sygnałowych. Ligandami receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej są m.in. czynniki wzrostu, takie jak: EGF: VEGF, PDGF. Do zablokowania transmisji sygnału na tym etapie wykorzystuje się przeciwciała monoklonalne, a kliniczne zastosowanie w tej grupie leków znalazł inhibitor czynnika wzrostu VEGF – bewacyzumab, uniemożliwiający wiązanie VEGF z receptorem na powierzchni komórek śródbłonna [75,92]. Bewacyzumab hamuje w ten sposób proces angiogenezy oraz ogranicza wzrost guza. Lek ten stosowany jest u chorych na raka jelita grubego,

niedrobnokomórkowego raka płuc, zaawansowanego raka piersi, a także na zaawansowanego raka nerki [75,92].

Blokowanie receptora poprzez związanie z jego zewnątrzkomórkową domeną wiążącą ligand

W grupie leków wykorzystywanych jako antagoniści receptorów zastosowanie znalazły również przeciwciała monoklonalne, które rozpoznają miejsca wiążące ligand w obrębie zewnątrzkomórkowej domeny receptora i zmniejszają tym samym jego powinowactwo do naturalnych ligandów. Połączenie przeciwciała z receptorem uniemożliwia jego autofosforylację i dalszy przekaz sygnału mitogennego. W następstwie tego procesu zachodzi internalizacja receptora i zahamowanie wzrostu komórki [75]. W onkologii najszersze zastosowanie znalazły przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko receptorom EGFR i są to panitumumab, cetuksymab i trastuzumab. Panitumumab stosowany jest w leczeniu chorych na raka jelita grubego [75], cetuksymab zaś – w nabłonkowych nowotworach w obrębie głowy i szyi oraz w raku jelita grubego [75,79]. Z kolei trastuzumab jest antagonistą receptora HER2, należącego do rodziny EGFR i jest skuteczny w leczeniu chorych na rozlanego raka piersi z nadekspresją HER2 [75].

Istnieje wiele innych przeciwciał monoklonalnych oddziałujących z EGFR, które są na etapie badań rozwojowych i badań klinicznych. Należą do nich m.in.: nimotuzumab, matuzumab i pertuzumab. Nimotuzumab jak dotąd został dopuszczony do obrotu tylko w niektórych państwach (Tajlandia, Birma, Kambodża, Indonezja i Filipiny) z zastosowaniem w terapii glejaka o wysokim stopniu złośliwości u młodzieży i dzieci w wieku od 3 lat oraz w raku płaskonabłonkowym głowy i szyi i raku nosogardzieli [17,50,77]. Matuzumab natomiast przeszedł badania kliniczne II fazy oceniające jego przydatność w terapii chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca [61] oraz raka żołądka [61]. Niestety ze względu na niezadowalające wyniki, w lutym 2008 r. dalsze badania zostały zawieszono [61]. Ostatni – pertuzumab jest inhibitorem dimeryzacji receptorów HER2. Wczesne próby oceniające jego skuteczność w leczeniu chorych na raka prostaty, piersi, jajnika nie przyniosły jednak zadowalających rezultatów [21].

Uniemożliwienie autofosforylacji receptora przez zablokowanie wiązania ATP w obrębie domeny kinazowej receptora

Związki konkurujące z ATP o miejsca wiązania w centrum aktywnym w obrębie części cytoplazmatycznej receptora znalazły dość szerokie zastosowanie w onkologicznej terapii celowanej molekularnie. Są to przede wszystkim leki z grupy drobnocząsteczkowych inhibitorów kinaz tyrozynowych hamujące aktywność EGFR, VEGFR oraz białka fuzyjnego BCR-ABL [45]. Ze względu na budowę chemiczną można wśród nich wyróżnić:

- anilinochinazoliny (gefitynib i erlotynib),
- anilinochinoliny,
- anilinopirydopirymidyny [52].

Inhibitory EGFR

W wielu chorobach nowotworowych stwierdzono nadekspresję receptorów z rodziny EGFR (obejmującej receptory

HER1, HER2, HER3, HER4). Stąd zainteresowanie kinazą tyrozynową receptora EGF jako punktem uchwytu leków celowanych molekularnie [45]. Do grupy jej odwracalnych inhibitorów stosowanych w onkologii należą gefitynib i erlotynib ze wskazaniem w leczeniu chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca jako terapia uzupełniająca lub po niepowodzeniu konwencjonalnego leczenia [15]. Ponadto erlotynib uzyskał dodatkowe pozwolenie w skojarzonej z gemcytabiną terapii miejscowo zaawansowanego, nieoperacyjnego lub rozlanego raka trzustki [64]. Stosowanie odwracalnych inhibitorów HER1 przynosi korzyść terapeutyczną w odpowiednio dobranej grupie chorych, jest ono jednak ograniczone z powodu często występującego zjawiska oporności pierwotnej i wtórnej. Oporność pierwotna na gefitynib i erlotynib związana jest z obecnością mutacji w obrębie genów EGFR, KRAS, utratą białka PTEN lub amplifikacją genu MET. Rozwój wtórnej oporności z kolei polega na spowodowanej mutacjami utracie zdolności wiązania EGFR z inhibitorem, internalizacji EGFR oraz na pojawieniu się wtórnych mutacji w genie EGFR [27]. Dodatkowym czynnikiem mogącym zmniejszać skuteczność terapeutyczną gefitynibu i erlotynibu jest ich aktywność ograniczona do receptorów HER1 oraz brak wpływu na pozostałe receptory z rodziny EGFR. Jak opisano wcześniej, jednym z etapów transdukcji sygnału mitogennego przez receptor o aktywności kinazy tyrozynowej jest dimeryzacja, która w przypadku rodziny EGFR zachodzi w sposób dwojaki: jako homodimeryzacja (HER1-HER1) lub jako heterodimeryzacja (HER1-HER2). W związku z powyższym inaktywacja tylko HER1 za pomocą odwracalnych inhibitorów HER1 może powodować niedostateczną blokadę transmisji sygnału [23]. Obecnie znane są już odwracalne inhibitory aktywne zarówno w stosunku do homodimerów HER1-HER1 jak i heterodimerów HER1-HER2, a ich przedstawicielem jest lapatynib stosowany w leczeniu chorych na raka piersi z nadekspresją receptora HER2 [38].

W różnych fazach badań klinicznych znajdują się także związki z grupy nieodwracalnych inhibitorów kinazy EGFR, które wiążą się kowalentnie z cysteiną w miejscu Cys-733 centrum aktywnego enzymu, trwale go unieczyniając. W ten sposób wznowienie transmisji przez EGFR jest możliwe dopiero po zsyntetyzowaniu nowych białek receptorowych. Znane nieodwracalne inhibitory EGFR hamują transmisję sygnału po utworzeniu zarówno homodimerów HER1-HER1, jak i heterodimerów HER1-HER2 oraz – w przeciwieństwie do odwracalnych inhibitorów – są aktywne również wobec zmutowanych postaci EGFR, dzięki czemu są niezależne od aktywacji wyżej opisanych mechanizmów oporności lekowej [27]. Największe nadzieje wiąże się z cząsteczką BIBW 2992 (afatynib), która jest w III fazie badań klinicznych oceniających jej skuteczność w niedrobnokomórkowym raku płuca [51]. Inne nieodwracalne inhibitory HER1 i HER2 to: HKI-272 (neratynib), PF00299804, EKB-569 [10] i CI1033 [27].

Inhibitory VEGFR

Bardzo istotny z punktu widzenia patogenezy nowotworów jest proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych, które mają dostarczać komórkom nowotworowym tlenu i substancji odżywczych, przyczyniając się tym samym do wzrostu guza, naciekania tkanek sąsiadujących i tworzenia

przerzutów. Zahamowanie angiogenezy powinno zatem spowodować ograniczenie wzrostu i czasu przeżycia nowotworu oraz przyczynić do normalizacji unaczynienia wewnątrz guza, poprawiając przenikanie jednocześnie stosowanych cytostatyków. Uwarunkowania postępu angiogenezy dotyczą przede wszystkim mutacji w obrębie onkogenów odpowiadających za biosyntezę substancji, takich jak VEGF, TGF i FGF. Mutacje te powodują, że komórki zmienione nowotworowo nabywają zdolności do nasilonej syntezy tych czynników wzrostu, które dyfundują w pobliżu receptorów umiejscowionych na powierzchni komórek naczyń dając im sygnał do proliferacji, co skutkuje wzrostem łożyska naczyniowego. Celem molekularnej terapii przeciwnowotworowej stały się więc kinazy tyrozynowe receptorów znajdujących się na powierzchni komórek śródbłonna, które wchodzi w interakcje z wymienionymi czynnikami, głównie z VEGF. W grupie leków antyangiogennych potwierdzoną skutecznością terapeutyczną ma sorafenib, który jest inhibitorem aktywności kilku kinaz, tj.: VEGFR, FGFR, PDGFR, c-KIT oraz FLT3 oraz stosowany jest w raku wątrobowokomórkowym i nerkowokomórkowym [92]. W terapii chorych na raka nerkowokomórkowego kliniczne zastosowanie znalazł także sunitynib. Jego działanie polega na blokowaniu receptorów PDGFR- α , PDGFR- β , VEGFR1, 2, 3, oraz c-KIT. Sunitynib stosowany jest również jako lek II rzutu w przerzutowych nowotworach wywodzących się z podścieliska przewodu pokarmowego w przypadku przeciwwskazań do leczenia imatynibem lub w przypadku niepowodzenia takiego leczenia [25,92]. Ponadto w styczniu 2012 FDA, a w maju 2012 EMA zatwierdziły kolejną cząsteczkę o nazwie aktytynib, skierowaną przeciwko VEGFR-1, 2, 3, PDGFR oraz c-KIT [105], która podobnie jak sunitynib i sorafenib stosowana jest w leczeniu chorych na raka nerkowokomórkowego [28]. Najnowszym inhibitorem kinazy tyrozynowej receptorów VEGF1 i VEGF2, PDGFR i c-KIT jest natomiast pazopanib, który w kwietniu 2012 zatwierdzony został przez FDA w terapii chorych na zaawansowanego mięsaka tkanek miękkich, a stosowany jest także w leczeniu chorych z zaawansowanym rakiem nerkowokomórkowym [92,98]. Z kolei inna cząsteczka o nazwie watalanib, która jest inhibitorem kinazy tyrozynowej receptorów VEGF1 i VEGF2, PDGFR i c-KIT, jest już w III fazie badań klinicznych oceniających jej skuteczność u pacjentów z rozsianym nowotworem jelita grubego [88]. Trwa również szeroki program badawczy dotyczący zastosowania cząsteczki BIBF 1120, która hamuje jednocześnie trzy receptorowe kinazy tyrozynowe, biorące udział w angiogenezie: VEGFR, PDGFR i FGFR [39]. Program ten obejmuje ocenę przydatności BIBF 1120 w leczeniu chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (faza III) [57], raka jajnika (faza III) [58], raka wątrobowokomórkowego (faza II) [1] i raka jelita grubego (faza II) [11].

Inhibitory BCR-ABL

Białka BCR-ABL stanowią grupę białek fuzyjnych, niezbędnych do przeżycia komórek nowotworowych przewlekłej białaczki mieloblastycznej oraz nowotworów wywodzących się z podścieliska przewodu pokarmowego (GIST). Synteza i aktywność enzymatyczna białek BCR-ABL jest następstwem defektu molekularnego powstałego w wyniku translokacji między fragmentami chromosomów, z utworzeniem tzw. chromosomu Philadelphia. Prawidłowe białko

ABL jest kinazą tyrozynową odpowiedzialną za różnicowanie, podział, adhezję i zdolności naprawcze komórek. W wyniku translokacji w pobliże fragmentu BCR nowo powstały gen przestaje podlegać procesom regulacji komórkowej, a kodowana przezeń konstitutywnie aktywna kinaza BCR-ABL pobudza rozliczne ścieżki przesyłu informacji, takie jak Ras/Raf/MEK/ERK oraz PI3/Akt/mTOR, powodując niekontrolowaną proliferację i blokadę procesów naprawy DNA [35,45,48,52].

W praktyce klinicznej szerokie zastosowanie w leczeniu chorych na białaczkę szpikową, ostrą białaczkę limfoblastyczną z chromosomem Philadelphia, a także GIST znalazł imatynib (pochodna piperazyny), który wiąże się z nieaktywną postacią kinazy BCR-ABL w miejscu wiązania ATP tworząc kompleks inhibitor-kinaza stabilizowany sześcioma wiązaniami wodorowymi oraz oddziaływaniami van der Waalsa, uniemożliwiając dalszą fosforylację białek. Imatynib oprócz zahamowania aktywności BCR-ABL, blokuje również kinazę c-KIT oraz receptory kinaz tyrozynowych czynnika wzrostu PDGF [22,48,66], które są produktami białkowymi protoonkogenów, których mutacje obserwuje się w przebiegu GIST [62]. Niestety dość częstym zjawiskiem jest rozwój oporności na imatynib. U podłoża tego procesu leżą rozliczne mechanizmy adaptacyjne, takie jak: mutacje punktowe w obrębie domeny wiążącej ATP, amplifikacja genu BCR-ABL, nadekspresja glikoproteiny P lub uruchomienie alternatywnego sposobu transmisji sygnału w wyniku ewolucji klonalnej. Stało się to przyczyną poszukiwań skuteczniejszych inhibitorów, niezależnych od wyżej wymienionych mechanizmów adaptacyjnych.

Do leków z grupy inhibitorów BCR-ABL nowej generacji należą dazatynib, nilotynib i bozutinib, stosowane w terapii przewlekłej białaczki szpikowej [48]. Nilotynib chemicznie jest pochodną anilinopiryminy. Badania krystalograficzne kompleksu nilotynib-kinaza docelowo potwierdziły lepsze dopasowanie przestrzenne tego inhibitora do białka BCR-ABL, co wskazuje, iż charakteryzuje się on większym powinowactwem do swego celu molekularnego oraz 30-krotnie zwiększoną siłą działania w porównaniu z imatynibem. Ponadto związek ten okazał się skuteczny również wobec zmutowanych domen kinazy BCR-ABL wiążących ATP, dzięki czemu nie dotyczą go problemy związane z lekoopornością [35,45,48]. Drugi inhibitor kinazy BCR-ABL nowej generacji – dazatynib pod względem chemicznym jest pirydyno[2,3-d]pirymidyną. Należy on do podwójnych inhibitorów ABL-Src. Blokuje kinazę BCR-ABL w obydwu konformacjach (aktywnej i nieaktywnej) z niemal 300-krotnie większą siłą niż imatynib, a jego działanie jest niezależne od mutacji punktowych w obrębie domen kinazy BCR-ABL wiążących ATP. Dazatynib wykazuje działanie hamujące wobec następujących grup kinaz: BCR-ABL, Src, c-KIT, PDGFR i EPH [24,68]. Z kolei najnowszą cząsteczką z grupy podwójnych inhibitorów ABL-Src jest bosutinib, zaaprobowany we wrześniu 2012 roku przez FDA w terapii chorych na przewlekłą białaczkę szpikową w przypadku nietolerancji lub niepowodzenia wcześniejszego leczenia [48,97].

Poza dazatynibem i bosutinibem, do podwójnych inhibitorów ABL-Src należą następujące cząsteczki: saracatynib, PD166326, PD173955, PD180970, których skuteczność

przeciwnowotworowa jest oceniana w początkowych fazach badań klinicznych [59].

Hamowanie przekazywania sygnałów przez cytoplazmatyczne przekaźniki drugiego rzędu

Inhibitory szlaku Ras/Raf/MEK/ERK

Mutacje szlaku Ras/Raf/MEK/ERK zaobserwowano w około 30% nowotworów, w tym w raku jelita grubego, w niedrobnokomórkowym raku płuca oraz trzustki. Stąd zainteresowanie poszczególnymi ogniwami tej ścieżki transmisji sygnału jako potencjalnymi celami molekularnymi w leczeniu przeciwnowotworowym [91]. Opracowane w tym zakresie metody terapeutyczne obejmują: terapię antysensowną, inhibicję farnesylotransferazy Ras oraz inhibicję kinazy BRAF i MEK.

Terapia antysensowna

W celu wyciszenia ekspresji genów związanych z aktywnością szlaku Ras/Raf/MEK/ERK skonstruowane zostały antysensowne oligonukleotydy ISIS 2503 oraz ISIS 5132, których sekwencja jest komplementarna do sekwencji docelowego fragmentu mRNA kodującego odpowiednie białka biorące udział w transmisji sygnału. Antysensy łączą się z mRNA gospodarza całkowicie blokując translację z jego udziałem. Oligonukleotyd ISIS 2503 wiąże się z fragmentem mRNA odpowiedzialnym za translację cząsteczki H-Ras, z kolei ISIS 5132 jest inhibitorem ekspresji kinazy c-Raf-1 [94]. ISIS 5132 był testowany klinicznie w badaniach II fazy pod względem jego przydatności w terapii chorych na raka jelita grubego, jednak nie wykazał zadowalającą skuteczność [16]. Podobnie ISIS 2503 przeszedł II fazę badań klinicznych oceniających jego skuteczność i bezpieczeństwo u pacjentów z rakiem trzustki i jelita grubego. Obecnie wstrzymano dalsze badania tego związku [31].

Inhibitory farnesylotransferazy Ras

Farnesylotransferaza Ras jest enzymem uczestniczącym w modyfikacji potranslacyjnej białek Ras jako katalizator prenylacji, w wyniku której nabywają one zdolności do zakotwiczenia w błonie komórkowej. Ze względu na istotne znaczenie białka Ras w kancerogenezie, inhibicja tego enzymu stanowi potencjalny cel w terapii molekularnej. Znanymi inhibitorami farnesylotransferazy Ras są tipifarnib (pochodna metylochinoliny) oraz lonafarnib, których skuteczność przeciwnowotworowa jest na etapie oceny w odpowiednich badaniach klinicznych [12].

Inhibitory RAF i MEK

Informacja z białka Ras jest dalej przenoszona na białka typu RAF, wśród których można wyróżnić: ARAF, BRAF i CRAF. Warto podkreślić, że mutacje genu BRAF występują u około 7% ludzkich nowotworów złośliwych i z tego powodu na tym poziomie transmisji to właśnie BRAF stał się głównym celem molekularnej terapii przeciwnowotworowej [47]. Najważniejszym i budzącym największe nadzieje inhibitorem kinazy serynowo-treoninowej BRAF, który w 2011 r. uzyskał pozwolenie na wprowadzenie do obrotu jest wemurafenib, stosowany w monoterapii dorosłych

chorych na nieresekcyjnego lub przerzutowego czerniaka, wykazującego mutacje genu BRAF [13]. W kręgu zainteresowań onkologii celowanej molekularnie znajduje się także kolejne ogniwo ścieżki Ras/RAF/MEK/ERK – kinaza MEK. Pierwszym allosterycznym inhibitorem tego białka, który wykazał w badaniach *in vivo* właściwości hamujące wzrost komórek nowotworowych był CI-1040, nad którym badania zakończono na etapie II fazy [47]. Z kolei w kwietniu 2011 ogłoszono wyniki II fazy badań dotyczących skuteczności i bezpieczeństwa selektywnego, niekompetycyjnego z ATP inhibitora MEK1/2 – selumetinibu stosowanego w leczeniu chorych z rakiem przewodów żółciowych. Ze względu na bardzo obiecujące wyniki, rekomendowano dalsze badania tego leku [86]. Ponadto w ramach międzynarodowego programu badań klinicznych III fazy trwają próby lekowe nad skutecznością i bezpieczeństwem cząsteczki GSK 1120212 w leczeniu czerniaka u pacjentów z mutacją genu BRAF, która za pośrednictwem mechanizmu niekompetycyjnej inhibicji blokuje aktywność kinazy MEK1/2 [33].

Inhibitory szlaku PI3K/Akt/mTOR

Transmisja sygnału za pośrednictwem PI3K/Akt/mTOR odgrywa istotną rolę w regulacji procesów związanych z przeżyciem i proliferacją komórek. Nadmierna aktywność białek tego szlaku w przebiegu różnych nowotworów związana jest z amplifikacją bądź mutacją genów kodujących białka Akt, PI3K oraz delecją lub mutacją genu PTEN. Nadekspresja Akt wpływa na zahamowanie apoptozy, promowanie migracji oraz regulację angiogenezy przyczyniając się w ten sposób do progresji nowotworowej. Z tego powodu cząsteczki mające zdolność modyfikowania aktywności szlaku PI3K/Akt/mTOR mają potencjalne działanie przeciwnowotworowe [49].

Inhibitory PI3K

Do inhibitorów PI3K należą wortmanina oraz LY 294002. Wortmanina jest nieodwracalnym inhibitorem kinazy PI3K, którego miejscem wiązania jest domena wiążąca ATP. Jej potencjalne zastosowanie w leczeniu utrudnia jednak słaba rozpuszczalność w wodzie i niewielka stabilność w roztworach [42,69]. LY 294002 z kolei jest morfolinową pochodną kwercetyny, a czynnikiem ograniczającym wykorzystanie tej cząsteczki jest konieczność stosowania wysokich stężeń powodujących stany zapalne [42,102].

Inhibitory Akt

W grupie inhibitorów kinazy Akt najbardziej zaawansowane próby kliniczne dotyczą możliwości wykorzystania alkilofosfolipidu – perifosyny [46,49] w terapii wspomagającej u chorych ze szpiczakiem mnogim [49] oraz u dzieci w leczeniu guzów litych [73]. Innym znanym inhibitorem Akt, będącym na etapie I fazy badań klinicznych w populacji chorych z nowotworami hematologicznymi jest syntetyczny trójcykliczny nukleozyd – tricytrybina [49]. Do allosterycznych inhibitorów Akt należy natomiast cząsteczka MK-2206 [49]. Istnieją również selektywne allosteryczne inhibitory Akt rozróżniające izoformy Akt1 i Akt2. Są to pochodne chinoksaliny i naftyrydyny [49,53], jednak nie prowadzi się w tej chwili badań klinicznych z ich wykorzystaniem. Ponadto do grupy pośrednich inhibitorów Akt

należy 7-hydroksystaurosporyna, która zapobiega fosforylacji Akt poprzez blokowanie kinazy PDK1 [85].

Inhibitory mTOR

Antybiotyk makrolidowy – rapamycyna (sirolimus) oraz jej pochodne (temsirolimus i everolimus) są inhibitorami kinazy serynowo-treoninowej mTOR. Związki te działają antyproliferacyjnie i antyangiogenicznie. Hamują wzrost i namnażanie komórek guza, komórek śródbłonna, fibroblastów i komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych [71]. Zakłada się dwustopniowy mechanizm działania rapamycyny polegający na tworzeniu w pierwszym etapie kompleksu rapamycyna-białko akceptorowe FKBP12 oraz hamowaniu aktywności mTOR przez utworzony kompleks w drugim etapie. Następuje wówczas zahamowanie aktywności białek efektorowych mTOR (p70S6K oraz 4E-BP1), akumulacja komórek w fazie G1 cyklu komórkowego oraz indukcja apoptozy [32]. Jak dotąd zastosowanie w praktyce klinicznej znalazły dwa leki z tej grupy: everolimus, ze wskazaniem w leczeniu chorych na zaawansowanego raka piersi z ekspresją receptorów hormonalnych, bez ekspresji HER2/neu, chorych na nowotwory neuroendokrynne trzustki oraz chorych na zaawansowanego raka nerkowokomórkowego, a także temsirolimus – stosowany w leczeniu pacjentów z zaawansowanym rakiem nerkowokomórkowym, bądź opornym chłoniakiem z komórek płaszczka [78,108].

Perspektywy rozwoju terapii z zastosowaniem inhibitorów szlaku PI3K/Akt/mTOR

Dalsze badania rozwojowe nad regulacją aktywności szlaku PI3K/Akt/mTOR dotyczą możliwości zastosowania jego wielopoziomowej inhibicji, takiej jak kojarzenie inhibitorów Akt z inhibitorami mTOR. W testach przedklinicznych obserwowano synergizm działania rapamycyny z LY294002 oraz indukcję autofagii komórek nowotworowych zarówno w rapacynowrażliwych, jak i w rapamycynoopornych komórkach glejaka z dużo większą skutecznością niż w przypadku stosowania tych związków osobno [93]. Poszukuje się również inhibitorów wielokinazowych, np. niedawno odkryta cząsteczka PI-103 hamująca w badaniach *in vitro* jednocześnie dwie kinazy PI3K oraz mTOR. Jej działanie potwierdzono w testach przedklinicznych z wykorzystaniem linii komórek glejaka, opornych na gefitynib, komórek niedrobnokomórkowego raka płuca oraz ludzkich komórek białaczkowych [29,72,111].

BIĄŁKA ADHEZYJNE JAKO CEL TERAPII MOLEKULARNIE CELOWANEJ

Adhezja komórek jest dynamicznym procesem, warunkującym organizację komórek w struktury wyższego rzędu, takie jak tkanki i narządy, wpływającym na modulację przesyłu sygnału. Białkowe cząsteczki adhezyjne tzw. CAMs, do których należą kadheryny, integryny (N-, E-, P-) i selektyny uczestniczą w komunikacji komórek z macierzą zewnątrzkomórkową oraz pośredniczą w oddziaływaniach między komórkami, odgrywając istotną rolę w regulacji, takich procesów jak wzrost, różnicowanie i migracja. Kadheryny tworzą międzykomórkowe połączenia przylegania, a ich zmniejszona ekspresja w przebiegu chorób nowotworowych jest związana ze wzrostem inwazyjności i potencjału przerzutowego komórek nowotworowych. Również osłabienie oddziaływań komórek z macierzą

zewnątrzkomórkową, za które odpowiedzialna jest grupa białek zwana integrzynami, jest czynnikiem warunkującym inwazję i przerzutowanie. Integryny są głównymi przekaznikami informacji między komórkami i uczestniczą w przekazywaniu sygnałów do wnętrza oraz na zewnątrz komórki. Stymulują kinazę P3IK i białko Ras oraz pośredniczą w inicjacji fosforylacji kinaz zależnych od czynników wzrostu, modyfikując w ten sposób oddziaływania adhezyjne oraz wpływając na przeżycie, różnicowanie i migrację [60]. Pełnią także istotne funkcje w patologicznym procesie rozrostu naczyń (integryna $\alpha 5\beta 1$) [26]. Farmakologiczne zahamowanie aktywności integrzyn jest przykładem terapii antyangiogenicznej, której skuteczność jest wciąż oceniana w badaniach klinicznych. Znane inhibitory integrzyn to:

- **przeciwciała monoklonalne:** Vitaxin i Abergin, dla których badania kliniczne zawieszono ze względu na niezadowalającą skuteczność terapeutyczną [65,74]; cząsteczka o nazwie CNTO95, która jest na etapie badań klinicznych [95] oraz Volociximab, który jest inhibitorem integryny $\alpha 5\beta 1$ i wkrótce ma zostać poddany dodatkowym próbom lekowym fazy II i III obejmującym schemat monoterapii oraz terapii skojarzonej w leczeniu chorych na czerniaka i niedrobnokomórkowego raka płuca [63,67];
- **peptydy:** cilengitide, który jest cyklicznym pentapeptydem, ocenianym w badaniach klinicznych pod względem skuteczności w terapii glejaka wielopostaciowego (z radioterapią i temozolomidem) u pacjentów z metylovanym i niemetylovanym promotorem genu MGMT. Próby kliniczne obejmują również ocenę jego skuteczności w skojarzonej terapii w przypadkach niedrobnokomórkowego raka płuca oraz płaskonabłonkowego raka głowy i szyi [63];
- **pochodne sulfonamidowe:** doustny inhibitor o nazwie E7820, który hamuje aktywność integrzyn poprzez regulację ich ekspresji na powierzchni komórek. Trwa badanie kliniczne fazy Ib i II oceniające przydatność tej cząsteczki w skojarzonym z irinotekaniem leczeniu chorych na raka jelita grubego w terapii drugiego rzutu [30].

INNE LEKI PRZECIWNOWOTWOROWE UKIERUNKOWANE MOLEKULARNIE

Inhibitory kinaz Src

Oprócz opisanych wyżej receptorowych kinaz tyrozynowych, w cytosolu komórki eukariotycznej funkcjonują również niezwiązane z receptorami, tzw. cytoplazmatyczne kinazy tyrozynowe. Tworzą one rodzinę kinaz Src, które mogą być aktywowane zarówno przez szlak sygnalizacyjny czynników wzrostu, jak również przez receptory związane z białkiem G. Kinazy te odpowiadają za integrację sygnałów przekazywanych za pośrednictwem różnych mechanizmów transmisji, zainicjowanych pobudzeniem różnego typu receptorów i są *de facto* głównymi regulatorami funkcji komórki. Zaangażowane są m.in. w procesy proliferacji, różnicowania, migracji, przeżycia oraz angiogenezy [83]. Do inhibitorów kinaz Src należą: datatynib, pazopanib i saracatynib. Dwie pierwsze cząsteczki są podwójnymi inhibitorami kinazy Src i BCR-ABL i omówione zostały w akapicie dotyczącym inhibitorów BCR-ABL. Saracatynib również należy do grupy podwójnych inhibitorów tyrozynowych kinaz Src i BCR-ABL, których nadekspresję

obserwowano w białaczce szpikowej. Chemicznie jest to pochodna anilinochinazoliny, która blokując aktywność kinazy Src ogranicza jej wpływ na migrację, adhezję, proliferację, różnicowanie i przeżycie. Ponadto saracatinib zmniejsza wywoływaną przez kinazę Src, osteoblastyczną resorpcję kości, co może być bardzo korzystną właściwością, zwłaszcza w kontekście zapobiegania przerzutom do kości [36]. Trwają badania kliniczne II i III fazy dotyczące weryfikacji skuteczności saracatinibu w leczeniu chorych na raka jajnika [55], stercza [36] i trzustki [6].

Inhibitory kinazy białkowej C

Kinaza białkowa C (PKC) jest kinazą serynowo-treoninową biorącą udział w przekazywaniu sygnałów komórkowych w odpowiedzi na stymulację czynnikami wzrostu, takimi jak VEGF. Jej aktywność zależy od wtórnego przekaźnika informacji, jakim jest diacyloglicerol (DAG) (ryc. 1). Nadmierna aktywacja proangiogennych kaskad indukowanych przez PKC w ostrej białaczce szpikowej daje teoretyczne podstawy zastosowania inhibitorów tego enzymu, których przykładem jest enzastaurin, w terapii tej choroby. Enzastaurin to syntetyczna pochodna bisindolylmaleimidu, która łączy się z PKC w miejscu wiążącym ATP i blokuje indukowaną przez VEGF neoangiogenezę, hamując w ten sposób wzrost guza. W tej chwili trwają próby kliniczne oceniające skuteczność enzastaurinu w leczeniu chorych na ostrą białaczkę szpikową, raka jajnika i niedrobnokomórkowego raka płuca, a także chłoniaka pęcherzykowego i glejaka wielopostaciowego mózgu [34].

Inhibitory kinaz zależnych od cyklina

Regulacja cyklu komórkowego, podobnie jak transdukcja sygnału mitogenowego, jest uzależniona od procesów fosforylacji katalizowanych przez układ kinaz kontrolujących przebieg kolejnych etapów podziału komórek. Kinazy te w swej aktywnej postaci występują w postaci kompleksu z białkiem regulatorowym zwanym cyklina. Kompleks CDK-cyklina odpowiedzialny jest m.in. za aktywację i inaktywację białek docelowych uczestniczących w transkrypcji oraz za prawidłowe przejście komórki do następnej fazy cyklu komórkowego. Mutacje w obrębie genów kodujących CDK mogą prowadzić do zaburzeń proliferacji, co jest zjawiskiem sprzyjającym transformacji nowotworowej. Istotnie, w wielu nowotworach obserwowano nadmierną ekspresję CDK, co koreluje ze wzmożonym potencjałem proliferacyjnym zmutowanych komórek. W związku z powyższym celem terapii polegającej na blokowaniu CDK jest normalizacja lub zatrzymanie procesów podziałów komórkowych w tkance nowotworowej. Znane inhibitory kinaz zależnych od cyklina to flawopirydynol, inaczej zwany alvocidib, z grupy flawonoidów oraz seliciclib. Substancje te nie zostały jak dotąd dopuszczone do stosowania w lecznictwie i wciąż poddawane są badaniom klinicznym w różnych typach nowotworów [20,54,103].

Inhibitory cyklu komórkowego – inhibitory BCL-2

Programowana śmierć jest skomplikowanym procesem fizjologicznym regulowanym przez wiele anty- i proapoptycznych białek, takich jak BCL-2, BCL-X, BAX, BAD, BAK, których ilościowe zależności determinują losy komórki. W uproszczeniu: przewaga inhibitorów apoptozy, do

których należy białko BCL-2, przesuwają równowagę w kierunku proliferacji, z kolei przewaga promotorów (np. BAX) jest sygnałem do eliminacji komórki z ustroju. Nadmierna ekspresja czynników antyapoptycznych, charakterystyczna dla komórek zmienionych nowotworowo jest przyczyną zachwiania homeostazy między namnażaniem a śmiercią. Z tego powodu zahamowanie aktywności białek proproliferacyjnych, głównie BCL-2, stało się tematem rozważań w kontekście terapii przeciwnowotworowej. Do inhibitorów BCL-2 należą: obatoclox i navitoclox. Obatoclox jest w III fazie badań klinicznych oceniających jego właściwości farmakologiczne w terapii chorych na chłoniaki nieziarnicze oraz w terapii nawrotowych i opornych na leczenie guzów litych, chłoniaków i białaczek u dzieci i młodzieży [40,76]. Drugi inhibitor BCL-2 – navitoclox [106] jest obecnie w I fazie prób klinicznych oceniających jego bezpieczeństwo i profil farmakokinetyczny w terapii guzów litych oraz przewlekłej białaczki szpikowej [84,101]. Prowadzono także badania I i II fazy nad związkiem naturalnym, występującym jako barwnik w roślinach z gatunku *Gossypium* – gossypolem, oceniające możliwość jego wykorzystania w leczeniu płaskonabłonkowych nowotworów głowy i szyi [8], białaczki limfocytarnej [7] i raka kory nadnerczy [110].

Inhibitory proteasomu

Proteasom to wieloenzymatyczny kompleks złożony z proteaz, który odpowiada za wewnątrzkomórkową degradację białek regulatorowych i warunkuje utrzymanie homeostazy w komórce. Proteasom jest również aktywatorem jądrowego czynnika NF- κ B, związanego z syntezą białek antyapoptycznych, regulatorowych i adhezyjnych [5,112]. Wiadomo, że w komórkach nowotworowych proteasom ulega nadekspresji a jego funkcja jest nieodłącznie związana z proliferacją, angiogenezą i przerzutowaniem. Z tego względu stał się on kolejnym molekularnym celem leczenia przeciwnowotworowego [70]. W toku badań wykazano zwiększoną wrażliwość komórek nowotworowych na zahamowanie proteasomu w porównaniu do zdrowych komórek gospodarza. Zjawisko to tłumaczy się różnicami występującymi między komórkami zdrowymi a komórkami zmienionymi nowotworowo w szybkości proliferacji, wydajności wychwytu i szybkości inaktywacji swoistych inhibitorów [5,44,100]. W wyniku zahamowania aktywności enzymów związanych z proteasomem dochodzi również do wzrostu wrażliwości komórek nowotworowych na zastosowaną chemioterapię [37]. Inhibitorami proteasomu są związki syntetyczne, takie jak: aldehydy peptydowe, peptydowinylosulfidy i dipeptydy kwasu boronowego. Wśród tych ostatnich w terapii onkologicznej zastosowanie znalazł bortezomib stosowany w szpiczaku mnogim oraz w chłoniakach [2,81]. Z kolei inhibitorem drugiej generacji jest carfilzomib, zaaprobowany przez FDA w lipcu 2012 r. w leczeniu chorych na szpiczaka mnogiego [43,96].

Istnieją również inne grupy związków będących przedmiotem rozlicznych badań klinicznych, oceniających ich przydatność w leczeniu przeciwnowotworowym, w tym inhibitory metaloproteinaz (marimastat) [90], inhibitory białek opiekuńczych (geldamycyna) [9], inhibitory deacetylaz histonów (romidepsin, vorinostat) [82], inhibitory białka Smo w szlaku sygnalizacji Hedgehog (GDC-0499) [99] oraz inhibitor kinazy ALK (TAE 684) [89], których omówienie wybiega poza zakres niniejszej publikacji.

PODSUMOWANIE

Szybki i intensywny rozwój metod leczenia oraz systematyczne poszukiwania nowych, ważnych zaburzeń molekularnych w komórkach nowotworowych dają szansę maksymalizacji korzyści płynących z terapii celowanej molekularnie, również w połączeniu z konwencjonalną chemioterapią, radioterapią i chirurgią. Należy jednak pamiętać, że duża wybiórczość działania nowoczesnych leków onkologicznych

zawęża ich zakres zastosowania wyłącznie do konkretnej grupy nowotworów o określonych precyzyjnie cechach biologicznych. Dlatego bardzo ważną rolę w terapii chorób o podłożu onkologicznym odgrywa możliwość personalizacji leczenia, a więc właściwa selekcja chorych do danego programu terapeutycznego. Jest to bezpośrednio związane z koniecznością określenia biochemicznych i genetycznych czynników predykcyjnych, które byłyby podstawą kwalifikacji pacjentów do terapii celowanej molekularnie.

PIŚMIENICTWO

- [1] A phase II trial of nintedanib in Asian hepatocellular carcinoma patients. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00987935> (25.09.2012)
- [2] Adams J., Palombella V.J., Sausville E.A., Johnson J., Destree A., Lazarus D.D., Maas J., Pien C.S., Prakash S., Elliott P.J.: Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents. *Cancer Res.*, 1999; 59: 2615–2622
- [3] Adrián F.J., Ding Q., Sim T., Velentza A., Sloan C., Liu Y., Zhang G., Hur W., Ding S., Manley P., Mestan J., Fabbro D., Gray N.S.: Allosteric inhibitors of Bcr-abl-dependent cell proliferation. *Nat. Chem. Biol.*, 2006; 2: 95–102
- [4] Allen L.F., Sebolt-Leopold J., Meyer M.B.: CI-1040 (PD184352), a targeted signal transduction inhibitor of MEK (MAPKK). *Semin. Oncol.*, 2003; 30 (5 Suppl.16): 105–116
- [5] Almond J.B., Cohen G.M.: The proteasome: a novel target for cancer chemotherapy. *Leukemia*, 2002; 16: 433–443
- [6] Arcaroli J., Quackenbush K., Dasari A., Powell R., McManus M., Tan A.C., Foster N.R., Picus J., Wright J., Nallapareddy S., Erlichman C., Hidalgo M., Messersmith W.A.: Biomarker-driven trial in metastatic pancreas cancer: feasibility in a multicenter study of saracatinib, an oral Src inhibitor, in previously treated pancreatic cancer. *Cancer Medicine*, 2012; 1: 207–217
- [7] Balakrishnan K., Wierda W.G., Keating M.J., Gandhi V.: Gossypol, a BH3 mimetic, induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood*, 2008; 112: 1971–1980
- [8] Bauer J.A., Trask D.K., Kumar B., Los G., Castro J., Lee J.S., Chen J., Wang S., Bradford C.R., Carey T.E.: Reversal of cisplatin resistance with a BH3 mimetic, (-)-gossypol, in head and neck cancer cells: role of wild-type p53 and Bcl-xL. *Mol. Cancer Ther.*, 2005; 4: 1096–1104
- [9] Bedin M., Gaben A.M., Saucier C., Mester J.: Geldanamycin, an inhibitor of the chaperone activity of HSP90, induces MAPK-independent cell cycle arrest. *Int. J. Cancer*, 2004; 109: 643–652
- [10] Belani C.P.: The role of irreversible EGFR inhibitors in the treatment of non-small cell lung cancer: overcoming resistance to reversible EGFR inhibitors. *Cancer Invest.*, 2010; 28: 413–423
- [11] BIBF 1120 versus bevacizumab in metastatic colorectal cancer. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00904839> (25.09.2012)
- [12] Caponigro F., Casale M., Bryce J.: Farnesyl transferase inhibitors in clinical development. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2003; 12: 943–954
- [13] Chapman P.B., Hauschild A., Robert C., Haanen J.B., Ascierto P., Larkin J., Dummer R., Garbe C., Testori A., Maio M., Hogg D., Lorigan P., Lebbe C., Jouary T., Schadendorf D., Ribas A., O'Day S.J., Sosman J.A., Kirkwood J.M., Eggermont A.M., Dreno B., Nolop K., Li J., Nelson B., Hou J., Lee R.J., Flaherty K.T., McArthur G.A., BRIM-3 Study Group: Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 2507–2516
- [14] Cohen M.S., Zhang C., Shokat K.M., Taunton J.: Structural bioinformatics-based design of selective, irreversible kinase inhibitors. *Science*, 2005; 308: 1318–1321
- [15] Comis R.L.: The current situation: erlotinib (Tarceva®) and gefitinib (Iressa®) in non-small cell lung cancer. *Oncologist*, 2005; 10: 467–470
- [16] Cripps M.C., Figueredo A.T., Oza A.M., Taylor M.J., Fields A.L., Holmlund J.T., McIntosh L.W., Geary R.S., Eisenhauer E.A.: Phase II randomized study of ISIS 3521 and ISIS 5132 in patients with locally advanced or metastatic colorectal cancer. A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study. *Clin. Cancer Res.*, 2002; 8: 2188–2192
- [17] Crombet-Ramos T., Rak J., Perez R., Viloria-Petit A.: Antiproliferative, antiangiogenic and proapoptotic activity of h-R3: A humanized anti-EGFR antibody. *Int. J. Cancer*, 2002; 101: 567–575
- [18] Czyż M., Jakubowska J.: STI571 – terapia celowana. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 677–696
- [19] Dancey J., Sausville E.A.: Issues and progress with protein kinase inhibitors for cancer treatment. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2003; 2: 296–313
- [20] De Azevedo W.F., Leclerc S., Meijer L., Havlicek L., Strnad M., Kim S.H.: Inhibition of cyclin-dependent kinases by purine analogues: crystal structure of human cdk2 complexed with roscovitine. *Eur. J. Biochem.*, 1997; 243: 518–526
- [21] de Bono J.S., Bellmunt J., Attard G., Droz J.P., Miller K., Flechon A., Sternberg C., Parker C., Zugmaier G., Hershberger-Gimenez V., Cockey L., Mason M., Graham J.: Open-label phase II study evaluating the efficacy and safety of two doses of pertuzumab in castrate chemotherapy-naïve patients with hormone-refractory prostate cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2007; 25: 257–262
- [22] Deininger M.W., Druker B.J.: Specific targeted therapy of chronic myelogenous leukemia with imatinib. *Pharmacol. Rev.*, 2003; 55: 401–423
- [23] Doebele R.C., Oton A.B., Peled N., Camidge D.R., Bunn P.A. Jr.: New strategies to overcome limitations of reversible EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2010; 69: 1–12
- [24] Duggrell S.A.: BMS-354825: novel drug with potential for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia. *Expert. Opin. Investig. Drugs*, 2005; 14: 89–91
- [25] Ebos J.M., Kerbel R.S.: Antiangiogenic therapy: impact on invasion, disease progression, and metastasis. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2011; 8: 210–221
- [26] Eliceiri B.P., Cheresh D.A.: The role of α v integrins during angiogenesis. *Mol. Med.*, 1998; 4: 741–750
- [27] Erlichman C., Boerner S.A., Hallgren C.G., Spieker R., Wang X.Y., James C.D., Scheffer G.L., Maliepaard M., Ross D.D., Bible K.C., Kaufmann S.H.: The HER tyrosine kinase inhibitor C11033 enhances cytotoxicity of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin and topotecan by inhibiting breast cancer resistance protein-mediated drug efflux. *Cancer Res.*, 2001; 61: 739–748
- [28] European Medicines Agency: Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) summary of positive opinion for Inlyta, 2012: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002406/WC500127761.pdf
- [29] Fan Q.W., Knight Z.A., Goldenberg D.D., Yu W., Mostov K.E., Stokoe D., Shokat K.M., Weiss W.A.: A dual PI3 kinase/mTOR inhibitor reveals emergent efficacy in glioma. *Cancer Cell*. 2006; 9: 341–349
- [30] Funahashi Y., Sugi N.H., Semba T., Yamamoto Y., Yamamoto Y., Hamaoka S., Tsukahara-Tamai N., Ozawa Y., Tsuruoka A., Nara K., Takahashi K., Okabe T., Kamata J., Owa T., Ueda N., Haneda T., Yonaga M., Yoshimatsu K., Wakabayashi T.: Sulfonamide derivative, E7820, is a unique angiogenesis inhibitor suppressing an expression of integrin α 2 subunit on endothelium. *Cancer Res.*, 2002; 62: 6116–6123
- [31] Gemcitabine and ISIS 2503 in treating patients with advanced or metastatic cancer of the pancreas. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00006467> (25.09.2012)
- [32] Ghobrial I.M., Witzig T.E., Adjei A.A.: Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J. Clin.*, 2005; 55: 178–194
- [33] Gilmartin A.G., Bleam M.R., Groy A., Moss K.G., Minthorn E.A., Kulkarni S.G., Rominger C.M., Erskine S., Fisher K.E., Yang J., Zappacosta F., Annan R., Sutton D., Laquerre S.G.: GSK1120212 (JTP-74057) is an inhibitor of MEK activity and activation with favorable pharmacokinetic properties for sustained *in vivo* pathway inhibition. *Clin. Cancer Res.*, 2011; 17: 989–1000
- [34] Graff J.R., McNulty A.M., Hanna K.R., Konicek B.W., Lynch R.L., Bailey S.N., Banks C., Capen A., Goode R., Lewis J.E., Sams L., Huss K.L., Campbell R.M., Iversen P.W., Neubauer B.L., Brown T.J., Musib L., Geeganage S., Thornton D.: The protein kinase C β -selective inhibitor, enzastaurin (LY317615*HCl), suppresses signaling through the AKT pathway, induces apoptosis, and suppresses growth of human colon cancer and glioblastoma xenografts. *Cancer Res.*, 2005; 65: 7462–7469

- [35] Grzybowska-Izydorczyk O., Góra-Tybor J., Robak T.: Inhibitory kinaz tyrozynowych w terapii przewlekłej białaczki szpikowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 490–497
- [36] Hannon R.A., Clack G., Rimmer M., Swaisland A., Lockton J.A., Finkelman R.D., Eastell R.: Effects of the Src kinase inhibitor saracatinib (AZD0530) on bone turnover in healthy men: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-ascending-dose phase I trial. *J. Bone Miner. Res.*, 2010; 25: 463–471
- [37] Hideshima T., Richardson P., Chauhan D., Palombella U.J., Elliott P.J., Adams J., Anderson K.C.: The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells. *Cancer Res.*, 2001; 61: 3071–3076
- [38] Higa G.M., Abraham J.: Lapatinib in the treatment of breast cancer. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2007; 7: 1183–1192
- [39] Hilberg F., Roth G.J., Krssak M., Kautschitsch S., Sommergruber W., Tontsch-Grunt U., Garin-Chesa P., Bader G., Zoepfel A., Quant J., Heckel A., Rettig W.J.: BIBF 1120: triple angiokinas inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer Res.*, 2008; 68: 4774–4782
- [40] Hwang J.J., Kuruvilla J., Mendelson D., Pishvaian M.J., Deeken J.F., Siu L.L., Berger M.S., Viallet J., Marshall J.L.: Phase I dose finding studies of obatoclax (GX15-070), a small molecule pan-BCL-2 family antagonist, in patients with advanced solid tumors or lymphoma. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 4038–4045
- [41] Imai K., Takaoka A.: Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer: comparison between mAbs and small-molecules. *Nat. Rev. Cancer*, 2006; 6: 714–727
- [42] Jakubowicz-Gil J.: Inhibitory szlaku PI3-Akt/PKB-mTOR w leczeniu glejaków. *Post. Biol. Kom.*, 2009; 36: 189–201
- [43] Khan M.L., Stewart A.K.: Carfilzomib: a novel second-generation proteasome inhibitor. *Future Oncol.*, 2011; 7: 607–612
- [44] Kisselev A.F., Goldberg A.L.: Proteasome inhibitors: from research tools to drug candidates. *Chem. Biol.*, 2001; 8: 739–758
- [45] Klein A., Kisielewska J.: Tyrfostry. Drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych. *Post. Biol. Kom.*, 2007; 34: 477–494
- [46] Kondapaka S.B., Singh S.S., Dasmahapatra G.P., Sausville E.A., Roy K.K.: Perifosine, a novel alkylphospholipid, inhibits protein kinase B activation. *Mol. Cancer Ther.*, 2003; 2: 1093–1103
- [47] Kosela H., Świtaj T., Rutkowski P.: Zastosowanie inhibitorów BRAF i MEK w terapii zaawansowanego czerniaka. *Onkol. Prak. Klin.*, 2011; 7: 246–253
- [48] Kosior K., Lewandowska-Grygiel M., Giannopoulos K.: Inhibitory kinazy tyrozynowej w rozrostowych chorobach układu krwiotwórczego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 819–828
- [49] Krześlak A.: Kinaza Akt: kluczowy regulator metabolizmu i progresji nowotworów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 490–503
- [50] Lam C., Bouffet E., Bartels U.: Nimotuzumab in pediatric glioma. *Future Oncol.*, 2009; 5: 1349–1361
- [51] Levitan D.: ASCO 2012 Lung Cancer – Conference Report: Afatinib Improves PFS, Quality of Life in EGFR Mutation-Positive Lung Cancer, 2012
- [52] Levitzki A., Mishani E.: Tyrphostins and other tyrosine kinase inhibitors. *Ann. Rev. Biochem.*, 2006; 75: 93–109
- [53] Li Y., Liang J., Siu T., Hu E., Rossi M.A., Barnett S.F., Defeo-Jones D., Jones R.E., Robinson R.G., Leander K., Huber H.E., Mittal S., Cosford N., Prasit P.: Allosteric inhibitors of Akt1 and Akt2: discovery of [1,2,4]triazolo[3,4-f][1,6]naphthyridines with potent and balanced activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2009; 19: 834–836
- [54] Lin T.S., Fischer B., Blum K.A., Brooker-McEldowney M., Moran M.E., Andritsos L.A., Flynn J.M., Phelps M.A., Dalton J.T.: Flavopiridol (alvocidib) in chronic lymphocytic leukemia. *Hematol. Meeting Reports*, 2008; 2: 112–119
- [55] Liu K.J., He J.H., Su X.D., Sim H.M., Xie J.D., Chen X.G., Wang F., Liang Y.J., Singh S., Sodani K., Talele T.T., Ambudkar S.V., Chen Z.S., Wu H.Y., Fu L.W.: Saracatinib (AZD0530) is a potent modulator of ABCB1-mediated multidrug resistance *in vitro* and *in vivo*. *Int. J. Cancer.*, 2013; 132: 224–235
- [56] Liu Y., Gray N.S.: Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nat. Chem. Biol.*, 2006; 2: 358–364
- [57] Lume Lung 2: BIBF 1120 plus pemetrexed compared to placebo plus pemetrexed in 2nd line nonsquamous NSCLC. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00806819> (25.09.2012)
- [58] LUME-Ovar 1: Nintedanib (BIBF 1120) or placebo in combination with paclitaxel and carboplatin in first line treatment of ovarian cancer. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01015118> (25.09.2012)
- [59] Manley P.W., Cowan-Jacob S.W., Mestan J.: Advances in the structural biology, design and clinical development of Bcr-Abl kinase inhibitors for the treatment of chronic myeloid leukaemia. *Biochim Biophys Acta*, 2005; 1754: 3–13
- [60] Mantur M., Wojszel J.: Cząsteczki adhezyjne oraz ich udział w procesie zapalnym i nowotworowym. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2008; 24: 177–180
- [61] Meira D.D., Almeida V.H., Mororo J.S., Caetano M.S., Nóbrega I.P., Batista D., Sternberg C., Ferreira C.G.: Efficient blockade of Akt signaling is a determinant factor to overcome resistance to matuzumab. *Mol. Cancer*, 2011; 10: 151
- [62] Miettinen M., Lasota J.: Gastrointestinal stromal tumors: review on morphology, molecular pathology, prognosis, and differential diagnosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2006; 130: 1466–1478
- [63] Millard M., Odde S., Neamati N.: Integrin targeted therapeutics. *Theranostics*, 2011; 1: 154–188
- [64] Moore M.J., Goldstein D., Hamm J., Figer A., Hecht J.R., Gallinger S., Au H.J., Murawa P., Walde D., Wolff R.A., Campos D., Lim R., Ding K., Clark G., Voskoglou-Nomikos T., Ptasynski M., Parulekar W.: National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group: Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J. Clin. Oncol.*, 2007; 25: 1960–1966
- [65] Mulgrew K., Kinneer K., Yao X.T., Ward B.K., Damschroder M.M., Walsh B., Mao S.Y., Gao C., Kiener P.A., Coats S., Kinch M.S., Tice D.A.: Direct targeting of $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ integrin on tumor cells with a monoclonal antibody, Abegrin. *Mol. Cancer Ther.*, 2006; 5: 3122–3129
- [66] Nagar B., Bornmann W.G., Pellicena P., Schindler T., Veach D.R., Miller W.T., Clarkson B., Kuriyan J.: Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571). *Cancer Res.*, 2002; 62: 4236–4243
- [67] Ng C.M., Bai S., Takimoto C.H., Tang M.T., Tolcher A.W.: Mechanism-based receptor-binding model to describe the pharmacokinetic and pharmacodynamic of an anti- $\alpha\text{5}\beta\text{1}$ integrin monoclonal antibody (volociximab) in cancer patients. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2010; 65: 207–217
- [68] O'Hare T., Walters D.K., Stoffregen E.P., Jia T., Manley P.W., Mestan J., Cowan-Jacob S.W., Lee F.Y., Heinrich M.C., Deininger M.W., Druker B.J.: *In vitro* activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. *Cancer Res.*, 2005; 65: 4500–4505
- [69] Okaichi K., Suzuki K., Morita N., Ikeda M., Takahashi H., Matsuda N., Watanabe M., Okumura Y.: Low dose of wortmannin reduces radiosensitivity of human glioblastoma cells through the p53 pathway. *Oncol. Rep.*, 2002; 9: 859–862
- [70] Palombella V.J., Rando O.J., Goldberg A.L., Maniatis T.: The ubiquitin-proteasome pathway is required for processing the NF- κB 1 precursor protein and the activation of NF- κB . *Cell*, 1994; 78: 773–785
- [71] Panner A., Parsa A.T., Pieper R.O.: Use of APO2L/TRAIL with mTOR inhibitors in the treatment of glioblastoma multiforme. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2006; 6: 1313–1322
- [72] Park S., Chapuis N., Bardet V., Tamburini J., Gally N., Willems L., Knight Z.A., Shokat K.M., Azar N., Viguie F., Ibrah N., Dreyfus F., Mayeux P., Lacombe C., Bouscary D.: PI-103, a dual inhibitor of Class IA phosphatidylinositol 3-kinase and mTOR, has antileukemic activity in AML. *Leukemia*, 2008; 22: 1698–1706
- [73] Perifosine with temsirolimus for recurrent pediatric solid tumors. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01049841> (25.09.2012)
- [74] Posey J.A., Khzaeli M., DelGrosso A., Saleh M.N., Lin C.Y., Huse W., LoBuglio A.F.: A pilot trial of Vitaxin, a humanized anti-vitronectin receptor (anti $\alpha\text{v}\beta\text{3}$) antibody in patients with metastatic cancer. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 2001; 16: 125–132
- [75] Powroźnik B., Kubowicz P., Pekała E.: Przeciwciała monoklonalne w terapii celowanej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 663–673
- [76] Rahmani M., Aust M.M., Attkisson E., Williams D.C. Jr., Ferreira-Gonzalez A., Grant S.: Inhibition of Bcl-2 antiapoptotic members by obatoclax potently enhances sorafenib-induced apoptosis in human myeloid leukemia cells through a Bim-dependent process. *Blood*, 2012; 119: 6089–6098
- [77] Ramakrishnan M.S., Eswaraiah A., Crombet T., Piedra P., Saurez G., Iyer H., Arvind A.S.: Nimotuzumab, a promising therapeutic monoclonal for treatment of tumors of epithelial origin. *MAbs.*, 2009; 1: 41–48
- [78] Ravaud A., Bernhard J.C., Gross-Goupil M., Digue L., Ferriere J.M.: mTOR inhibitors: temsirolimus and everolimus in the treatment of renal cell carcinoma. *Bull. Cancer*, 2010; 97: 45–51

- [79] Reeves T.D., Hill E.G., Armeson K.E., Gillespie M.B.: Cetuximab therapy for head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review of the data. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2011; 144: 676–684
- [80] Remesh A.: Toxicities of anticancer drugs and its management. *Int. J. Basic Clin. Pharmacol.*, 2012; 1: 2–12
- [81] Richardson P.G., Hideshima T., Anderson K.C.: Bortezomib (PS-341): a novel, first-in-class proteasome inhibitor for the treatment of multiple myeloma and other cancers. *Cancer Control*, 2003; 10: 361–369
- [82] Richon V.M., O'Brien J.P.: Histone deacetylase inhibitors: a new class of potential therapeutic agents for cancer treatment. *Clin. Cancer Res.*, 2002; 8: 662–664
- [83] Roskoski R. Jr.: Src kinase regulation by phosphorylation and dephosphorylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 331: 1–14
- [84] Rudin C.M., Hann C.L., Garon E.B., Ribeiro de Oliveira M., Bonomi P.D., Camidge D.R., Chu Q., Giaccone G., Khaira D., Ramalingam S.S., Ranson M.R., Dive C., McKeegan E.M., Chyla B.J., Dowell B.L., Chakravarty A., Nolan C.E., Rudersdorf N., Busman T.A., Mabry M.H., Krivosik A.P., Humerickhouse R.A., Shapiro G.I., Gandhi L.: Phase II study of single-agent navitoclax (ABT-263) and biomarker correlates in patients with relapsed small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2012; 18: 3163–3169
- [85] Sato S., Fujita N., Tsuruo T.: Interference with PDK1-Akt survival signaling pathway by UCN-01 (7-hydroxystaurosporine). *Oncogene*, 2002; 21: 1727–1738
- [86] Selumetinib in treating patients with biliary cancer that cannot be removed by surgery. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00553332> (25.09.2012)
- [87] Skoczek M., Grela-Wojewoda A., Rolski J.: Terapia celowana. Część II. Zastosowanie kliniczne leków hamujących aktywność kinazy tyrozynowej – przeciwciała monoklonalne. *Współczesna Onkologia*, 2008; 12: 363–369
- [88] Sobrero A.F., Bruzzi P.: Vatalanib in advanced colorectal cancer: two studies with identical results. *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29: 1938–1940
- [89] Soda M., Choi Y.L., Enomoto M., Takada S., Yamashita Y., Ishikawa S., Fujiwara S., Watanabe H., Kurashina K., Hatanaka H., Bando M., Ohno S., Ishikawa Y., Aburatani H., Niki T., Sohara Y., Sugiyama Y., Mano H.: Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*, 2007; 448: 561–566
- [90] Sparano J.A., Bernardo P., Stephenson P., Gradishar W.J., Ingle J.N., Zucker S., Davidson N.E.: Randomized phase III trial of marimastat versus placebo in patients with metastatic breast cancer who have responding or stable disease after first-line chemotherapy: Eastern Cooperative Oncology Group trial E2196. *J. Clin. Oncol.*, 2004; 22: 4683–4690
- [91] Steelman L.S., Chappell W.H., Abrams S.L., Kempf R.C., Long J., Laidler P., Mijatovic S., Maksimovic-Ivanic D., Stivala F., Mazzarino M.C., Donia M., Fagone P., Malaponte G., Nicoletti F., Libra M., Milella M., Tafuri A., Bonati A., Bäsecke J., Cocco L., Evangelisti C., Martelli A.M., Montalto G., Cervello M., McCubrey J.A.: Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging*, 2011; 3: 192–222
- [92] Szala S., Jarosz M.: Nowotworowe naczynia krwionośne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 437–446
- [93] Takeuchi H., Kondo Y., Fujiwara K., Kanzawa T., Aoki H., Mills G.B., Kondo S.: Synergistic augmentation of rapamycin-induced autophagy in malignant glioma cells by phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B inhibitors. *Cancer Res.*, 2005; 65: 3336–3346
- [94] Tamm I., Dörken B., Hartmann G.: Antisense therapy in oncology: new hope for an old idea? *Lancet*, 2001; 358: 489–497
- [95] Trikha M., Zhou Z., Nemeth J.A., Chen Q., Sharp C., Emmell E., Giles-Komar J., Nakada M.T.: CNTO 95, a fully human monoclonal antibody that inhibits αv integrins, has antitumor and antiangiogenic activity *in vivo*. *Int. J. Cancer*, 2004; 110: 326–335
- [96] U.S. Food and Drug Administration: Drug Approvals and Databases. Approved Drugs: Carfilzomib. <http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm312945.htm> (25.09.2012)
- [97] U.S. Food and Drug Administration: FDA News Release: FDA approves new orphan drug (bosutinib) for chronic myelogenous leukemia. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm318160.htm> (25.09.2012)
- [98] van der Graaf W.T., Blay J.Y., Chawla S.P., Kim D.W., Bui-Nguyen B., Casali P.G., Schöffski P., Aglietta M., Staddon A.P., Beppu Y., Le Cesne A., Gelderblom H., Judson I.R., Araki N., Ouali M., Marreard S., Hodge R., Dewji M.R., Coens C., Demetri G.D., Fletcher C.D., Dei Tos A.P., Hohenberger P., EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group, PALETTE study group: Pazopanib for metastatic soft-tissue sarcoma (PALETTE): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*, 2012; 379: 1879–1886
- [99] von Hoff D.D., LoRusso P.M., Rudin C.M., Reddy J.C., Yauch R.L., Tibes R., Weiss G.J., Borad M.J., Hann C.L., Brahmer J.R., Mackey H.M., Lum B.L., Darbonne W.C., Marsters J.C. Jr., de Sauvage F.J., Low J.A.: Inhibition of the hedgehog pathway in advanced basal-cell carcinoma. *N. Engl. J. Med.*, 2009; 361: 1164–1172
- [100] Voorhees P.M., Dees E.C., O'Neil B., Orlovski R.Z.: The proteasome as a target for cancer therapy. *Clin. Cancer Res.*, 2003; 9: 6316–6325
- [101] Walensky L.D.: From mitochondrial biology to magic bullet: navitoclax disarms BCL-2 in chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30: 554–557
- [102] Walker E.H., Pacold M.E., Perisic O., Stephens L., Hawkins P.T., Wymann M.P., Williams R.L.: Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Mol. Cell.*, 2000; 6: 909–919
- [103] Whittaker S.R., Te Poele R.H., Chan F., Linardopoulos S., Walton M.I., Garrett M.D., Workman P.: The cyclin-dependent kinase inhibitor seliciclib (R-roscovitine; CYC202) decreases the expression of mitotic control genes and prevents entry into mitosis. *Cell Cycle*, 2007; 6: 3114–3131
- [104] Wiczyńska B., Rolski J.: Terapia celowana. Część I. Zastosowanie kliniczne leków hamujących aktywność kinazy tyrozynowej. *Współczesna Onkologia*, 2007; 11: 331–337
- [105] Wilmes L.J., Pallavicini M.G., Fleming L.M., Gibbs J., Wang D., Li K.L., Partridge S.C., Henry R.G., Shalinsky D.R., Hu-Lowe D., Park J.W., McShane T.M., Lu Y., Brasch R.C., Hylton N.M.: AG-013736, a novel inhibitor of VEGF receptor tyrosine kinases, inhibits breast cancer growth and decreases vascular permeability as detected by dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Magn. Reson. Imaging*, 2007; 25: 319–327
- [106] Wilson W.H., O'Connor O.A., Czuczman M.S., LaCasce A.S., Gerecitano J.F., Leonard J.P., Tulpule A., Dunleavy K., Xiong H., Chiu Y.L., Cui Y., Busman T., Elmores S.W., Rosenberg S.H., Krivosik A.P., Enschede S.H., Humerickhouse R.A.: Navitoclax, a targeted high-affinity inhibitor of BCL-2, in lymphoid malignancies: a phase 1 dose-escalation study of safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and antitumor activity. *Lancet Oncol.*, 2010; 11: 1149–1159
- [107] Yoshimura N., Kudoh S., Kimura T., Mitsuoka S., Matsuura K., Hirata K., Matsui K., Negoro S., Nakagawa K., Fukuoka M.: EKB-569, a new irreversible epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, with clinical activity in patients with non-small cell lung cancer with acquired resistance to gefitinib. *Lung Cancer*, 2006; 51: 363–368
- [108] Zagouri F., Sergentanis T.N., Chrysikos D., Filipits M., Bartsch R.: mTOR inhibitors in breast cancer: a systematic review. *Gynecol Oncol.*, 2012 (w druku)
- [109] Zhang J., Yang P.L., Gray N.S.: Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nat. Rev. Cancer*, 2009; 9: 28–39
- [110] Zhang Y.S., Yuan J., Fang Z.Z., Tu Y.Y., Hu C.M., Li G., Wang L., Deng J.P., Yao J.J., Li H.R.: Gossypol exhibits a strong influence towards UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A1, 1A9 and 2B7-mediated metabolism of xenobiotics and endogenous substances. *Molecules*, 2012; 17: 4896–4903
- [111] Zou Z.Q., Zhang X.H., Wang F., Shen Q.J., Xu J., Zhang L.N., Xing W.H., Zhuo R.J., Li D.: A novel dual PI3K/mTOR inhibitor PI-103 with high antitumor activity in non-small cell lung cancer cells. *Int. J. Mol. Med.*, 2009; 24: 97–101
- [112] Zwickl P., Voges D., Baumeister W.: The proteasome: a macromolecular assembly designed for controlled proteolysis. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 1999; 354: 1501–1511

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.