

Received: 2012.04.10
Accepted: 2013.03.26
Published: 2013.08.02

Inhibitory deacetylaz histonów – mechanizmy działania na poziomie molekularnym i zastosowania kliniczne*

Histone deacetylase inhibitors – molecular mechanisms of actions and clinical applications

Aneta Grabarska¹, Magdalena Dmoszyńska-Graniczka¹, Ewa Nowosadzka¹, Andrzej Stepulak^{1,2}

¹ Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

² Oddział Otolaryngologii Szpitala MSW w Lublinie

Streszczenie

Deacetylazy histonów odgrywają znaczącą rolę w epigenetycznej regulacji ekspresji genów związanej z patogenezą nowotworów. Inhibitory deacetylaz histonów (HDI) rozważane są jako leki przeciwnowotworowe nowej generacji, indukujące wzmożoną acetylację histonów. Związki te modulują strukturę chromatyny, co prowadzi do zmian w ekspresji dużej liczby genów mających wpływ na szlaki sygnałowe, hamowanie przebiegu cyklu komórkowego oraz angiogenezy, czy indukcji apoptozy w komórkach nowotworowych. Obecnie wiele rodzajów HDI jest na etapie badań klinicznych w monoterapii lub w połączeniu z innymi cytostatykami. Dotąd ponad 15 związków o charakterze HDI zaakceptowano jako potencjalne leki przeciwnowotworowe. W pracy przedstawiono mechanizmy działania HDI na poziomie molekularnym i podsumowano przeprowadzone badania kliniczne dotyczące najbardziej obiecujących HDI w terapii pacjentów leczonych z powodu nowotworów pochodzenia hematologicznego oraz guzów litych.

Słowa kluczowe:

inhibitory deacetylaz histonów • cykl komórkowy • apoptoza • angiogeneza • badania kliniczne

Summary

Histone deacetylases (HDACs) play an important role in the epigenetic regulation of gene expression implicated in cancer pathogenesis. Inhibitors of HDACs (HDI) are under investigation as novel anti-cancer drugs, which induce histone hyperacetylation. These agents modulate chromatin structure leading to transcriptional changes of a very large number of genes, which affect signaling pathways, inhibit cell cycle progression and angiogenesis, and induce apoptosis in cancer cells. Currently, several HDI are in clinical trials used in monotherapy or in combination with other cytostatics, showing promising anticancer effects. To date, more than 15 HDIs have been found as potential drugs. This paper reviews the molecular mechanisms of HDI action on cancer cells and summarizes clinical trials of the most promising HDIs in the treatment of patients with hematologic malignancies and solid tumors.

Keywords:

histone deacetylase inhibitors • cell cycle • apoptosis • angiogenesis • clinical trials

* Pracę zrealizowano przy wsparciu grantu N N401 098839.

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1061381>

Word count: 5557

Tables: 2

Figures: –

References: 137

Adres autora: dr hab. n. med. Andrzej Stepulak, Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Witolda Chodźki 1, 20-093 Lublin; e-mail: andrzej.stepulak@umlub.pl

Wykaz skrótów: **ALL** – ostra białaczka limfocytowa (acute lymphocytic leukemia); **AML** – ostra białaczka szpikowa (acute myeloid leukemia); **BAK** – antagonist BCL-2 (BCL-2 antagonist/killer); **BAX** – białko X związane z BCL-2 (BCL-2 associated X protein); **BCL-2** – białko onkogenu białaczki 2 limfocytów B (oncogene B cell leukemia 2); **BCL-XL** – inhibitorowe białko apoptozy (B-cell lymphoma-extra large); **BID** – aktywatorowe białko proapoptotyczne z podrodziny BH3-only (BH3 interacting domain death antagonist); **BIM** – aktywatorowe białko proapoptotyczne z podrodziny BH3-only (BCL-2-interacting mediator of cell death); **BMF** – białko proapoptotyczne z podrodziny BH3-only (BCL-2 modifying factor); **c-IAP2** – komórkowy inhibitor apoptozy (cellular inhibitor of apoptosis protein 2); **c-FLIP** – białko FLIP komórkowe (cellular FLIP); **CDKs** – kinazy cyklinozależne (cyclin-dependent kinases); **CML** – przewlekła białaczka szpikowa (chronic myeloid leukemia); **CLL** – przewlekła białaczka limfocytowa (chronic lymphocytic leukemia); **CTCL** – skórna postać chłoniaka T-komórkowego (cutaneous T-cell lymphoma); **DLBCL** – chłoniak rozlany z dużych komórek B (diffuse large B-cell lymphoma); **FasL** – ligand receptora Fas (Fas ligand); **FasR** – receptor Fas (Fas receptor); **FDA** – Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration); **GBM** – glejak wielopostaciowy (glioblastoma multiforme); **HATs** – acetylotransferazy histonów (histone acetyltransferases); **HD** – ziarnica złośliwa (Hodgkin's disease); **HDACs** – deacetylazy histonów (histone deacetylases); **HDIs** – inhibitory deacetylaz histonów (histone deacetylase inhibitors); **HIF-1 α** – czynnik indukowany hipoksją 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α); **MDS** – zespół mielodysplastyczny (myelodysplastic syndrome); **MM** – szpiczak mnogi (multiple myeloma); **MTD** – maksymalna tolerowana dawka (maximum tolerated dose); **NHL** – chłoniak niezziarniczny (non-Hodgkin lymphoma); **NF- κ B** – jądrowy czynnik transkrypcyjny κ B (nuclear factor- κ B); **NSCLC** – niedrobnokomórkowy rak płuc (non-small-cell lung cancer); **NOXA** – białko proapoptotyczne z podrodziny BH3-only (od łacińskiego słowa „noxae” – uszkodzenie); **ODDD** – domena degradacyjna zależna od tlenu (oxygen-dependent degradation domain); **PET** – pozytonowa tomografia emisyjna (positron emission tomography); **pRb** – białko retinoblastoma (retinoblastoma protein); **PTCL** – obwodowa postać chłoniaka T-komórkowego (peripheral T-cell lymphoma); **PUMA** – białko proapoptotyczne z podrodziny BH3-only (p53 upregulated modulator of apoptosis); **SAHA** – vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid); **TBP2** – białko 2 wiążące tioredoksynę (thioredoxin-binding protein 2); **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworów- α (tumor necrosis factor- α); **TNF- α R1/R2** – receptory błonowe liganda TNF- α (tumor necrosis factor receptor 1/2); **TRAIL** – związany z TNF ligand indukujący apoptozę (TNF-related apoptosis inducing ligand); **TRAILR1/R2** – receptory dla TRAIL (TRAIL receptor 1/2); **TRX** – tioredoksyna (thioredoxin); **TSA** – trichostatyna A (trichostatin A); **UPS** – szlak ubiquityna-proteasom (ubiquitin-proteasome system); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (vascular endothelial growth factor); **VHL** – białko von Hippel-Lindau; **VPA** – kwas walproinowy (valproic acid); **XIAP** – inhibitor apoptozy sprzężony z chromosomem X (X chromosome-linked inhibitor of apoptosis).

WSTĘP

Karcynogeneza jest złożonym procesem wywołanym m.in. przez defekty genetyczne, takie jak mutacje genu i anomalie chromosomowe, które prowadzą do dysfunkcji zarówno genów supresorowych jak i onkogenów. W ostatnich latach udowodniono, że epigenetyczna regulacja ekspresji genów jest równie ważnym mechanizmem, a jego zakłócenie prowadzi do rozwoju nowotworu. Mechanizmy kontroli epigenetycznej polegają na zmianie ekspresji genu w wyniku swoistych kowalencyjnych modyfikacji DNA i/lub histonów, bez oddziaływania na sekwencję nukleotydową genów [113]. Spośród tych mo-

dyfikacji, istotną rolę w epigenetycznej regulacji genów odgrywa acetylacja/deacetylacja histonów katalizowana przez swoiste enzymy znane jako acetylotransferazy histonów (histone acetyltransferases, HAT) i deacetylazy histonów (histone deacetylases, HDACs) [94].

Deacetylazy histonów, jako wielopodjednostkowe kompleksy białkowe, wyizolowano z komórek drożdży oraz wyższych *Eukariota*. Na podstawie podobieństwa strukturalnego do HDACs u drożdży, aktywności enzymatycznej oraz umiejscowienia w komórce, enzymy te podzielono na dwie rodziny i cztery klasy (tabela 1) [79]. Enzymy klasy I, II, i IV należą do rodziny klasycznych deacetylaz histonów

Tabela 1. Klasyfikacja deacetylaz histonów

Klasa HDACs	Podklasa HDACs	Przedstawiciele	Funkcja	Występowanie w komórce
I – homologi białka Rpd3 u drożdży	Ia	HDAC1	Kontrola proliferacji komórkowej [125]	Warunkowanie oporności na chemioterapię [52]
		HDAC2		Hamowanie apoptozy w komórkach nowotworowych [125]
	Ib	HDAC3		Regulacja prawidłowego przebiegu mitozy, hamowanie różnicowania komórek nowotworowych [66,125]
	Ic	HDAC8		Regulacja aktywności telomerazy, hamowanie różnicowania komórek nowotworowych [125]
II – homologi białka Hda1 u drożdży	IIa	HDAC4	Hamowanie przerostu chondrocytów [2,121], indukcja angiogenezy, hamowanie różnicowania komórek nowotworowych [125]	Jądro komórkowe i cytoplazma, dodatkowo HDACs podklasy IIa mają zdolność translokacji między tymi kompartmentami komórkowymi
		HDAC7	Udział w utrzymaniu integralności naczyń krwionośnych [14], indukcja angiogenezy [125]	
		HDAC5 HDAC9	Regulacja różnicowania kardiomiocytów, wyciszenie obu deacetylaz prowadzi do przerostu mięśnia sercowego u myszy [132]	
	IIb	HDAC6	Deacetylacja α -tubuliny [135], indukcja angiogenezy [125], udział w degradacji nieprawidłowo sfałdowanych białek [104]	
		HDAC10	Indukcja angiogenezy [125]	
III – homologi białka Sir2 u drożdży SIRT6 SIRT7 SIRT3 SIRT4 SIRT5 SIRT2		SIRT1	Udział w procesie różnicowania mięśni szkieletowych [45], homeostaza lipidów i glukozy [124]	Jądro komórkowe
			Naprawa DNA, homeostaza glukozy [124]	
			Indukcja transkrypcji rRNA [45]	
			Redukcja potencjału błonowego i wytwarzanie reaktywnych form tlenu [45]	Mitochondrium
			Regulacja sekrecji insuliny [129]	
			Regulacja cyklu mocznikowego i prawdopodobnie apoptozy [129]	
			Kontrola cyklu komórkowego, transportu wewnątrzkomórkowego i migracji komórkowej [124]	Cytoplazma
IV		HDAC11	Nieokreślona	Jądro komórkowe/cytoplazma

i zawierają w centrum katalitycznym jon Zn^{+2} . Natomiast klasa III to tzw. rodzina sirtuin, które do prawidłowego funkcjonowania wymagają obecności utlenionej postaci dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (nicotinamide adenine dinucleotide – NAD⁺) [125].

W większości typów komórek nowotworowych w wyniku nadekspresji HDACs obserwowane jest zmniejszenie poziomu acetylacji histonów i tym samym anormalne transkrypcyjne wyciszenie wielu genów [108]. Często jest również modyfikacja histonu H4 polegająca na utracie jednej reszty acetylowej w pozycji Lys16 i potrójna metylacja Lys20. Zmiana tego typu jest uważana za marker wczesnych etapów procesu nowotworowego [31]. W związku

z tym, w ostatnim czasie wzrosło zainteresowanie nową grupą związków określanych jako inhibitory deacetylaz histonów (histone deacetylase inhibitors – HDIs).

MECHANIZM DZIAŁANIA INHIBITORÓW DEACETYLAZ HISTONÓW

Inhibitory deacetylaz histonów są związkami naturalnymi oraz syntetycznymi. Na podstawie budowy strukturalnej zostały podzielone na cztery klasy (tabela 2) [112,117].

Inhibitory deacetylaz histonów oddziałują z domeną katalityczną HDACs i blokują aktywność tych enzymów. W konsekwencji dochodzi do zwiększania poziomu acetylacji histonów, utworzenia chromatyny o bardziej otwar-

tej konfiguracji i przywrócenia ekspresji nieprawidłowo wyciszonych genów, które są istotne dla funkcjonowania komórki. Dokładny mechanizm inhibicji HDACs poznano na przykładzie trichostatyny A (trichostatin A – TSA) i vorinostatu (suberoylanilide hydroxamic acid – SAHA). Wykazano, że związki te funkcjonują jako odwracalne inhibitory kompetycyjne. Alifatyczne łańcuchy tych substancji wbudowują się do miejsca aktywnego HDACs i chelatują obecny tam jon Zn^{2+} , co w konsekwencji prowadzi do zahamowania aktywności enzymu [30]. Wyjątek stanowią inhibitory z klasy epoksydów, takich jak trapoksin i depudecin, które wiążą się z HDACs w sposób nieodwracalny [57].

Mechanizm aktywności antynowotworowej HDIs nie został jeszcze dobrze poznany i wciąż jest intensywnie badany. Wiadomo natomiast, że HDIs poprzez regulację ekspresji genów wpływają na hamowanie przebiegu cy-

(wysokie stężenia) [75]. Blokowanie cyklu komórkowego w obu punktach kontrolnych może wynikać zarówno z niezależnej [38,43,59,95,122], jak i zależnej [136] od białka p53 aktywacji ekspresji genu *CDKN1A* kodującego białko p21^{WAF1/CIP1}. Białko to jest inhibitorem kinaz cyklinozależnych (cyclin-dependent kinases – CDKs), takich jak CDK4/6 oraz CDK2 regulujących odpowiednio przebieg fazy G1 oraz przejście z fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Ponadto, białko p21^{WAF1/CIP1} hamuje ekspresję jądrowego antygenu komórek proliferujących (proliferating cell nuclear antigen – PCNA), który jest niezbędny podczas replikacji DNA oraz aktywność kinazy CDK1, która reguluje progresję fazy G2 w fazę M cyklu komórkowego [128]. Nieaktywne kinazy cyklinozależne tracą zdolność fosforylacji białka retinoblastoma (pRb), podstawowego dla kontroli przebiegu cyklu komórkowego. Białko to w postaci hipofosforylowanej pozostaje zwią-

Tabela 2. Klasyfikacja inhibitorów deacetylaz histonów

Klasa HDI	Przykłady HDIs	Swoistość substratowa	Dostępność leku - faza badań klinicznych	Piśmiennictwo
Kwasy hydroksyaminowe	SAHA	HDAC1, 2, 3, 4, 6, 7, 9	Zatwierdzony przez FDA w leczeniu CTCL	[73]
	TSA	HDAC1, 2, 3, 4, 6, 7, 9	toksyczny	[53]
	Panobinostat	HDAC1, 2, 3, 4, 7, 9	II faza	[22,72]
	Belinostat	HDAC I i IIa, HDAC6	II faza	[71,101]
	Dacinostat	HDAC I i II	I faza	[21]
Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe	PCI24781	HDAC I, IIb	I faza	[68]
	Maślan	HDAC I, IIa	II faza	[78]
	VPA	HDAC I i IIa	II faza, powszechny lek przeciwpadaczkowy	[13,85]
Cykliczne tetrapeptydy	AN-9	brak danych	II faza	[116]
	Apicidin	HDAC I i II	brak danych	[116]
	Romidepsyna	HDAC1, 2, 4, 6	Zatwierdzony przez FDA w leczeniu CTCL	[39,54]
Benzamidy	Entinostat	HDAC1, 2, 3, 9	II faza	[41,53,91]
	Mocetinostat	HDAC1, 2, 3, 11	II faza	[64]
	CI-994	Brak danych	II faza	[116]

klu komórkowego i wzrostu komórek nowotworowych, indukują różnicowanie i zaprogramowaną śmierć komórkową (apoptozę) [91]. Co więcej, aktywacja odpowiedzi immunologicznej komórek gospodarza oraz represja angiogenezy przez HDIs odgrywa także ważną rolę w regresji choroby nowotworowej [65].

WPEŁYW HDIs NA HAMOWANIE CYKLU KOMÓRKOWEGO

Inhibitory deacetylaz histonów uniemożliwiają podział komórek nowotworowych przez hamowanie przebiegu cyklu komórkowego. W zależności od stężenia HDIs, związki te mogą hamować cykl komórkowy w fazie G1/S (niskie stężenia) lub jednocześnie w fazie G1/S oraz G2/M

zane z czynnikiem transkrypcyjnym E2F1 (transcription factor E2F1) zapobiegając tym samym transkrypcji genów dla białek istotnych dla progresji fazy G1 oraz G1/S cyklu komórkowego [8].

Blokowanie fazy G1 cyklu komórkowego poprzez inhibitory HDACs zaobserwowano także w komórkach nowotworowych pozbawionych ekspresji białka p21^{WAF1/CIP1}. W tym przypadku HDIs mogą podwyższać ekspresję innych inhibitorów CDKs, takich jak p15^{INK4b} [42] i p27^{KIP1} [90,117]. W wyniku działania niektórych – TSA, SAHA, czy entinostatu hamowana jest również ekspresja genów, których produkty białkowe zaangażowane są w syntezę DNA – syntazy tymidylanowej oraz syntetazy cytydyno-5'-

-trifosforanu. Prowadzi to do hamowania cyklu komórkowego, ponieważ uniemożliwia progresję komórki z fazy S do G2/M [33,38].

Inhibitory deacetylaz histonów hamują również przebieg samej mitozy w komórkach nowotworowych. Zaobserwowano, że TSA i romidepsyna zakłócają proces segregacji chromosomów do biegunów wrzeczona kariokinetycznego, indukując powstanie nieprawidłowych połączeń między mikrotubulami wrzeczona kariokinetycznego a kinetochorem lub zmniejszając ekspresję genów kodujących białka biorące udział w tworzeniu regionu centromerowego/kinetochoru, tj. CENP-E (centromeric protein E) i CENP-F (centromeric protein F) [12,103]. Co więcej, HDIs utrudniają przebieg mitozy przez hamowanie aktywności HDAC3. Enzym ten jest istotny w utrzymaniu histonów H3 w postaci deacetylowanej. Tylko taka postać tych białek zezwala na ich fosforylację przez kinazę Aurora B i tym samym wejście komórki do fazy M cyklu komórkowego [6,66].

Podsumowując, HDIs mogą powodować hamowanie cyklu komórkowego na różnych etapach i z udziałem odmiennych mechanizmów.

Indukcja apoptozy przez HDIs

Jedną z najbardziej obiecujących właściwości HDIs jako potencjalnych cytostatyków jest ich zdolność do selektywnej indukcji apoptozy w komórkach nowotworowych. Badania *in vitro* wykazały, że komórki te są co najmniej 10-krotnie bardziej wrażliwe na działanie HDIs w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Cecha ta nie wynika jednak z różnicy w stopniu hamowania aktywności HDACs, ponieważ wzrost acetylacji histonów występuje zarówno w komórkach prawidłowych jak i nowotworowych [120]. Prawdopodobnym mechanizmem tłumaczącym cytotoksyczne działanie HDIs głównie w komórkach nowotworowych jest zmiana ekspresji genów dla tioredoksyny (thioredoxin – TRX) i białka TBP2 (thioredoxin-binding protein 2), które wpływają na ilość reaktywnych form tlenu. Białko TRX jest naturalnym antyoksydantem i funkcjonuje jako donor wodoru dla wielu białek docelowych, m.in. reduktazy rybonukleotydowej, czynnika NF-κB i receptora estrogenowego. W odpowiedzi na HDIs, TRX jest indukowane tylko w komórkach prawidłowych, co chroni je przed generacją wolnych rodników i w konsekwencji przed apoptozą. Natomiast pod wpływem inhibitorów deacetylaz histonów TBP2 ulega ekspresji tylko w komórkach nowotworowych. Białko TBP2 wiąże i hamuje aktywność TRX [120]. W wyniku represji TRX dochodzi do aktywacji kinazy 1 indukowanej sygnałami apoptocycznymi (apoptosis signal-regulating kinase-1 – ASK1). Kinaza ta promuje apoptozę w komórkach nowotworowych przez zwiększenie ekspresji mitochondrialnego proapoptocycznego białka BIM oraz przez uruchomienie kaskad kinaz aktywowanych mitogenami (mitogen-activated protein kinase – MAPK). Przykładem jest kinaza domeny N-końcowej białka Jun (c-Jun N-terminal kinase – JNK) i kinaza p38 [128].

HDIs wpływają zarówno na zewnątrzpochodny (szlak receptorów śmierci) jak i wewnątrzpochodny (szlak mitochondrialny) szlak sygnalizacyjny apoptozy. W obu szlakach odbywa się aktywacja kaspaz prowadząca do proteolizy licznych substratów jądrowych i cytoplazmatycznych, co indukuje zmiany morfologiczne charakterystyczne dla apoptozy. Zewnątrzpochodny szlak apoptozy jest inicjowany przez wiązanie się liganda (TNF-α, FasL, TRAIL) z właściwym transbłonowym receptorem śmierci (TNFR1/TNFR2, FasR, TRAILR1/TRAILR2). Zaobserwowano, że HDIs zwiększają ekspresję receptorów śmierci oraz ich ligandów w komórkach nowotworowych, ale nie w komórkach prawidłowych. Dodatkowo, HDI hamują transkrypcję genów kodujących inhibitory apoptozy (c-FLIP, c-IAP2, XIAP) [44,46,62,86,89,111,115].

Wewnątrzpochodny szlak apoptozy przebiega z udziałem mitochondriów. Szlak ten aktywowany jest głównie przez czynniki stresu metabolicznego lub genotoksycznego, takie jak: chemioterapeutyki, onkoproteiny, niedotlenienie, promieniowanie jonizujące. Sygnałem do apoptozy jest uwolnienie z mitochondrialnej przestrzeni międzylonowej cytochromu C przez kanały w zewnętrznej błonie mitochondrialnej utworzone przez białka BAK i BAX – proapoptocyczne białka z rodziny BCL-2, co aktywuje kaspazy. Sposób, w jaki HDIs aktywują wewnątrzpochodny szlak apoptozy, pozostaje do dziś nieznanym. Jedną z hipotez zakłada, że substancje te zwiększają ekspresję białek proapoptocycznych (BAX, BAK, BIM, BMF i kaspazy), a hamują ekspresję białek antyapoptocycznych (BCL-2, BCL-XL, XIAP), przesuwając w ten sposób homeostazę w kierunku programowanej śmierci komórkowej [8,23,81,84,105,133]. Przykładem takiego działania HDI jest indukcja ekspresji białek BMF i BIM obserwowana po zastosowaniu depsiptydu oraz TSA lub SAHA. Wzrost transkrypcji BMF wynika prawdopodobnie z hiperacetylacji histonów w regionie promotora tego genu [134]. Natomiast zwiększona ekspresja białka BIM jest wynikiem aktywacji czynnika transkrypcyjnego E2F1 (transcription factor E2F1); wiążącego się do promotora genu BIM [137].

Pewne białka proapoptocyczne mogą być aktywowane również w wyniku modyfikacji potranslacyjnych. Przykładem jest białko BID, które w odpowiedzi na HDIs ulega proteolitycznej aktywacji, a następnie przemieszczeniu do mitochondriów aktywując wewnątrzpochodny szlak apoptozy [8,82,106]. Proteazy odpowiedzialnej za rozkład białka BID oraz mechanizm inicjacji tego procesu przez HDIs jeszcze nie poznano.

Ważną rolę w aktywacji procesu apoptozy z udziałem HDIs odgrywa białko p53. Inhibitory deacetylaz histonów powodują wzmożoną acetylację tego białka, co indukuje wewnątrzpochodny szlak apoptozy poprzez transkrypcyjną aktywację wielu genów proapoptocycznych (BAX, PUMA i NOXA) zależnych od p53 [13].

HAMOWANIE ANGIOGENEZY NOWOTWOROWEJ PRZEZ HDIs

Wykazano, że tworzenie nowych naczyń krwionośnych na bazie już istniejących (angiogeneza) jest istotnym procesem wzrostu guza nowotworowego. Indukcja i utrzymanie

własnej sieci naczyń krwionośnych zapewnia komórkom nowotworowym właściwy dostęp tlenu i składników odżywczych, a także skuteczne odprowadzanie produktów przemiany materii, zwłaszcza gdy wymiary guza przekraczają 2-3 mm³ [40]. Jednym z głównych czynników odpowiedzialnych za indukcję angiogenezy nowotworowej jest niedotlenienie. Zjawisko to wpływa na wzrost ekspresji czynnika transkrypcyjnego 1 α indukowanego hipoksją (hypoxia-inducible factor-1 α – HIF1 α), który jest istotnym regulatorem angiogenezy [28]. Aktywność i stabilność HIF1 α jest regulowana na poziomie białka przez liczne modyfikacje potranslacyjne. W warunkach normoksji (prawidłowego stężenia tlenu), zależna od tlenu domena degradacyjna (oxygen-dependent degradation domain – ODDD) HIF1 α jest hydroksylowana w pozycji Pro402 i Pro564 przez hydroksylazy prolinowe (proline hydroxylases – PHDs) i w pozycji Asp803 z udziałem hydroksylazy asparaginianowej (asparaginyl hydroxylase – FIH-1). Białko HIF1 α ulega również acetylacji w pozycji Lys532 z udziałem kompleksu białkowego ARD. W konsekwencji HIF1 α tworzy kompleks z białkiem von Hippel-Lindaua (VHL), będącym częścią kompleksu E3 ligazy ubikwitynowej i ulega degradacji w proteasomie.

Natomiast w warunkach niedotlenienia (hipoksji) domena ODDD nie jest modyfikowana, co czyni białko HIF1 α stabilnym. Powoduje to wiązanie HIF1 α z acetylotransferazą histonów p300/CBP, a następnie translokację powstałego kompleksu z cytoplazmy do jądra komórkowego. Po utworzeniu heterodimeru z czynnikiem transkrypcyjnym 1 β indukowanym hipoksją (hypoxia-inducible factor-1 β – HIF1 β), kompleks rozpoznaje swoistą sekwencję w rejonie promotora genów regulowanych przez hipoksję (hypoxia responsive element – HRE) i inicjuje ich transkrypcję. Jednym z przedstawicieli tego typu genów jest VEGF kodujący czynnik wzrostu śródbłónka naczyń (vascular endothelial growth factor – VEGF) [49].

Aktywność HIF1 α jest także regulowana przez swoiste HDACs klasy I i II. W odpowiedzi na hipoksję wzrasta ekspresja HDAC1, 2 i 3 zarówno na poziomie mRNA jak i na poziomie białka. Nadekspresja HDAC1 prowadzi do zmniejszenia transkrypcji p53 i VHL, a w rezultacie do indukcji HIF1 α oraz VEGF [55]. HDAC1 i 3 stabilizują HIF1 α przez bezpośrednie wiązanie się z domeną ODDD i utrzymanie jej w stanie deacetylacji [56].

Na funkcjonowanie HIF1 α wpływają także HDACs klasy II. Deacetylazy histonów HDAC4 i 6 oddziałują z HIF1 α i w ten sposób zwiększają jego stabilność i aktywność transkrypcyjną [100]. Natomiast HDAC7 ulega translokacji z cytoplazmy do jądra komórkowego i tworzy stabilny kompleks HIF1 α /HDAC7/p300 gotowy do indukcji transkrypcji czynników proangiogennych [48].

Deacetylazy histonów wpływają na angiogenezę dodatkowo poprzez mechanizmy niezależne od HIF1 α . Przykładem jest HDAC6 negatywnie regulująca transkrypcję adamaliny (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs – ADAMTS1). Białko to jest meta-

loproteinazą odpowiedzialną za degradację VEGF i uwolnienie trombospondyny, ważnego inhibitora angiogenezy [15].

HDIs hamują angiogenezę nowotworową w wyniku pobudzenia degradacji czynnika HIF1 α . Proces ten może się odbywać dwukierunkowo. Po pierwsze, poprzez przywrócenie acetylacji domeny ODDD białka HIF1 α . Taka modyfikacja powoduje, że HIF1 α wiąże się z białkiem VHL i jest degradowany w szlaku ubikwityna – proteasom. Po drugie, poprzez zakłócenie funkcji kompleksu HDAC6/Hsp90, z którym HIF1 α łączy się i dzięki temu jest chroniony przed degradacją proteosomalną. Zniesienie fizycznej interakcji między HDAC6 a białkiem opiekuńczym Hsp90, w wyniku zastosowania HDIs, prowadzi do acetylacji Hsp90, osłabienia jego funkcji prewencyjnej i w konsekwencji do skierowania HIF1 α na drogę proteolitycznego rozkładu [28].

HDIs mogą także hamować angiogenezę poprzez bezpośrednią modulację ekspresji genów proangiogennych w komórkach śródbłónka. Wykazano, że TSA i SAHA w sposób odwracalny i zależny od stężenia, zmniejszają ekspresję receptorów dla VEGF (VEGFR1 i VEGFR2) oraz neuropiliny 1. Neuropilina jest białkiem transbłonkowym, które pełni funkcję koreceptora i wzmacnia wiązanie się VEGF z odpowiednim receptorem. Inny z HDIs – dacinostat całkowicie blokuje ekspresję receptora o aktywności kinazy tyrozynowej TIE-2 oraz jego liganda, angiopoetyny 2. Natomiast kwas walproinowy hamuje ekspresję śródbłonkowej syntazy tlenu azotu [67].

Przeprowadzone dotychczas badania *in vitro* oraz badania kliniczne dowodzą, że HDIs mogą być potencjalnymi chemioterapeutykami hamującymi angiogenezę guzów litych, ponieważ substancje te wpływają korzystnie na ekspresję genów antyangiogennych i wzmagają działanie terapeutyczne obecnie dostępnych leków nowej generacji, takich jak np. bewacizumab [28,126].

KLINICZNE ZASTOSOWANIE HDIs

Inhibitory deacetylaz histonów, biorąc pod uwagę molekularny mechanizm działania tych związków oraz wywoływane przez nie efekty biologiczne, stanowią nowe, obiecujące narzędzie terapii przeciwnowotworowych. Dodatkowym argumentem za stosowaniem HDIs jest to, że w odróżnieniu od wielu innych cytostatyków stosowanych w leczeniu chorób nowotworowych, inhibitory deacetylaz histonów są aktywne względem proliferujących, jak i nieproliferujących komórek nowotworowych i charakteryzują się stosunkowo niewielką toksycznością w stosunku do komórek prawidłowych organizmu [47,80].

W ostatnim dziesięcioleciu podjęto kilkaset prób klinicznego zastosowania tych związków w monoterapii lub w skojarzeniu z innymi lekami u chorych z różnego typu nowotworami hematologicznymi, jak i guzami litymi [76]. Już ponad 15 inhibitorów deacetylaz znalazło się na liście potencjalnych leków [54]. Poniżej przedstawiono synte-

tyczny przegląd najbardziej obiecujących HDIs, będących obecnie przedmiotem badań klinicznych.

Vorinostat (SAHA)

Vorinostat jest jednym z najlepiej zbadanych inhibitorów HDAC. Należy do polarno-planarnych pochodnych kwasu hydroksamowego drugiej generacji, hamujących I i II klasę deacetylaz histonów [27,74]. Publikowane od połowy lat 90 ub.w., wyniki badań przedklinicznych przeprowadzanych na różnych liniach komórek nowotworowych, niosły ogromne nadzieje na efektywne zastosowanie vorinostatu w leczeniu chorych [1,131]. Z informacji umieszczonych w serwisie National Institutes of Health [18] wynika, że do chwili obecnej przeprowadzono lub nadal kontynuowanych jest prawie 200 badań klinicznych z użyciem tego związku. Działanie terapeutyczne vorinostatu badano u chorych z nowotworami hematologicznymi – między innymi w różnego typu białaczkach, chłoniakach niezziarniczych (non-Hodgkin lymphoma – NHL) i w ziarnicy złośliwej (Hodgkin's disease – HD), szpiczaku mnogim (multiple myeloma – MM) czy skórnej postaci chłoniaka T-komórkowego (cutaneous T-cell lymphoma – CTCL), a także w guzach litych, np. w raku brodawkowatym tarczycy, raku pęcherza, płuc, prostaty czy piersi [76,77,110]. W badaniach klinicznych fazy I poddano ocenie nie tylko skuteczność oraz profil bezpieczeństwa tego preparatu, ale także porównywano jego farmakokinetykę, podając pacjentom vorinostat dożylnie w dawce 300 lub 600 mg/m² lub doustnie, przeznaczonego do przewlekłego, codziennego przyjmowania, w dawce 200-800 mg/dobę. Obie postaci były dobrze tolerowane i u większości chorych nie stwierdzono istotnych klinicznie działań niepożądanych. Co ciekawe, u pacjentów leczonych na nowotwory hematologiczne, zaobserwowano, że doustne przyjmowanie vorinostatu w porównaniu z terapią dożylną, wiązało się z częstszym występowaniem takich działań niepożądanych, jak trombocytopenia, neutropenia, anoreksja, odwodnienie czy biegunka. Ogólnie, działania niepożądane stwierdzano częściej w grupie pacjentów hematologicznych, niż w grupie chorych z guzami litymi, zwłaszcza objawy mielosupresji, biegunki czy infekcje. Podkreślić jednak należy, że nie zaobserwowano przypadków gorączki neutropenicznej czy sepsy. Kryteria odpowiedzi klinicznej na leczenie vorinostatem w postaci dożylniej, spełniło kilku chorych z nowotworami hematologicznymi, w większości byli to pacjenci z ziarnicą złośliwą. W grupie leczonych doustnie także uzyskano efekt hamowania bądź nawet remisji choroby, głównie w pojedynczych przypadkach nowotworów hematologicznych – ziarnicy złośliwej, chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL) czy CTCL, ale także w przypadku raka krtani oraz raka brodawkowatego tarczycy. W najlepszym przypadku całkowita remisja choroby (DLBCL) utrzymała się ponad 12 miesięcy [50,92]. Maksymalną tolerowaną dawkę (maximum tolerated dose – MTD) doustnej postaci vorinostatu ustalono na 400 mg na dobę w terapii ciągłej lub 300 mg dwa razy dziennie przez kolejne 3 dni każdego tygodnia [50], na-

tomiast dożylniej na 300 mg/m²/dobę przez 5 dni w tygodniu w ciągu 3 tygodni [51]. W 2006 roku vorinostat jako pierwszy inhibitor deacetylaz, pod nazwą handlową Zolinza® (Merck&Co., Inc., Whitehouse Station, NJ) został zatwierdzony przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration, FDA) do leczenia skórnej postaci chłoniaka T-komórkowego [27,73]. Zgoda FDA na włączenie SAHA do grupy leków przeciw postępującej, przetrwałej lub nawracającej postaci CTCL, oparta została przede wszystkim na wynikach wieloosrodkowego badania fazy IIB, które objęło 74 chorych z tą postacią chłoniaka, u których poprzednio zastosowano przynajmniej dwa inne rodzaje leczenia bez poprawy stanu klinicznego. Pacjenci otrzymywali vorinostat w monoterapii, doustnie w dawce 400 mg na dobę do czasu progresji choroby lub wystąpienia poważnych działań niepożądanych. Odpowiedź na leczenie uzyskano w około 30% przypadków, przy czym średni czas trwania odpowiedzi wynosił ~6 miesięcy, a średni czas do progresji w grupie chorych w stadium IIB lub wyższym ~10 miesięcy. Podobnie jak w badaniach fazy I, wśród najczęściej występujących działań niepożądanych mających związek z lekiem badanym, obserwowano biegunkę (u 49% chorych), zmęczenie (46%), nudności (43%) oraz anoreksję (26%). Nasilenie większości z tych objawów nie było znaczne, jednak pojawiły się także przypadki poważnych działań niepożądanych, takich jak zatorowość płucna (5%) czy trombocytopenia (5%), ogółem 9 pacjentów wyłączono z badania z powodu działań niepożądanych [93]. Porównywalne wyniki uzyskano w innym badaniu fazy II, w którym 33 chorych podzielono na trzy grupy terapeutyczne. Pacjenci otrzymywali vorinostat doustnie, w grupie 1 w dawce ciągłej 400 mg na dobę, w grupie 2 dawka leku wynosiła 300 mg – 2 razy na dobę przez trzy do pięciu dni w tygodniu, a w grupie 3 – dawkę wstępną ustalono na poziomie 300 mg 2 razy na dobę przez 14 dni i po tygodniowej przerwie kontynuowano leczenie w dawce ciągłej 200 mg 2 razy na dobę. Odpowiedź na leczenie w grupie 1 i 3 uzyskano odpowiednio u około 31 i 33% chorych. Ten sam wskaźnik w grupie 2, w której pacjenci nie przyjmowali leku w sposób ciągły, wyniósł tylko 9%. Dla całej populacji chorych średni czas do uzyskania odpowiedzi na terapię oraz czas jej trwania wyniosły odpowiednio 12 i 15 tygodni. Progresję objawów CTCL obserwowano średnio po 12 tygodniach, jednak czas ten w przypadku chorych, którzy nie zareagowali na leczenie wyniósł tylko 5 tygodni, natomiast dla tych, u których stwierdzono kliniczną odpowiedź na terapię vorinostatem – 30 tygodni. Odsetek pacjentów wyłączonych z badania przed jego zakończeniem – z powodu objawów niepożądanych – był wyraźnie niższy w grupie 1 (8%), niż w grupach 2 (33%) i 3 (17%) [26]. Wyniki przedstawionych badań pozwoliły na umieszczenie w raporcie FDA, opublikowanym w 2007 roku, rekomendacji doustnej postaci vorinostatu do leczenia CTCL w jednorazowej dawce dobowej – 400 mg [73]. Analizę *post hoc* długoterminowej tolerancji oraz klinicznych korzyści płynących ze stosowania tego leku u chorych z CTCL zaprezentowano w 2009 roku [25]. W badaniu fazy IIB udział wzięło 6 z 74 chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie w po-

przedniej próbie i przez ponad 2 lata przyjmowali vorinostat z utrzymującym się efektem klinicznym (1 chory z całkowitą remisją, 4 z częściową, 1 ze stabilnym przebiegiem choroby). Mimo wystąpienia u większości pacjentów działań niepożądanych, takich jak biegunka, nudności, zmęczenie czy łysienie, zaznaczyć należy, że jedynym poważnym zdarzeniem był epizod zatorowości płucnej, który zakończył się całkowitym wyzdrowieniem. Przebieg leczenia vorinostatem potwierdza zatem długoterminowe bezpieczeństwo jego stosowania i kliniczną skuteczność w przypadkach zaawansowanego CTCL. Na stronach The National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology™ [88] vorinostat jest umieszczony na liście leków zalecanych w leczeniu NHL, jako opcja terapii systemowej u chorych z ziarniniakiem grzybiastym lub zespołem Sezary'ego, u których zawiodły inne terapie lub choroba ma niekorzystny prognostycznie przebieg [110]. Lek ten w układzie monoterapii ze wzrastającymi dawkami był także badany w przebiegu zaawansowanych, opornych na leczenie białaczek oraz w zespole mielodysplastycznym (myelodysplastic syndrome – MDS) [79]. W jednym z badań uczestniczyło 41 pacjentów z różnymi typami białaczek – ostrą białaczką szpikową (acute myeloid leukemia – AML), przewlekłą białaczką szpikową (chronic myeloid leukemia – CML), przewlekłą białaczką limfocytową (chronic lymphocytic leukemia – CLL), ostrą białaczką limfocytową (acute lymphocytic leukemia – ALL) oraz z MDS. Poprawę parametrów hematologicznych (> 50% spadek liczby komórek blastycznych) lub odpowiedź kliniczną uzyskano tylko u 7 pacjentów (17%). W dwóch przypadkach stwierdzono remisję całkowitą, a w dwóch następnym remisję całkowitą bez pełnego powrotu do prawidłowych parametrów w morfologii krwi. Co ciekawe, wszyscy chorzy, u których zaobserwowano poprawę, leżeni byli z powodu AML (z trisomią 8 chromosomu lub bez niej) dawką vorinostatu na poziomie lub poniżej MTD. Średni czas trwania odpowiedzi wyniósł 6 tygodni (wahał się od 0,1 do 53 tygodni). Po zakończeniu terapii, 3 chorzy (w tym jeden z całkowitą remisją i dwóch, którzy zareagowali poprawą parametrów hematologicznych) zostało poddanych udanej transplantacji szpiku [34]. Skuteczność vorinostatu oceniano również w leczeniu guzów litych. Badania fazy II u chorych z rakiem głowy i szyi [7], rakiem prostaty [9], rakiem piersi [69], niedrobnokomórkowym rakiem płuc (non-small-cell lung cancer – NSCLC) [118] czy rakiem jajnika [83] wykazały małą efektywność vorinostatu, prawdopodobnie ze względu na ograniczone przenikanie leku do komórek nowotworowych [70]. Zachęcające są natomiast wstępne wyniki leczenia chorych z glejakiem wielopostaciowym (glioblastoma multiforme – GBM), które potwierdziły możliwość klinicznego zastosowania tego związku w monoterapii GBM [32]. W szóstym miesiącu leczenia vorinostatem - w dawce 200 mg dwa razy dziennie przez 14 dni w cyklach trzytygodniowych - u dziewięciu chorych z grupy 52 pacjentów nie stwierdzono cech progresji nowotworu. Istotnym aspektem zastosowania HDIs w onkologii jest terapia skojarzona, w której łączy się inhibitory deacetylaz z chemioterapeutykami starej lub nowej

generacji. Przykładem może być użycie vorinostatu do leczenia chorych ze szpiczakiem mnogim, zwłaszcza postaci lekoopornych, w tym opornych na terapię bortezomibem, który jest silnym i odwracalnym inhibitorem proteasomu 26S [10,109]. Zaobserwowano, że proces hamowania deacetylaz histonów zmniejsza syntezę podjednostek proteasomu oraz innych białek szlaku UPS (ubiquitin-proteasome system) [81]. Zjawisko to postanowiono wykorzystać klinicznie przez połączenie inhibitorów HDAC oraz proteasomu w celu uzyskania efektu synergizmu obu składników terapii. W badaniu fazy I, przy skojarzeniu doustnej postaci SAHA i bortezomibu w postaci dożylniej, uzyskano korzystne efekty tego typu leczenia, obserwując odsetek odpowiedzi na poziomie 42%. W grupie 9 chorych, u których uzyskano częściową odpowiedź, trzech było opornych na wcześniejsze leczenie bortezomibem [4]. Wobec tak obiecujących wyników kontynuowane są próby terapii chorych z MM w kombinacji vorinostat + bortezomib lub w jeszcze bardziej poszerzonych układach. Obecnie trwa kwalifikacja pacjentów do kilku badań w fazach I-III [19]. W przyszłości analiza tych wyników pozwoli na rzeczywistą ocenę przydatności badanych leków w terapii MM. Informacje na temat prowadzonych badań można odnaleźć na stronach National Cancer Institute [87]. Vorinostat był także oceniany w terapii skojarzonej z innymi lekami w leczeniu guzów litych. W badaniu fazy II 19 chorych z NSCLC poddano terapii vorinostatem w połączeniu z cytostatykami - karboplatyną i paklitaksellem. U dziesięciu z nich (53%) uzyskano częściową odpowiedź, a u kolejnych czterech (21%) choroba miała przebieg stabilny [102]. Dla porównania, odsetek odpowiedzi podczas leczenia cytostatycznego pacjentów z zaawansowanym NSCLC z zastosowaniem karboplatyny i paklitakselu, wynosi około 15-25% [107]. Ogólnie rzecz biorąc, analiza różnych schematów leczenia nowotworów uwzględniających vorinostat, potwierdza względnie dobrą tolerancję tego leku i jego dość dużą aktywność przeciwnowotworową. Znajduje to odbicie we wciąż rosnącej liczbie badań klinicznych z użyciem vorinostatu [18].

Panobinostat i belinostat

Panobinostat i belinostat to inhibitory HDAC, będące pochodnymi kwasu hydroksamowego, które także przeszły do etapu badań klinicznych [36,98]. Panobinostat, inhibitor klasy I, II i IV deacetylaz, po raz pierwszy zastosowano w leczeniu nowotworów hematologicznych [99]. W badaniu wstępnym 15 pacjentów z AML, ALL lub MDS otrzymywało lek dożylnie w rosnących dawkach. Badanie przerwano ze względu na występujące u chorych przyjmujących dawkę 14 mg/m² działania niepożądane – bezobjawowe wydłużenie QTcF w elektrokardiogramie. Jednak, pomimo obserwowanych działań niepożądanych, z zainteresowaniem odnotowano przeciwbiałaczkową aktywność panobinostatu, wyrażającą się w obniżeniu liczby komórek blastycznych (CD34⁺) we krwi obwodowej. Jednocześnie stwierdzono istotny wzrost poziomu acetylacji histonów H2B i H3 w tych komórkach [35]. Kolejne badania kliniczne objęły chorych

z CTCL, AML, HL i MM. Obiecujące wyniki uzyskano przy zastosowaniu rosnących dawek leku w terapii ziarnicy, gdzie częściową remisję w tomografii komputerowej potwierdzono u 38% chorych, a remisję metaboliczną badaniem PET u 58% chorych [22]. Badania przedkliniczne potwierdzają także skuteczność panobinostatenu w hamowaniu wzrostu międzybłoniaka (mesothelioma) oraz drobnokomórkowego raka płuc [20].

Aktywność belinostatenu nie jest skierowana preferencyjnie przeciwko wybranej klasie deacetylaz. Stosowany jest w postaci krótkich wlewów dożylnych, a ostatnio także doustnie w leczeniu zarówno nowotworów hematologicznych [37,130], jak i guzów litych [114]. W badaniu fazy I podawany był we wlewach 16 chorym z zaawansowanymi, opornymi na standardową terapię chłoniakami B-komórkowymi. Chociaż w wyniku leczenia kryteria całkowitej lub częściowej remisji nie zostały spełnione w żadnym przypadku, to u pięciu pacjentów osiągnięto stabilizację choroby z dobrą tolerancją leku. Do najczęściej pojawiających się objawów niepożądanych należały nudności, wymioty i zmęczenie. Mielotoksyczność była obserwowana stosunkowo rzadko, w najcięższym przypadku była to limfopenia trzeciego stopnia. U jednego chorego, przy maksymalnej tolerowanej dawce leku (1000 mg/m²/dobę), pojawiła się arytmia [37]. W innym badaniu pacjenci leczeni z powodu chłoniaków T-komórkowych otrzymywali belinostat doustnie. Podczas tej próby wykazano akceptowalny profil bezpieczeństwa leku, a także jego aktywność kliniczną pod postacią stabilizacji przebiegu choroby [130]. Analizowano także skuteczność belinostatenu w terapii 46 pacjentów z opornymi na leczenie guzami litymi – głównie z rakiem odbytu, nerki, czerniakiem, rakiem prostaty, jajników i mięsakiem. Stabilizację choroby uzyskano u 18 chorych (39%) [114].

Skuteczność i bezpieczeństwo stosowania panobinostatenu i belinostatenu są obecnie oceniane w ponad stu badaniach i to zarówno w monoterapii, jak i w terapii skojarzonej, w różnych wskazaniach nowotworowych, dlatego nie możemy jeszcze przytoczyć ostatecznych ocen na temat ich wartości klinicznej [16,17].

Romidepsyna (depsipeptyd)

Cykliczny peptyd – romidepsyna to nietypowy, selektywny inhibitor HDAC1 i 2, różniący się od innych związków z tej grupy ocenianych obecnie w badaniach klinicznych. Jest produktem naturalnym, otrzymywanym z bakterii *Chromobacterium violaceum*, a swoją aktywność biologiczną nabywa po przekształceniach w obrębie cząsteczki, dokonujących się już po wejściu do komórki [29,60]. Związek ten dzięki swej stabilnej strukturze hydrofobowej może łatwo penetrować błonę komórki nowotworowej i przenikać do cytoplazmy, gdzie jest aktywowany poprzez reakcję redukcji z udziałem glutationu. Reakcji tej podlega wewnętrzne wiązanie dwusiarczkowe, a w jej wyniku powstają dwie grupy sulfhydrylowe zdolne do chelatowania jonu cynku w centrum aktywnym deacetylazy [127]. Skutecz-

ność kliniczna romidepsyny badana była w leczeniu chorych z nowotworami hematologicznymi, takimi jak CML, AML, MDS, MM oraz w skórnej (CTCL) i obwodowej postaci chłoniaka T-komórkowego (peripheral T-cell lymphoma – PTCL) [79]. W leczeniu chorych z ostrą i przewlekłą białaczką szpikową, szpiczakiem mnogim czy też zespołem mielodysplastycznym nie wykazano istotnej aktywności przeciwnowotworowej tego związku, chociaż stwierdzono pojedynczy przypadek całkowitej remisji u chorego z AML [11,58]. Wyraźną poprawę stanu klinicznego zaobserwowano u pacjentów z CTCL [5,97,123] i PTCL [24,96]. W pierwszym przypadku, analizę przeprowadzono na podstawie wyników dwóch wielośrodkowych badań fazy II, w których łącznie udział wzięło 167 chorych z CTCL, którzy wcześniej otrzymali przynajmniej jedną terapię systemową. Odpowiedź na leczenie uzyskano u 34% pacjentów (niezależnie od stadium zaawansowania choroby), w tym 6% to remisje całkowite, a czas trwania odpowiedzi wynosił średnio 13 miesięcy. Ważnym efektem klinicznym było zmniejszenie świądu skóry aż u 95% chorych. Do najczęściej obserwowanych działań ubocznych wymienić należy infekcje, nudności, zmęczenie, anoreksję, wymioty, zmiany w zapisie EKG oraz odchylenia wartości parametrów hematologicznych – leukopenię, granulocytopenię, limfocytopenię, trombocytopenię i anemię. Wśród poważnych zdarzeń niepożądanych, raportowanych u przynajmniej 2% chorych, były infekcje, sepsa, arytmie nadkomorowe i komorowe, neutropenia i trombocytopenia [5,97,123]. Wyniki przytoczonych badań stały się podstawą zatwierdzenia przez FDA w listopadzie 2009 roku romidepsyny, jako drugiego po vorinostacie inhibitora deacetylaz, do leczenia CTCL pod nazwą handlową Istodax® (Gloucester Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA). Rekomendowana dawka wynosi 14 mg/m² we wlewie dożylnym w 1-, 8-, 15- i 28-dniowych cyklach [119].

W dotychczasowych badaniach nie potwierdzono skuteczności romidepsyny w leczeniu chorych z guzami litymi [63].

Kwas walproinowy (VPA)

Kwas walproinowy, z grupy kwasów alifatycznych, należy do inhibitorów deacetylaz klasy I i IIα i jest uznanym lekiem przeciwdrgawkowym [12]. Aktywność przeciwnowotworowa tego związku badana była zarówno w schorzeniach hematologicznych [61], jak i w zaawansowanych guzach litych [3]. W leczeniu AML i MDS odpowiedź uzyskano średnio u 24% pacjentów, przy czym była ona istotnie zależna od typu choroby w odniesieniu do klasyfikacji WHO i wystąpiła aż u 54% chorych z MDS z prawidłową liczbą komórek blastycznych w szpiku, ale tylko u 6% chorych z niedokrwistością oporną na leczenie z nadmiarem komórek blastycznych, u 16% chorych na AML i u żadnego pacjenta z przewlekłą białaczką mielomonocytową [61]. U chorych z zaawansowanymi guzami litymi (m.in. z rakiem odbytu, czerniakiem, rakiem piersi oraz NSCLC) nie stwierdzono obiektywnej odpowiedzi na terapię, jedynie u dwóch na 18 pacjentów osiągnięto stabilizację choroby, trwającą 3-5 miesięcy. MTD dla kwasu walproinowego wyniosła 60 mg/

kg/dobę i najczęściej dochodziło do wystąpienia działań niepożądanych ze strony układu neurologicznego (senność, bóle i zawroty głowy, dezorientacja) [3].

Mocetinostat

Mocetinostat należy do grupy benzamidów, hamujących deacetylazę klasy I i IV i jest jednym z najnowszych inhibitorów HDAC ocenianych w badaniach klinicznych [98]. Dotychczas opublikowano zaledwie kilka opracowań na ten temat, jedno z nich dotyczy badania fazy I u chorych z AML i MDS, w którym u trzech pacjentów udało się osiągnąć odpowiedź wyrażoną obniżeniem liczby komórek blastycznych do 5% lub poniżej. Efektem badania było określenie MTD dla nowego leku (60 mg/m²). Zaobserwowano zależne od dawki leku działania niepożądane, takie jak zmęczenie, nudności, wymioty i biegunki. Analiza krwinek białych krwi obwodowej wykazała proporcjonalną do stężenia inhibitora acetylację histonów H3. W podsumowaniu podkreślono bezpieczeństwo leku i jego aktywność przeciwbiałaczkową [33]. Obecnie oczekujemy na wyniki ponad dziesięciu badań klinicznych fazy I i II z zastosowaniem tego związku.

PODSUMOWANIE

Reasumując należy stwierdzić, że inhibitory deacetylaz histonów są dobrze tolerowane, a działania niepożądane obserwowano stosunkowo rzadko.

Obecnie kilka inhibitorów deacetylaz dostępnych jest jako leki lub podlega ocenie w poszczególnych fazach badań klinicznych. Różni je siła działania i specyficzność enzymatyczna. Nadal jednak nie jest wiadomo, które deacetylazy są najistotniejsze dla zainicjowania i podtrzymywania szlaków metabolicznych prowadzących do rozwoju nowotworu. Dlatego trudno jednoznacznie ocenić, czy najefektywniejszymi lekami z omawianej grupy okażą się te, które hamują aktywność tylko jednej klasy HDAC lub wręcz jedną ściśle określoną deacetylazę, czy może sukces terapeutyczny osiągnięty zostanie przy zastosowaniu mniej swoistych inhibitorów, wywierających wpływ na kilka szlaków komórkowych jednocześnie [63]. Tym niemniej już wkrótce związki te mogą stanowić istotny element terapii nowotworów różnego pochodzenia.

PISMIENICTWO

- [1] Adams J., Elliott P.J.: New agents in cancer clinical trials. *Oncogene*, 2000; 19: 6687-6692
- [2] Arnold M.A., Kim Y., Czubyrt M.P., Phan D., McAnally J., Qi X., Shelton J.M., Richardson J.A., Bassel-Duby R., Olson E.N.: MEF2C transcription factor controls chondrocyte hypertrophy and bone development. *Dev. Cell*, 2007; 12: 377-389
- [3] Atmaca A., Al-Batran S.E., Maurer A., Neumann A., Heinzl T., Hentsch B., Schwarz S.E., Hovelmann S., Gottlicher M., Knuth A., Jager E.: Valproic acid (VPA) in patients with refractory advanced cancer: a dose escalating phase I clinical trial. *Br. J. Cancer*, 2007; 97: 177-182
- [4] Badros A., Burger A.M., Philip S., Niesvizky R., Kolla S.S., Golubeva O., Harris C., Zwiebel J., Wright J.J., Espinoza-Delgado I., Baer M.R., Holleran J.L., Egorin M.J., Grant S.: Phase I study of vorinostat in combination with bortezomib for relapsed and refractory multiple myeloma. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 5250-5257
- [5] Bertino E.M., Otterson G.A.: Romidepsin: a novel histone deacetylase inhibitor for cancer. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2011; 20: 1151-1158
- [6] Bhaskara S., Chyla B.J., Amann J.M., Knutson S.K., Cortez D., Sun Z.W., Hiebert S.W.: Deletion of Histone Deacetylase 3 reveals critical roles in S phase progression and DNA damage control. *Mol. Cell*, 2008; 30: 61-72
- [7] Blumenschein G.R.Jr., Kies M.S., Papadimitrakopoulou V.A., Lu C., Kumar A.J., Ricker J.L., Chiao J.H., Chen C., Frankel S.R.: Phase II trial of the histone deacetylase inhibitor vorinostat (Zolinza, suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) in patients with recurrent and/or metastatic head and neck cancer. *Invest New Drugs*, 2008; 26: 81-87
- [8] Bolden J.E., Peart M.J., Johnstone R.W.: Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2006; 5: 769-784
- [9] Bradley D., Rathkopf D., Dunn R., Stadler W.M., Liu G., Smith D.C., Pili R., Zwiebel J., Scher H., Hussain M.: Vorinostat in advanced prostate cancer patients progressing on prior chemotherapy (National Cancer Institute Trial 6862): trial results and interleukin-6 analysis: a study by the Department of Defense Prostate Cancer Clinical Trial Consortium and University of Chicago Phase 2 Consortium. *Cancer*, 2009; 115: 5541-5549
- [10] Bubko I., Gruber B.M., Anuszewska E.L.: Rola proteasomu w terapii chorób nieuleczalnych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 314-325
- [11] Byrd J.C., Marcucci G., Parthun M.R., Xiao J.J., Klisovic R.B., Moran M., Lin T.S., Liu S., Sklenar A.R., Davis M.E., Lucas D.M., Fischer B., Shank R., Tejaswi S.L., Binkley P., Wright J., Chan K.K., Grever M.R.: A phase I and pharmacodynamic study of depsipeptide (FK228) in chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia. *Blood*, 2005; 105: 959-967
- [12] Cang S., Ma Y., Liu D.: New clinical developments in histone deacetylase inhibitors for epigenetic therapy of cancer. *J. Hematol. Oncol.*, 2009; 2: 22
- [13] Carew J.S., Giles F.J., Nawrocki S.T.: Histone deacetylase inhibitors: mechanisms of cell death and promise in combination cancer therapy. *Cancer Lett.*, 2008; 269: 7-17
- [14] Chang S., Young B.D., Li S., Qi X., Richardson J.A., Olson E.N.: Histone deacetylase 7 maintains vascular integrity by repressing matrix metalloproteinase 10. *Cell*, 2006; 126: 321-334
- [15] Chou C.W., Chen C.C.: HDAC inhibition upregulates the expression of angiostatic ADAMTS1. *FEBS Lett.*, 2008; 582: 4059-4065
- [16] ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Belinostat. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=belinostat> (02.04.2012)
- [17] ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Panobinostat. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=panobinostat> (02.04.2012)
- [18] ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Vorinostat. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=vorinostat> (02.04.2012)
- [19] ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. Vorinostat and bortezomib. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=vorinostat+and+bortezomib> (02.04.2012)
- [20] Crisanti M.C., Wallace A.F., Kapoor V., Vandermeers F., Dowling M.L., Pereira L.P., Coleman K., Campling B.G., Fridlender Z.G., Kao G.D., Albelda S.M.: The HDAC inhibitor panobinostat (LBH589) inhibits mesothelioma and lung cancer cells in vitro and in vivo with

particular efficacy for small cell lung cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 2221-2231

[21] de Bono J.S., Kristeleit R., Tolcher A., Fong P., Pacey S., Karavasili V., Mita M., Shaw H., Workman P., Kaye S., Rowinsky E.K., Aherne W., Atadja P., Scott J.W., Patnaik A.: Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of LAQ824, a hydroxamate histone deacetylase inhibitor with a heat shock protein-90 inhibitory profile, in patients with advanced solid tumors. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 6663-6673

[22] Dickinson M., Ritchie D., DeAngelo D.J., Spencer A., Ottmann O.G., Fischer T., Bhalla K.N., Liu A., Parker K., Scott J.W., Bishton M., Prince H.M.: Preliminary evidence of disease response to the pan deacetylase inhibitor panobinostat (LBH589) in refractory Hodgkin Lymphoma. *Br. J. Haematol.*, 2009; 147: 97-101

[23] Duan H., Heckman C.A., Boxer L.M.: Histone deacetylase inhibitors down-regulate bcl-2 expression and induce apoptosis in t(14;18) lymphomas. *Mol. Cell Biol.*, 2005; 25: 1608-1619

[24] Dunleavy K., Piekarz R.L., Zain J., Janik J.E., Wilson W.H., O'Connor O.A., Bates S.E.: New strategies in peripheral T-cell lymphoma: understanding tumor biology and developing novel therapies. *Clin. Cancer Res.*, 2010; 16: 5608-5617

[25] Duvic M., Olsen E.A., Breneman D., Pacheco T.R., Parker S., Vonderheid E.C., Abuav R., Ricker J.L., Rizvi S., Chen C., Boileau K., Gunchenko A., Sanz-Rodriguez C., Geskin L.J.: Evaluation of the long-term tolerability and clinical benefit of vorinostat in patients with advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Clin. Lymphoma Myeloma*, 2009; 9: 412-416

[26] Duvic M., Talpur R., Ni X., Zhang C., Hazarika P., Kelly C., Chiao J.H., Reilly J.F., Ricker J.L., Richon V.M., Frankel S.R.: Phase 2 trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood*, 2007; 109: 31-39

[27] Duvic M., Vu J.: Vorinostat: a new oral histone deacetylase inhibitor approved for cutaneous T-cell lymphoma. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2007; 16: 1111-1120

[28] Ellis L., Hammers H., Pili R.: Targeting tumor angiogenesis with histone deacetylase inhibitors. *Cancer Lett.*, 2009; 280: 145-153

[29] Federico M., Bagella L.: Histone deacetylase inhibitors in the treatment of hematological malignancies and solid tumors. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2011; 2011: 475641

[30] Finnin M.S., Donigian J.R., Cohen A., Richon V.M., Rifkind R.A., Marks P.A., Breslow R., Pavletich N.P.: Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature*, 1999; 401: 188-193

[31] Fraga M.F., Ballestar E., Villar-Garea A., Boix-Chornet M., Espada J., Schotta G., Bonaldi T., Haydon C., Ropero S., Petrie K., Iyer N.G., Perez-Rosado A., Calvo E., Lopez J.A., Cano A. i wsp.: Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nat. Genet.*, 2005; 37: 391-400

[32] Galanis E., Jaeckle K.A., Maurer M.J., Reid J.M., Ames M.M., Hardwick J.S., Reilly J.F., Loboda A., Nebozhyn M., Fantin V.R., Richon V.M., Scheithauer B., Giannini C., Flynn P.J., Moore D.F.Jr., Zwiebel J., Buckner J.C.: Phase II trial of vorinostat in recurrent glioblastoma multiforme: a north central cancer treatment group study. *J. Clin. Oncol.*, 2009; 27: 2052-2058

[33] Garcia-Manero G., Assouline S., Cortes J., Estrov Z., Kantarjian H., Yang H., Newsome W.M., Miller W.H., Jr., Rousseau C., Kalita A., Bonfils C., Dubay M., Patterson T.A., Li Z., Besterman J.M., Reid G., Laille E., Martell R.E., Minden M.: Phase 1 study of the oral isotype specific histone deacetylase inhibitor MGCD0103 in leukemia. *Blood*, 2008; 112: 981-989

[34] Garcia-Manero G., Yang H., Bueso-Ramos C., Ferrajoli A., Cortes J., Wierda W.G., Faderl S., Koller C., Morris G., Rosner G., Loboda A., Fantin V.R., Randolph S.S., Hardwick J.S., Reilly J.F. i wsp.: Phase 1 study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat (suberoylani-

lide hydroxamic acid [SAHA]) in patients with advanced leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood*, 2008; 111: 1060-1066

[35] Giles F., Fischer T., Cortes J., Garcia-Manero G., Beck J., Ravandi F., Masson E., Rae P., Laird G., Sharma S., Kantarjian H., Dugan M., Albitar M., Bhalla K.: A phase I study of intravenous LBH589, a novel cinnamic hydroxamic acid analogue histone deacetylase inhibitor, in patients with refractory hematologic malignancies. *Clin. Cancer Res.*, 2006; 12: 4628-4635

[36] Gimsing P.: Belinostat: a new broad acting antineoplastic histone deacetylase inhibitor. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2009; 18: 501-508

[37] Gimsing P., Hansen M., Knudsen L.M., Knoblauch P., Christensen I.J., Ooi C.E., Buhl-Jensen P.: A phase I clinical trial of the histone deacetylase inhibitor belinostat in patients with advanced hematological neoplasia. *Eur. J. Haematol.*, 2008; 81: 170-176

[38] Glaser K.B., Staver M.J., Waring J.F., Stender J., Ulrich R.G., Davidsen S.K.: Gene expression profiling of multiple histone deacetylase (HDAC) inhibitors: defining a common gene set produced by HDAC inhibition in T24 and MDA carcinoma cell lines. *Mol. Cancer Ther.*, 2003; 2: 151-163

[39] Grant C., Rahman F., Piekarz R., Peer C., Frye R., Robey R.W., Gardner E.R., Figg W.D., Bates S.E.: Romidepsin: a new therapy for cutaneous T-cell lymphoma and a potential therapy for solid tumors. *Expert. Rev. Anticancer Ther.*, 2010; 10: 997-1008

[40] Hagelkruys A., Sawicka A., Rennmayr M., Seiser C.: The biology of HDAC in cancer: the nuclear and epigenetic components. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2011; 206: 13-37

[41] Hauschild A., Trefzer U., Garbe C., Kaehler K.C., Ugurel S., Kiecker F., Eigentler T., Krissel H., Schott A., Schadendorf D.: Multicenter phase II trial of the histone deacetylase inhibitor pyridylmethyl-N-4-[(2-aminophenyl)-carbamoyl]-benzyl]-carbamate in pretreated metastatic melanoma. *Melanoma Res.*, 2008; 18: 274-278

[42] Hitomi T., Matsuzaki Y., Yokota T., Takaoka Y., Sakai T.: p15(INK4b) in HDAC inhibitor-induced growth arrest. *FEBS Lett.*, 2003; 554: 347-350

[43] Im J.Y., Park H., Kang K.W., Choi W.S., Kim H.S.: Modulation of cell cycles and apoptosis by apicidin in estrogen receptor (ER)-positive and-negative human breast cancer cells. *Chem. Biol. Interact.*, 2008; 172: 235-244

[44] Imai T., Adachi S., Nishijo K., Ohgushi M., Okada M., Yasumi T., Watanabe K., Nishikomori R., Nakayama T., Yonehara S., Toguchida J., Nakahata T.: FR901228 induces tumor regression associated with induction of Fas ligand and activation of Fas signaling in human osteosarcoma cells. *Oncogene*, 2003; 22: 9231-9242

[45] Inoue T., Hiratsuka M., Osaki M., Oshimura M.: The molecular biology of mammalian SIRT2 in cell cycle regulation. *Cell Cycle*, 2007; 6: 1011-1018

[46] Insinga A., Minucci S., Pelicci P.G.: Mechanisms of selective anticancer action of histone deacetylase inhibitors. *Cell Cycle*, 2005; 4: 741-743

[47] Karagiannis T.C., El-Osta A.: Will broad-spectrum histone deacetylase inhibitors be superseded by more specific compounds? *Leukemia*, 2007; 21: 61-65

[48] Kato H., Tamamizu-Kato S., Shibasaki F.: Histone deacetylase 7 associates with hypoxia-inducible factor 1alpha and increases transcriptional activity. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 41966-41974

[49] Ke Q., Costa M.: Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol. Pharmacol.*, 2006; 70: 1469-1480

[50] Kelly W.K., O'Connor O.A., Krug L.M., Chiao J.H., Heaney M., Curley T., MacGregore-Cortelli B., Tong W., Secrist J.P., Schwartz L., Richardson S., Chu E., Olgac S., Marks P.A., Scher H., Richon V.M.: Phase I study of an oral histone deacetylase inhibitor, suberoylanilide hydroxamic acid, in patients with advanced cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2005; 23: 3923-3931

- [51] Kelly W.K., Richon V.M., O'Connor O., Curley T., MacGregor-Curtelli B., Tong W., Klang M., Schwartz L., Richardson S., Rosa E., Drobnyak M., Cordon-Cordo C., Chiao J.H., Rifkind R., Marks P.A., Scher H.: Phase I clinical trial of histone deacetylase inhibitor: suberoylanilide hydroxamic acid administered intravenously. *Clin. Cancer Res.*, 2003; 9: 3578-3588
- [52] Keshelava N., Davicioni E., Wan Z., Ji L., Sposto R., Triche T.J., Reynolds C.P.: Histone deacetylase 1 gene expression and sensitization of multidrug-resistant neuroblastoma cell lines to cytotoxic agents by depsipeptide. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2007; 99: 1107-1119
- [53] Khan N., Jeffers M., Kumar S., Hackett C., Boldog F., Khramtsov N., Qian X., Mills E., Berghs S.C., Carey N., Finn P.W., Collins L.S., Tumber A., Ritchie J.W., Jensen P.B., Lichenstein H.S., Sehested M.: Determination of the class and isoform selectivity of small-molecule histone deacetylase inhibitors. *Biochem. J.*, 2008; 409: 581-589
- [54] Kim H.J., Bae S.C.: Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action and clinical trials as anti-cancer drugs. *Am. J. Transl. Res.*, 2011; 3: 166-179
- [55] Kim M.S., Kwon H.J., Lee Y.M., Baek J.H., Jang J.E., Lee S.W., Moon E.J., Kim H.S., Lee S.K., Chung H.Y., Kim C.W., Kim K.W.: Histone deacetylases induce angiogenesis by negative regulation of tumor suppressor genes. *Nat. Med.*, 2001; 7: 437-443
- [56] Kim S.H., Jeong J.W., Park J.A., Lee J.W., Seo J.H., Jung B.K., Bae M.K., Kim K.W.: Regulation of the HIF-1 α stability by histone deacetylases. *Oncol. Rep.*, 2007; 17: 647-651
- [57] Kim T.Y., Bang Y.J., Robertson K.D.: Histone deacetylase inhibitors for cancer therapy. *Epigenetics*, 2006; 1: 14-23
- [58] Klimek V.M., Fircanis S., Maslak P., Guernah I., Baum M., Wu N., Panageas K., Wright J.J., Pandolfi P.P., Nimer S.D.: Tolerability, pharmacodynamics, and pharmacokinetics studies of depsipeptide (romidepsin) in patients with acute myelogenous leukemia or advanced myelodysplastic syndromes. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 826-832
- [59] Komatsu N., Kawamata N., Takeuchi S., Yin D., Chien W., Miller C.W., Koeffler H.P.: SAHA, a HDAC inhibitor, has profound anti-growth activity against non-small cell lung cancer cells. *Oncol. Rep.*, 2006; 15: 187-191
- [60] Konstantinopoulos P.A., Vondoros G.P., Papavassiliou A.G.: FK228 (depsipeptide): a HDAC inhibitor with pleiotropic antitumor activities. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2006; 58: 711-715
- [61] Kuendgen A., Knipp S., Fox F., Strupp C., Hildebrandt B., Steidl C., Germing U., Haas R., Gattermann N.: Results of a phase 2 study of valproic acid alone or in combination with all-trans retinoic acid in 75 patients with myelodysplastic syndrome and relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Ann. Hematol.*, 2005; 84, Suppl 1: 61-66
- [62] Kwon S.H., Ahn S.H., Kim Y.K., Bae G.U., Yoon J.W., Hong S., Lee H.Y., Lee Y.W., Lee H.W., Han J.W.: Apicidin, a histone deacetylase inhibitor, induces apoptosis and Fas/Fas ligand expression in human acute promyelocytic leukemia cells. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 2073-2080
- [63] Lane A.A., Chabner B.A.: Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *J. Clin. Oncol.*, 2009; 27: 5459-5468
- [64] Le Tourneau C., Siu L.L.: Promising antitumor activity with MGCD0103, a novel isotype-selective histone deacetylase inhibitor. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2008; 17: 1247-1254
- [65] Levitzki A., Klein S.: Signal transduction therapy of cancer. *Mol. Aspects Med.*, 2010; 31: 287-329
- [66] Li Y., Kao G.D., Garcia B.A., Shabanowitz J., Hunt D.F., Qin J., Phelan C., Lazar M.A.: A novel histone deacetylase pathway regulates mitosis by modulating Aurora B kinase activity. *Genes. Dev.*, 2006; 20: 2566-2579
- [67] Liu T., Kuljaca S., Tee A., Marshall G.M.: Histone deacetylase inhibitors: multifunctional anticancer agents. *Cancer Treat. Rev.*, 2006; 32: 157-165
- [68] Lopez G., Liu J., Ren W., Wei W., Wang S., Lahat G., Zhu Q.S., Bornmann W.G., McConkey D.J., Pollock R.E., Lev D.C.: Combining PCI-24781, a novel histone deacetylase inhibitor, with chemotherapy for the treatment of soft tissue sarcoma. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 3472-3483
- [69] Luu T.H., Morgan R.J., Leong L., Lim D., McNamara M., Portnow J., Frankel P., Smith D.D., Doroshow J.H., Wong C., Aparicio A., Gandara D.R., Somlo G.: A phase II trial of vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in metastatic breast cancer: a California Cancer Consortium study. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 7138-7142
- [70] Ma X., Ezzeldin H.H., Diasio R.B.: Histone deacetylase inhibitors: current status and overview of recent clinical trials. *Drugs*, 2009; 69: 1911-1934
- [71] Mackay H.J., Hirte H., Colgan T., Covens A., MacAlpine K., Grenici P., Wang L., Mason J., Pham P.A., Tsao M.S., Pan J., Zwiebel J., Oza A.M.: Phase II trial of the histone deacetylase inhibitor belinostat in women with platinum resistant epithelial ovarian cancer and micropapillary (LMP) ovarian tumours. *Eur. J. Cancer*, 2010; 46: 1573-1579
- [72] Mai A., Altucci L.: Epi-drugs to fight cancer: from chemistry to cancer treatment, the road ahead. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2009; 41: 199-213
- [73] Mann B.S., Johnson J.R., Cohen M.H., Justice R., Pazdur R.: FDA approval summary: vorinostat for treatment of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma. *Oncologist*, 2007; 12: 1247-1252
- [74] Marks P.A., Breslow R.: Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. *Nat. Biotechnol.*, 2007; 25: 84-90
- [75] Marks P.A., Xu W.S.: Histone deacetylase inhibitors: Potential in cancer therapy. *J. Cell Biochem.*, 2009; 107: 600-608
- [76] Marsoni S., Damia G., Camboni G.: A work in progress: the clinical development of histone deacetylase inhibitors. *Epigenetics*, 2008; 3: 164-171
- [77] Mazur G., Wrobel T., Jurczak W., Butrym A.: Nowe kierunki leczenia choniaków niezmierniczych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 707-721
- [78] McMahon L., Tamary H., Askin M., Adams-Graves P., Eberhardt R.T., Sutton M., Wright E.C., Castaneda S.A., Faller D.V., Perrine S.P.: A randomized phase II trial of arginine butyrate with standard local therapy in refractory sickle cell leg ulcers. *Br. J. Haematol.*, 2010; 151: 516-524
- [79] Mercurio C., Minucci S., Pelicci P.G.: Histone deacetylases and epigenetic therapies of hematological malignancies. *Pharmacol. Res.*, 2010; 62: 18-34
- [80] Minucci S., Pelicci P.G.: Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2006; 6: 38-51
- [81] Mitsiades C.S., Hideshima T., Chauhan D., McMillin D.W., Klippel S., Laubach J.P., Munshi N.C., Anderson K.C., Richardson P.G.: Emerging treatments for multiple myeloma: beyond immunomodulatory drugs and bortezomib. *Semin. Hematol.*, 2009; 46: 166-175
- [82] Mitsiades N., Mitsiades C.S., Richardson P.G., McMullan C., Poulaki V., Fanourakis G., Schlossman R., Chauhan D., Munshi N.C., Hideshima T., Richon V.M., Marks P.A., Anderson K.C.: Molecular sequelae of histone deacetylase inhibition in human malignant B cells. *Blood*, 2003; 101: 4055-4062
- [83] Modesitt S.C., Sill M., Hoffman J.S., Bender D.P.: A phase II study of vorinostat in the treatment of persistent or recurrent epithelial ovarian or primary peritoneal carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol. Oncol.*, 2008; 109: 182-186
- [84] Moore P.S., Barbi S., Donadelli M., Costanzo C., Bassi C., Palmieri M., Scarpa A.: Gene expression profiling after treatment with the histone deacetylase inhibitor trichostatin A reveals altered expression

of both pro- and anti-apoptotic genes in pancreatic adenocarcinoma cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 2004; 1693: 167-176

[85] Munster P., Marchion D., Bicaku E., Lacey M., Kim J., Centeno B., Daud A., Neuger A., Minton S., Sullivan D.: Clinical and biological effects of valproic acid as a histone deacetylase inhibitor on tumor and surrogate tissues: phase I/II trial of valproic acid and epirubicin/FEC. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 2488-2496

[86] Nakata S., Yoshida T., Horinaka M., Shiraiishi T., Wakada M., Sakai T.: Histone deacetylase inhibitors upregulate death receptor 5/TRAIL-R2 and sensitize apoptosis induced by TRAIL/APO2-L in human malignant tumor cells. *Oncogene*, 2004; 23: 6261-6271

[87] National Cancer Institute at the National Institutes of Health. Search for Clinical Trials. <http://www.cancer.gov/clinicaltrials/search> (02.04.2012)

[88] National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#nhl (02.04.2012)

[89] Nebbioso A., Clarke N., Voltz E., Germain E., Ambrosino C., Bontempo P., Alvarez R., Schiavone E.M., Ferrara F., Bresciani F., Weisz A., de Lera A.R., Gronemeyer H., Altucci L.: Tumor-selective action of HDAC inhibitors involves TRAIL induction in acute myeloid leukemia cells. *Nat. Med.*, 2005; 11: 77-84

[90] Nimmanapalli R., Fuino L., Stobaugh C., Richon V., Bhalla K.: Co-treatment with the histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) enhances imatinib-induced apoptosis of Bcr-Abl-positive human acute leukemia cells. *Blood*, 2003; 101: 3236-3239

[91] Noureen N., Rashid H., Kalsoom S.: Identification of type-specific anticancer histone deacetylase inhibitors: road to success. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2010; 66: 625-633

[92] O'Connor O.A., Heaney M.L., Schwartz L., Richardson S., Wilim R., MacGregor-Cortelli B., Curly T., Moskowitz C., Portlock C., Horwitz S., Zelenetz A.D., Frankel S., Richon V., Marks P., Kelly W.K.: Clinical experience with intravenous and oral formulations of the novel histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid in patients with advanced hematologic malignancies. *J. Clin. Oncol.*, 2006; 24: 166-173

[93] Olsen E.A., Kim Y.H., Kuzel T.M., Pacheco T.R., Foss F.M., Parker S., Frankel S.R., Chen C., Ricker J.L., Arduino J.M., Duvic M.: Phase IIb multicenter trial of vorinostat in patients with persistent, progressive, or treatment refractory cutaneous T-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 2007; 25: 3109-3115

[94] Pan L.N., Lu J., Huang B.: HDAC inhibitors: a potential new category of anti-tumor agents. *Cell Mol. Immunol.*, 2007; 4: 337-343

[95] Petrella A., D'Acunzio C.W., Rodriguez M., Festa M., Tosco A., Bruno I., Terracciano S., Taddei M., Paloma L.G., Parente L.: Effects of FR235222, a novel HDAC inhibitor, in proliferation and apoptosis of human leukemia cell lines: role of annexin A1. *Eur. J. Cancer*, 2008; 44: 740-749

[96] Piekarczyk R.L., Frye R., Prince H.M., Kirschbaum M.H., Zain J., Allen S.L., Jaffe E.S., Ling A., Turner M., Peer C.J., Figg W.D., Steinberg S.M., Smith S., Joske D., Lewis I., Hutchins L., Craig M., Fojo A.T., Wright J.J., Bates S.E.: Phase 2 trial of romidepsin in patients with peripheral T-cell lymphoma. *Blood*, 2011; 117: 5827-5834

[97] Piekarczyk R.L., Frye R., Turner M., Wright J.J., Allen S.L., Kirschbaum M.H., Zain J., Prince H.M., Leonard J.P., Geskin L.J., Reeder C., Joske D., Figg W.D., Gardner E.R., Steinberg S.M., Jaffe E.S., Stetler-Stevenson M., Lade S., Fojo A.T., Bates S.E.: Phase II multi-institutional trial of the histone deacetylase inhibitor romidepsin as monotherapy for patients with cutaneous T-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 2009; 27: 5410-5417

[98] Prince H.M., Bishton M.J., Harrison S.J.: Clinical studies of histone deacetylase inhibitors. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 3958-3969

[99] Prince H.M., Bishton M.J., Johnstone R.W.: Panobinostat (LBH589): a potent pan-deacetylase inhibitor with promising activity against hematologic and solid tumors. *Future Oncol.*, 2009; 5: 601-612

[100] Qian D.Z., Kachhap S.K., Collis S.J., Verheul H.M., Carducci M.A., Atadja P., Pili R.: Class II histone deacetylases are associated with VHL-independent regulation of hypoxia-inducible factor 1 α . *Cancer Res.*, 2006; 66: 8814-8821

[101] Qian X., Ara G., Mills E., LaRochelle W.J., Lichenstein H.S., Jeffers M.: Activity of the histone deacetylase inhibitor belinostat (PXD101) in preclinical models of prostate cancer. *Int. J. Cancer*, 2008; 122: 1400-1410

[102] Ramalingam S.S., Parise R.A., Ramanathan R.K., Lagattuta T.F., Musguire L.A., Stoller R.G., Potter D.M., Argiris A.E., Zwiebel J.A., Egorin M.J., Belani C.P.: Phase I and pharmacokinetic study of vorinostat, a histone deacetylase inhibitor, in combination with carboplatin and paclitaxel for advanced solid malignancies. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 3605-3610

[103] Robbins A.R., Jablonski S.A., Yen T.J., Yoda K., Robey R., Bates S.E., Sackett D.L.: Inhibitors of histone deacetylases alter kinetochore assembly by disrupting pericentromeric heterochromatin. *Cell Cycle*, 2005; 4: 717-726

[104] Rodriguez-Gonzalez A., Lin T., Ikeda A.K., Simms-Waldrup T., Fu C., Sakamoto K.M.: Role of the aggressive pathway in cancer: targeting histone deacetylase 6-dependent protein degradation. *Cancer Res.*, 2008; 68: 2557-2560

[105] Rosato R.R., Maggio S.C., Almenara J.A., Payne S.G., Atadja P., Spiegel S., Dent P., Grant S.: The histone deacetylase inhibitor LAQ824 induces human leukemia cell death through a process involving XIAP down-regulation, oxidative injury, and the acid sphingomyelinase-dependent generation of ceramide. *Mol. Pharmacol.*, 2006; 69: 216-225

[106] Ruefli A.A., Ausserlechner M.J., Bernhard D., Sutton V.R., Tanton K.M., Kofler R., Smyth M.J., Johnstone R.W.: The histone deacetylase inhibitor and chemotherapeutic agent suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) induces a cell-death pathway characterized by cleavage of Bid and production of reactive oxygen species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 10833-10838

[107] Sandler A., Gray R., Perry M.C., Brahmer J., Schiller J.H., Dowlati A., Lilienbaum R., Johnson D.H.: Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N. Eng. J. Med.*, 2006; 355: 2542-2550

[108] Schneider-Stock R., Ocker M.: Epigenetic therapy in cancer: molecular background and clinical development of histone deacetylase and DNA methyltransferase inhibitors. *Drugs*, 2007; 10: 557-561

[109] Shah J.J., Orłowski R.Z.: Proteasome inhibitors in the treatment of multiple myeloma. *Leukemia*, 2009; 23: 1964-1979

[110] Siegel D., Hussein M., Belani C., Robert F., Galanis E., Richon V.M., Garcia-Vargas J., Sanz-Rodriguez C., Rizvi S.: Vorinostat in solid and hematologic malignancies. *J. Hematol. Oncol.*, 2009; 2: 31

[111] Singh T.R., Shankar S., Srivastava R.K.: HDAC inhibitors enhance the apoptosis-inducing potential of TRAIL in breast carcinoma. *Oncogene*, 2005; 24: 4609-4623

[112] Smith K.T., Workman J.L.: Histone deacetylase inhibitors: anticancer compounds. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2009; 41: 21-25

[113] Smith L.T., Otterson G.A., Plass C.: Unraveling the epigenetic code of cancer for therapy. *Trends Genet.*, 2007; 23: 449-456

[114] Steele N.L., Plumb J.A., Vidal L., Tjornelund J., Knoblauch P., Rasmussen A., Ooi C.E., Buhl-Jensen P., Brown R., Evans T.R., DeBono J.S.: A phase 1 pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the histone deacetylase inhibitor belinostat in patients with advanced solid tumors. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 804-810

[115] Suthesophon K., Nishimura N., Kobayashi Y., Furukawa Y., Kawano M., Itoh K., Kano Y., Ishii H., Furukawa Y.: Involvement of the tumor necrosis factor (TNF)/TNF receptor system in leukemic cell apoptosis induced by histone deacetylase inhibitor depsipeptide (FK228). *J. Cell Physiol.*, 2005; 203: 387-397

- [116] Takai N., Narahara H.: Histone deacetylase inhibitor therapy in epithelial ovarian cancer. *J. Oncol.*, 2010; 2010: 458431
- [117] Tan J., Zhuang L., Jiang X., Yang K.K., Karuturi K.M., Yu Q.: Apoptosis signal-regulating kinase 1 is a direct target of E2F1 and contributes to histone deacetylase inhibitor-induced apoptosis through positive feedback regulation of E2F1 apoptotic activity. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 10508-10515
- [118] Traynor A.M., Dubey S., Eickhoff J.C., Kolesar J.M., Schell K., Huie M.S., Groteluschen D.L., Marcotte S.M., Hallahan C.M., Weeks H.R., Wilding G., Espinoza-Delgado I., Schiller J.H.: Vorinostat (NSC# 701852) in patients with relapsed non-small cell lung cancer: a Wisconsin Oncology Network phase II study. *J. Thorac Oncol.*, 2009; 4: 522-526
- [119] U.S. Food and Drug Administration. Istoprox (romidepsin) for injection. Highlights of prescribing information. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/022393lbl.pdf (02.04.2012)
- [120] Ungerstedt J.S., Sowa Y., Xu W.S., Shao Y., Dokmanovic M., Perez G., Ngo L., Holmgren A., Jiang X., Marks P.A.: Role of thioredoxin in the response of normal and transformed cells to histone deacetylase inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 673-678
- [121] Vega R.B., Matsuda K., Oh J., Barbosa A.C., Yang X., Meadows E., McAnally J., Pomajzl C., Shelton J.M., Richardson J.A., Karsenty G., Olson E.N.: Histone deacetylase 4 controls chondrocyte hypertrophy during skeletogenesis. *Cell*, 2004; 119: 555-566
- [122] Vrana J.A., Decker R.H., Johnson C.R., Wang Z., Jarvis W.D., Richon V.M., Ehinger M., Fisher P.B., Grant S.: Induction of apoptosis in U937 human leukemia cells by suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) proceeds through pathways that are regulated by Bcl-2/Bcl-XL, c-Jun, and p21CIP1, but independent of p53. *Oncogene*, 1999; 18: 7016-7025
- [123] Whittaker S.J., Demierre M.F., Kim E.J., Rook A.H., Lerner A., Duvic M., Scarisbrick J., Reddy S., Robak T., Becker J.C., Samtsov A., McCulloch W., Kim Y.H.: Final results from a multicenter, international, pivotal study of romidepsin in refractory cutaneous T-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28: 4485-4491
- [124] Whittle J.R., Powell M.J., Popov V.M., Shirley L.A., Wang C., Pestell R.G.: Sirtuins, nuclear hormone receptor acetylation and transcriptional regulation. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2007; 18: 356-364
- [125] Witt O., Deubzer H.E., Milde T., Oehme I.: HDAC family: what are the cancer relevant targets? *Cancer Lett.*, 2009; 277: 8-21
- [126] Wong S.T.: Emerging treatment combinations: integrating therapy into clinical practice. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, 2009; 66: S9-S14
- [127] Xiao J.J., Foraker A.B., Swaan P.W., Liu S., Huang Y., Dai Z., Chen J., Sadee W., Byrd J., Marcucci G., Chan K.K.: Efflux of depsipeptide FK228 (FR901228, NSC-630176) is mediated by P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein 1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005; 313: 268-276
- [128] Xu W.S., Parmigiani R.B., Marks P.A.: Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action. *Oncogene*, 2007; 26: 5541-5552
- [129] Yao Y.L., Yang W.M.: Beyond histone and deacetylase: an overview of cytoplasmic histone deacetylases and their nonhistone substrates. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2011; 2011: 146493
- [130] Zain J.M., O'Connor O.: Targeted treatment and new agents in peripheral T-cell lymphoma. *Int. J. Hematol.*, 2010; 92: 33-44
- [131] Zhang C., Richon V., Ni X., Talpur R., Duvic M.: Selective induction of apoptosis by histone deacetylase inhibitor SAHA in cutaneous T-cell lymphoma cells: relevance to mechanism of therapeutic action. *J. Invest. Dermatol.*, 2005; 125: 1045-1052
- [132] Zhang C.L., McKinsey T.A., Chang S., Antos C.L., Hill J.A., Olson E.N.: Class II histone deacetylases act as signal-responsive repressors of cardiac hypertrophy. *Cell*, 2002; 110: 479-488
- [133] Zhang X.D., Gillespie S.K., Borrow J.M., Hersey P.: The histone deacetylase inhibitor suberic bishydroxamate regulates the expression of multiple apoptotic mediators and induces mitochondria-dependent apoptosis of melanoma cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2004; 3: 425-435
- [134] Zhang Y., Adachi M., Kawamura R., Imai K.: Bmf is a possible mediator in histone deacetylase inhibitors FK228 and CBHA-induced apoptosis. *Cell Death Differ.*, 2006; 13: 129-140
- [135] Zhang Y., Li N., Caron C., Matthias G., Hess D., Khochbin S., Matthias P.: HDAC-6 interacts with and deacetylates tubulin and microtubules in vivo. *EMBO J.*, 2003; 22: 1168-1179
- [136] Zhao Y., Lu S., Wu L., Chai G., Wang H., Chen Y., Sun J., Yu Y., Zhou W., Zheng Q., Wu M., Otterson G.A., Zhu W.G.: Acetylation of p53 at lysine 373/382 by the histone deacetylase inhibitor depsipeptide induces expression of p21(Waf1/Cip1). *Mol. Cell Biol.*, 2006; 26: 2782-2790
- [137] Zhao Y., Tan J., Zhuang L., Jiang X., Liu E.T., Yu Q.: Inhibitors of histone deacetylases target the Rb-E2F1 pathway for apoptosis induction through activation of proapoptotic protein Bim. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 16090-16095

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.