

# MECHANIZM OPORNOŚCI NA LEKI PLATYNOWE ORAZ STRATEGIE POKONYWANIA TEGO ZJAWISKA

## THE MECHANISM OF RESISTANCE TO PLATINUM DRUGS AND STRATEGIES TO OVERCOME THIS PHENOMENON

**Wanda Weiss-Gradzińska, Wojciech Krzempek,  
Lilianna Trynda-Lemiesz\***

*Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,  
Katedra i Zakład Chemii Analitycznej  
ul. Borowska 211 A, 50-566 Wrocław  
\*e-mail: lilianna.trynda-lemiesz@am.wroc.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Istota procesu nowotworowego
2. Mechanizmy powstawania lekooporności
3. Kompleksy platyny jako leki cytostatyczne
4. Mechanizmy oporności na leki platynowe
5. Strategie pokonywania zjawiska oporności na leki platynowe
  - 5.1. Kombinacje cisplatyny z modulatorami odgrywającymi główną rolę w rozwoju oporności
  - 5.2. Łączenie cisplatyny z lekami, których działanie skierowane jest wprost na komórki nowotworowe
  - 5.3. Nowe leki platynowe
    - 5.3.1. Związki platyny(IV)
    - 5.3.2. Wielojądrowe kompleksy platyny
  - 5.4. Nowe postacie leku
    - 5.4.1. Enkapsulacja
    - 5.4.2. Nanorurki
6. Infekcja wirusami onkolitycznymi

Uwagi końcowe

Piśmiennictwo cytowane

---

**Dr hab. Lilianna Trynda-Lemiesz** jest absolwentką chemii i wieloletnim pracownikiem Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Przez ostatnie lata była kierownikiem Katedry Chemii Analitycznej na Wydziale Farmacji Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Badania naukowe, które prowadzi dotyczą przede wszystkim przenoszenia leków przez biologiczne układy transportujące ze szczególnym uwzględnieniem kompleksów metali o właściwościach przeciwnowotworowych.

**Mgr farmacji Wanda Weiss-Gradzińska** ukończyła Wydział Farmacji Akademii Medycznej we Wrocławiu. Jest wykładowcą w Katedrze Chemii Analitycznej. Jej zainteresowania naukowe to nowej generacji leki przeciwnowotworowe.

**Mgr farmacji Wojciech Krzempek** jest absolwentem Wydziału Farmacji Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Był dyplomantem w Katedrze Chemii Analitycznej. Obecnie pracuje w firmie farmaceutycznej.

## ABSTRACT

Platinum drugs belong to one of the oldest [2] and best investigated groups of cytotoxic drugs. On account of their high efficacy and alkylating-like action [14] they are used in a treatment of various types of neoplasms [3–5]. Despite investigators' best efforts survival time of patients diagnosed with cancer is still short. Responsible for the fact is high toxicity of used therapeutic methods and development of resistance to them [3–5, 19]. In this paper authors review reasons behind decreased sensitivity of neoplastic cells to platinum treatment and discuss the newest promising trends in its overcoming.

Due to different properties of neoplastic cells, availability of a chemotherapeutic agent inside a tumour is limited [9–12]. Moreover continuous development of resistance to platinum drugs further decreases their cellular concentration and inactivates their functions. Also owing to increased activity of DNA repair systems, higher tolerance to genome deformations and numerous mechanisms that lead to impaired apoptosis, drug efficacy is reduced [3–5, 19].

In order to increase a potency of platinum agents new therapeutic strategies are investigated. Coadministration with resistance modulators [20, 22, 23] and combination therapy with other antineoplastic drugs [8, 24–30] have already proved their effectiveness. Additionally, newer generations of platinum drugs are developed [15–18]. Mostly platinum(IV) prodrug complexes often releasing axial ligands with their own pharmacological action [5, 6, 31], but also multi-nuclear platinum compounds that form more complex DNA-adducts [32–35]. Other strategies include the development of innovative dosage forms such as single walled carbon nanotubes (SWCNTs), multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) [38, 39] or encapsulation [36, 37]. Finally utilisation of oncolytic viruses could be a way to selectively destroy neoplastically transformed cells [40].

Keywords: platinum drugs, drug resistance, cancer therapy, influx, efflux, carbon nanotubes, cisplatin

Słowa kluczowe: leki platynowe, oporność lekowa, leczenie nowotworów, influx, efflux, nanorurki węglowe, cisplatyna

---

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ABC	– kasetę wiążącą ATP (ang. <i>ATP-binding Cassette</i> )
ABCC1/2	– białka związane z opornością wielolekową (ang. <i>multi-drug resistance-associated protein 1</i> )
AfT	– apoferrytyna (ang. <i>apoferritin</i> )
APO-1	– antygen apoptozy 1, CD95, receptor śmierci Fas (FasR) (ang. <i>apoptosis antigen 1</i> )
ATP	– adenozyno-5'-trifosforan (ang. <i>adenosine-5'-triphosphate</i> )
ATP7A	– transportująca miedź ATP-aza 1 (ang. <i>copper-transporting ATPase 1</i> )
BAD	– promotor śmierci związany z Bcl-2 (ang. <i>Bcl-2-associated death promoter</i> )
BAX	– białko x związane z Bcl-2 (ang. <i>Bcl-2-associated X protein</i> )
Bcl-2	– podstawowe białko rodziny Bcl-2, chłoniaka z komórek typu B (ang. <i>B-cell lymphoma</i> )
Bcl-xS	– białko rodziny Bcl-2, krótsza forma białka Bcl-x (ang. <i>B-cell lymphoma-extra small</i> )
CH	– cholesterol (ang. <i>cholesterol</i> )
COX-2	– cyklooksygenaza 2 (ang. <i>cyclooxygenase-2</i> )
Ctr1	– transporter miedziowy 1 (ang. <i>copper transporter 1</i> )
DNA	– kwas deoksyrybonukleinowy (ang. <i>deoxyribonucleic Acid</i> )
ECMP	– białka macierzy pozakomórkowej (ang. <i>extracellular matrix proteins</i> )
EGFR	– receptor nabłonkowego czynnika wzrostu (ang. <i>epidermal growth factor receptor</i> )
FasL	– ligand receptora śmierci Fas (ang. <i>fas ligand</i> )
FDA	– Agencja ds. Żywności i Leków (ang. <i>food and drug Administration</i> )
FUMP	– fluorourydyno monofosforan (ang. <i>Fluorouridine monophosphate</i> )
G <sub>0</sub>	– faza spoczynku (ang. <i>G zero phase</i> )
G <sub>1</sub>	– faza wzrostu 1, przerwa 1 (ang. <i>gap 1</i> )
G <sub>2</sub>	– faza wzrostu 2, przerwa 2 (ang. <i>gap 2</i> )
GGR	– całościowa naprawa genomu (ang. <i>global genome repair</i> )
GGT	– $\gamma$ -glutamyl transferaza (ang. <i>gamma glutamyl transferase</i> )
GPX1	– peroksydaza glutationowa 1 (ang. <i>glutathione peroxidase 1</i> )

---

GSH	– glutation (ang. <i>glutathione</i> )
GST	– glutationo- <i>S</i> -transferaza (ang. <i>glutathione S-transferase</i> )
H-1PV	– parwowirus H-1 (ang. <i>parvovirus H-1</i> )
HER2	– drugi ludzki naskórkowy receptor dla czynnika wzrostu (ang. <i>human epidermal growth factor receptor 2</i> )
HMGB1	– białko dużej mobilności B1 (ang. <i>high-mobility group protein B1</i> )
ICL repair	– naprawa międzycieniowych połączeń krzyżowych (ang. <i>intrastrand crosslink lesion repair</i> )
M	– faza mitozy (ang. <i>mitosis</i> )
MMR	– naprawa niesparowanych zasad (ang. <i>mismatch repair</i> )
MRP-1	– białko związane z opornością wielolekową (ang. <i>multi-drug resistance protein 1</i> )
MT	– metalotioneina (ang. <i>metallothionein</i> )
MWCNTs	– wielowarstwowe nanorurki węglowe (ang. <i>multi-walled carbon nanotubes</i> )
NER	– naprawa przez wycięcie nukleotydu (ang. <i>nucleotide excision repair</i> )
NSCLC	– niedrobnokomórkowy rak płuc (ang. <i>non-small-cell lung carcinoma</i> )
LMP	– permeabilizacja błony lizosomu (ang. <i>lysosomal membrane permeabilization</i> )
PC	– fosfatydylocholina (ang. <i>phosphatidylcholine</i> )
PE	– fosfatydyloetanolamina (ang. <i>phosphatidylethanolamine</i> )
RR	– naprawa rekombinacyjna (ang. <i>recombinational repair</i> )
S	– w cyklu komórkowym, faza syntezy (ang. <i>synthesis</i> )
SWCNTs	– jednowarstwowe nanorurki węglowe (ang. <i>single walled carbon nanotubes</i> )
TLS	– naprawa ponad miejscem uszkodzenia (ang. <i>translesion synthesis</i> )
TNF	– czynnik martwicy nowotworu (ang. <i>tumor necrosis factor</i> )
VEGF	– czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. <i>vascular endothelial growth factor</i> )

## WPROWADZENIE

Choroby nowotworowe są drugą najczęstszą, po chorobach układu krążenia, przyczyną śmierci Polaków. Z danych statystycznych wynika, że 24% wszystkich zgonów w Polsce jest następstwem chorób nowotworowych [1]. Mimo iż arsenał leków cytostatycznych jest dość szeroki, to jednak czas przeżycia pacjentów zdiagnozowanych onkologicznie nie jest długi, wynosi od kilku miesięcy do kilku lat. Tak niekorzystne rezultaty leczenia są wynikiem dużej toksyczności cytostatyków, a także pojawiającej się w czasie terapii oporności komórek nowotworowych na stosowane leki. Terapia onkologiczna, to poszukiwanie kompromisu pomiędzy wysoką skutecznością leczenia i niską toksycznością wobec zdrowych komórek.

Do jednych z najdłużej i najczęściej stosowanych grup leków przeciwnowotworowych należą leki platynowe. Podstawowym lekiem tej grupy jest cisplatyna, której właściwości hamujące cykl komórkowy zostały odkryte już w 1965 roku [2]. Lek ten z powodzeniem stosowany jest od lat siedemdziesiątych, jednak ze względu na dużą toksyczność oraz liczne mechanizmy oporności rozwijające się w komórkach nowotworowych, stosowanie cisplatyny bywa ograniczone. Częściowym sukcesem w pokonywaniu tych problemów było wprowadzenie do leczenia karboplatyny i oksaliplatyny, czyli mniej toksycznych leków platyny(II) [3, 4].

Ze względu na potencjał do przełamывania oporności komórek nowotworowych bardziej obiecujące wydają się być związki platyny(IV), a zwłaszcza będące w fazie badań klinicznych satraplatyna i LA-12. Związki te są mniej reaktywne niż analogi cisplatyny, są prolekami, które w środowisku kwasowym wnętrza stransformowanych komórek łatwo ulegają redukcji do związków platyny(II) odłączając w tym procesie dwa ligandy osiowe [5]. Satraplatyna została zaprojektowana jako doustny prolek o właściwościach lipofilnych. Charakteryzuje się szybkim wychwytem komórkowym, co prowadzi do zwiększenia jej kumulacji w komórkach [5]. Satraplatyna powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie  $G_2/M$ . W porównaniu do oksaliplatyny charakteryzuje się większą aktywnością oraz czterokrotnie wyższym stężeniem komórkowym [6]. **Wszystko to czyni leki platynowe interesującym obiektem rozważań w odniesieniu do problemu oporności nowotworów na leczenie oraz strategii pokonywania zjawiska oporności.**

W pracy podjęto próbę wyjaśnienia najważniejszych mechanizmów powstawania oporności komórek nowotworowych na leki będące pochodnymi platyny oraz pokazania najnowszych strategii przełamывania oporności.

## 1. ISTOTA PROCESU NOWOTWOROWEGO

Nowotwór to nieprawidłowy i nadmierny rozrost liczby komórek, spowodowany utratą wpływu na kontrolę wzrostu, trwający pomimo usunięcia przyczyny stymulującej powstanie tej zmiany. Na skutek kumulacji pojawiających się stopniowo nieletalnych uszkodzeń genetycznych, komórki tracą zdolność

do różnicowania i kontynuują replikację niezależnie od czynników regulujących oraz kontrolujących normalny wzrost komórki. Wady w strukturze kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA) pojawiają się w komórkach osób genetycznie predysponowanych do rozwoju nowotworu a wywoływane są przez karcynogeny. Nowotwory zachowują się jak pasożyty, konkurują ze zdrowymi komórkami w walce o tlen i składniki odżywcze, co powoduje wyniszczanie organizmu [7]. Podstawowa różnica pomiędzy komórkami nowotworowymi a zdrowymi to ich niekontrolowany wzrost, inwazyjny charakter oraz zdolność do tworzenia ognisk przerzutowych [8].

Uszkodzenia DNA powodujące powstanie nowotworów mogą dotyczyć czterech klas genów:

- Genów regulatorowych, zwanych też protoonkogenami, obecnych w każdej prawidłowej komórce. Pełnią one ważną rolę w regulacji takich procesów jak wzrost, dojrzewanie i różnicowanie się komórek. Zawierają sekwencje białek (tzw. onkoprotein) uczestniczących w proliferacji komórek [9]. Geny regulatorowe na skutek przebiegającej transformacji nowotworowej (mutacji punktowej, amplifikacji lub translokacji) przekształcają się w onkogeny, które powodują niekontrolowaną proliferację komórek kończącą się rozwojem nowotworu. Onkogeny działają w sposób dominujący, gdyż prowadzą do transformacji komórek pomimo obecności ich prawidłowego odpowiednika [10].
- Genów supresorowych (antyonkogenów), które hamują proliferację komórek lub kontrolują procesy utrzymujące stabilność genetyczną komórki [10]. Są one czasem nazywane recesywnymi onkogenami, gdyż oba allele muszą być uszkodzone, aby zaszła transformacja komórki. Geny supresorowe obejmują dwie podgrupy. Wyróżnia się geny bramkowe, kodujące białka odpowiedzialne za hamowanie cyklu komórkowego oraz geny opiekuńcze, które kontrolują stabilność genetyczną komórki.
- Genów regulujących apoptozę. Apoptoza to zaprogramowana śmierć komórki w organizmie wielokomórkowym, mająca na celu usunięcie zużytych lub zniszczonych komórek. Jest aktywowana przez swoisty sygnał działający w określonym punkcie czasowym. Skierowanie komórki na szlak apoptotyczny jest wynikiem przewagi czynników proapoptotycznych m.in. białek Bcl-xS, BAD (związanego z Bcl-2 promotora śmierci), BAX (związanego z Bcl-2 białka X) nad czynnikami antyapoptotycznymi np. Bcl-2 [10]. Indukcja apoptozy może zachodzić dwukierunkowo. Istotą pierwszej drogi apoptozy jest pośredniczenie w przewodzeniu zewnątrzkomórkowego sygnału do komórki za pomocą receptorów śmierci np. oddziaływanie czynnika martwicy nowotworu (TNF) z receptorem TNF1 czy ligandu Fas (FasL) z receptorem APO-1 (receptorem dla antygeny apoptozy 1). Druga droga apoptozy może zostać zapoczątkowana przez cytostatyki lub radioterapię. Przebiega wtedy niezależnie od pobudzenia receptorów śmierci, z uwolnie-

niem cytochromu C aktywującego kaspazy, które rozpoczynają zaprogramowaną śmierć komórki [11].

- Genów naprawiających DNA

Leczenie chorób nowotworowych polega na zniszczeniu wszystkich stransformowanych komórek lub na zahamowaniu ich wzrostu. W terapii przeciwnowotworowej prowadzi się leczenie skojarzone: operacje chirurgiczne, chemioterapię, immunoterapię, hormono-terapię lub radioterapię. Takie wielokierunkowe leczenie zwiększa szansę na zniszczenie wszystkich komórek nowotworowych i osiągnięcie celu zasady „total cell kill” [8]. Dopiero po osiągnięciu owego efektu terapeutycznego można mówić o pomyślnym wyleczeniu z choroby nowotworowej.

Leczenie onkologiczne jest niezwykle uciążliwe dla chorego a towarzyszące mu bardzo poważne działania uboczne i toksyczne obciążają organizm pacjenta. Często zaawansowanie choroby nowotworowej lub ogólny stan chorego są przeciwwskazaniami do rozpoczęcia terapii onkologicznej. Problemy pojawiające się w czasie onkoterapii wynikają z natury samego guza nowotworowego lub **powstania oporności komórek nowotworowych na stosowane leki**. Ogólny stan chorego, budowa guza i lekooporność limitują skuteczność prowadzonego leczenia.

Ważnym celem chemioterapii jest dostarczenie czynnika przeciwnowotworowego do całej objętości guza. Jednak ze względu na nieprawidłową budowę sieci naczyń krwionośnych zadanie to jest znacznie utrudnione. Naczynia krwionośne w obrębie guza są nieszczelne, charakteryzują się powolnym przepływem krwi zakłócanym dodatkowo przez obecne przewężenia. Sieć naczyń krwionośnych jest niejednorodna, występują w niej obszary gorzej ukrwione, w których otrzymywane stężenie leku jest niższe, zatem mniej skuteczne. Sposobem radzenia sobie z tą właściwością guza jest systematyczne podawanie małych dawek leku. Postępowanie takie polega na niszczeniu komórek leżących w sąsiedztwie naczyń krwionośnych, prowadząc do stopniowej regresji guza i w konsekwencji do całkowitego jego zniszczenia [12]. Nieprawidłowe unaczynienie guza powoduje niedotlenienie komórek, a to z kolei prowadzi do selekcji komórek nowotworowych oraz dodatkowo zmniejsza skuteczność stosowanej chemio- i radioterapii. Podanie pacjentom erytropoetyny zwiększa natlenienie tkanki nowotworowej, redukując te negatywne zjawiska.

Kolejną właściwością guza nowotworowego jest jednorodność ciśnienia śródmiąższowego w całej jego objętości oraz jego niewielki spadek w warstwach najbardziej zewnętrznych. W połączeniu z brakiem prawidłowo działających naczyń limfatycznych przekłada się to na ograniczenie konwekcji w guzie. W efekcie zdolność leku do dyfuzji w masie nowotworowej jest ograniczona. Natomiast różnica ciśnień na granicy guza i środowiska zewnętrznego powoduje wypływ płynu tkankowego na zewnątrz nowotworu, zmniejszając w ten sposób ilość leku obecnego w masie nowotworowej [12]. Obecnie prowadzi się badania nad skutecznością hialuronidazy i kolagenazy w redukcji gęstości macierzy pozakomórkowej celem ułatwienia dyfuzji leków w obrębie mas nowotworowych.



Na skuteczność stosowanych cytostatyków wpływać może również tworzenie się pułapki jonowej. U podłoża tego zjawiska leży zdolność komórek nowotworowych do wypompo-wywania jonów  $H^+$  sprawniej niż czynią to komórki zdrowe. W efekcie wzrasta stężenie protonów w macierzy pozakomórkowej, co może prowadzić do uprotonowania leków i utrudnienia ich dyfuzji do wnętrza komórek. Zapobiega się temu niekorzystnemu zjawisku podając roztwór węgłanu sodu.

## 2. MECHANIZMY POWSTAWANIA LEKOOPORNOŚCI

Pod pojęciem oporności rozumie się ogół mechanizmów wpływających na obniżenie skuteczności prowadzonej terapii. Często terminu tego używa się w odniesieniu do drobnoustrojów i komórek nowotworowych, które mogą charakteryzować się pewną niewrażliwością na czynniki wcześniej uznane za skuteczne w ich leczeniu. Skuteczność odpowiedzi nowotworu na leczenie zależy w znacznej mierze od wrażliwości stransformowanych komórek na stosowaną terapię. Coraz częściej podczas leczenia pojawia się problem lekooporności, który skutecznie ogranicza wybór terapii.

Oporność komórek na leki jest wypadkową kilku mechanizmów. Pierwszy mechanizm związany jest z upośledzeniem kumulacji leku w komórce, a jego ważną składową jest tzw. **efflux**. Jest to mechanizm odpowiedzialny za aktywne wypompowywanie ksenobiotyku poza komórkę przez zlokalizowane w błonie komórkowej białka zależne od adenozy-5'-trifosforanu (ATP-zależne). Ważną rolę w tym procesie odgrywają transportowe białka rodziny ABC posiadające kasetę wiążącą ATP (ATP-binding cassette). Białka te w warunkach fizjologicznych pełnią rolę ochronną, jednak ich nadekspresja prowadzi do obniżenia stężenia cytostatyku w komórce i w efekcie do powstania oporności [12]. Istotną rolę w kumulacji leku w komórce nowotworowej pełni również **influx**. Jest to proces odpowiedzialny za aktywny transport związków do wnętrza komórki przez błonę komórkową za pośrednictwem wyspecjalizowanych białek transportowych. Przykładem takiego białka jest Ctr1 (ang. *copper transporter 1*), które ułatwia transport cisplatyny do komórek [3].

Oporność komórek nowotworowych jest także efektem nasilenia procesów naprawczych uszkodzonego DNA. Stransformowane komórki, oprócz naturalnie zwiększonej tolerancji na uszkodzenia w obrębie DNA, posiadają często zwiększoną ilość białek naprawczych, a tym samym charakteryzują się większą niewrażliwością na stosowaną terapię. Ważnymi systemami służącymi do usuwania uszkodzeń w obrębie struktury DNA są NER (ang. *nucleotide excision repair*) i MMR (ang. *mismatch repair*). Oporność komórek wynika ponadto z wadliwego przebiegu szlaku apoptotycznego np. z powodu mutacji białka p53, które jest czynnikiem transkrypcyjnym o zdolnościach aktywujących naprawę DNA oraz inicjujących apoptozę [12].

Zmieniony metabolizm cytostatyków może również prowadzić do rozwoju oporności wśród komórek nowotworowych. Niekiedy stosowany lek jest prolekiem, który dopiero we wnętrzu komórki, pod wpływem obecnych czynników, staje się właściwą substancją czynną. Takim prolekiem jest 5-fluorouracyl, który pod wpływem kilku enzymów przekształcany jest do hamującego syntezę DNA fluorourydyno monofosforanu (FUMP) [13].

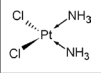
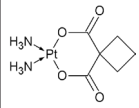
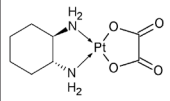
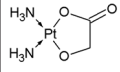
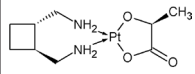
### 3. KOMPLEKSY PLATYNY JAKO LEKI CYTOSTATYCZNE

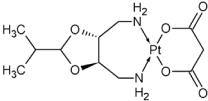

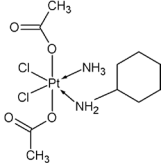
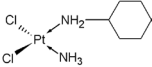
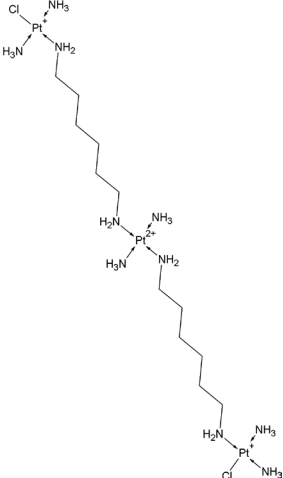
Kompleksy platyny zaliczane są często do cytostatyków alkilujących DNA, mimo że nie tworzą one jonów karbonyowych. Co więcej, cisplatyna podstawowy lek tej grupy, nie posiada żadnej grupy alkilowej, zatem trudno mówić o działaniu alkilującym pochodnych platyny. Jednakże ze względu na tworzenie przez nie wiązań kowalencyjnych z miejscami nukleofilowymi w DNA oraz podobieństwo farmakologiczne do środków alkilujących, określa się pochodne platyny jako leki alkilująco-podobne (ang. *alkylating-like drugs*) [14].

Leki platynowe to związki kompleksowe, w których atomem centralnym jest dwuwartościowy lub czterewartościowy jon platyny. Ligandami mogą być atomy chloru lub reszty kwasów (często dikarboksylowych), występujące przeważnie w położeniu *cis*. Wyjątek stanowią oksaliplatyna i pochodna BBR-3464, które posiadają konfigurację *trans*. Przegląd leków pochodnych platyny ilustruje Tabela 1.

Tabela 1. Związki platyny stosowane w terapii, oraz będące w fazie badań klinicznych [15, 16]

Table 1. Platinum compounds used in the treatment and those undergoing clinical trials [15, 16]

Cisplatyna		Lek zatwierdzony przez FDA w 1978 roku [15, 16]
Karboplatyna		Lek zatwierdzony przez FDA w 1989 roku [15, 16]
Oksaliplatyna		Lek zatwierdzony przez FDA w 2003 roku [15, 16]
Nedaplatyna		Lek zatwierdzony w Japonii w 1995 roku [15, 17]
Lobaplatyna		Lek zatwierdzony w Chinach w 2005 roku [15]

Heptaplatyna		Lek zatwierdzony w Korei Południowej w 1999 roku [15]
Pikoplatyna		Związek w fazie badań klinicznych
Satraplatyna, JM216		Związek w fazie badań klinicznych [18]
JM118		Metabolit satraplatyny [18]
<b>BBR-3464</b>		Związek w fazie badań klinicznych

#### 4. MECHANIZMY OPORNOŚCI NA LEKI PLATYNOWE

Obok toksyczności, najważniejszym czynnikiem utrudniającym skuteczne leczenie nowotworów lekami platynowymi jest problem oporności. Oporność może mieć charakter wrodzony jak ma to miejsce np. w nowotworze okrężnicy czy nerek lub może być nabyta, powstająca dopiero po kontakcie z cytostatykiem, co często spotyka się w nowotworze jajnika [4, 19]. Mechanizmy oporności na leki platynowe zróżnicowane są pod względem farmakokinetycznym. Może występować zjawisko oporności aktywnej, u podłoża której leży nadmiar czynnika wywołującego oporność, czego przykładem są systemy naprawy DNA, pompy effluksu oraz czynniki

antyapoptotyczne [4]. Inny rodzaj to oporność pasywna nasycalna wynikająca z niedoboru czynnika wymaganego do skutecznego działania leku oraz nienasycalna powstająca na skutek zmiany czynnika oporności. [4].

Oporność na leki platynowe jest wypadkową różnych często skomplikowanych mechanizmów. Najlepiej poznane i udokumentowane są mechanizmy klasyczne:

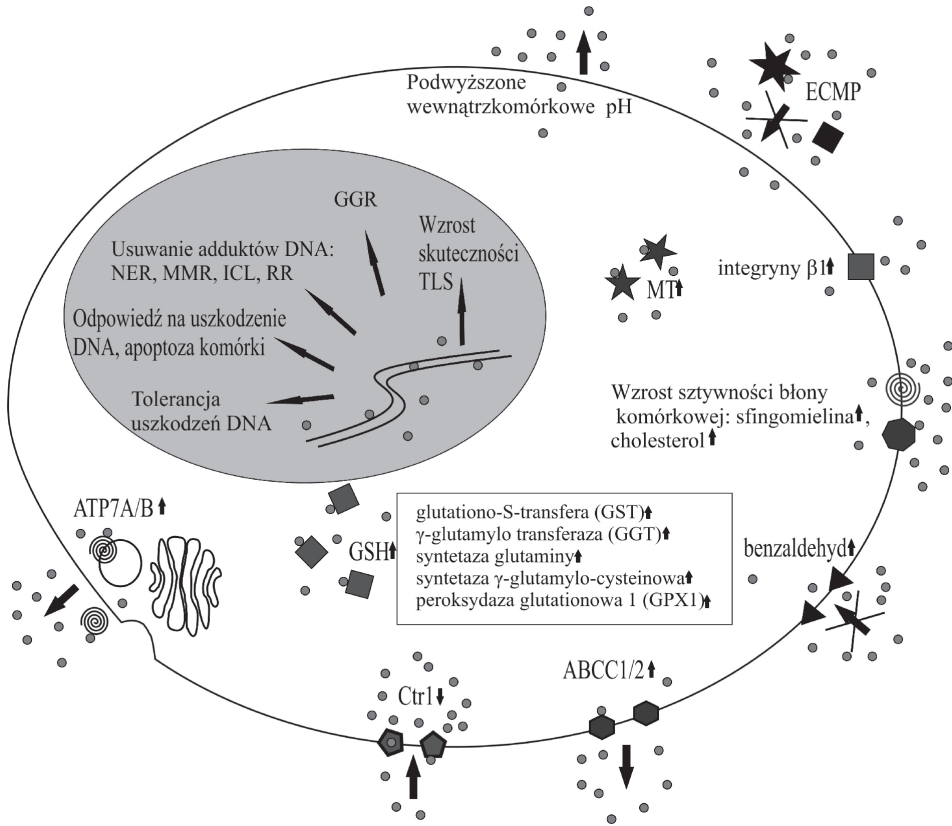
- Ograniczony dostęp cytostatyku do guza nowotworowego.
- Zmniejszona wewnątrzkomórkowa kumulacja leku na skutek utrudnionego transportu do komórki i aktywnego usuwania cytostatyku z komórki.
- Detoksykacja leku.
- Nasilenie procesów naprawczych uszkodzonego DNA.
- Zwiększona tolerancja na uszkodzenia DNA.
- Zakłócenie przebiegu procesu apoptozy.

Bardziej złożone i nie do końca poznane są molekularne mechanizmy oporności, których podstawą są złożone procesy biochemiczne.

Podstawowym mechanizmem obniżającym wrażliwość komórek nowotworowych na leki platynowe jest zmniejszenie wewnątrzkomórkowej kumulacji tych chemioterapeutyków, przedstawione na Rysunku 1. Proces ten polega na obniżeniu influksu, czyli transportu leku do wnętrza komórki np. na skutek degradacji błonowych transporterów miedziowych Ctr1 [3, 19]. Na obniżenie kumulacji leku wpływa także nasilenie procesu aktywnego usuwania tych cytostatyków z wnętrza komórek w procesie zwanym jako efluks. Wzrost aktywności efluksu może wynikać z nadekspresji białek rodziny ABC [12] i transportujących miedź ATP-az typu P [4].

Leki platynowe ulegają też inaktywacji na skutek tworzenia wiązań z obecnymi w cytoplazmie związkami posiadającymi grupy tiolowe np. z glutationem i metalotioneinami [3, 4]. Innym mechanizmem oporności jest nasilenie aktywności systemów naprawczych DNA, a zwłaszcza systemu naprawy przez wycięcie nukleotydu (NER). Istotne są również wzrost tolerancji komórek nowotworowych na uszkodzenia w obrębie genomu czy zmniejszenie wrażliwości nowotworów na apoptozę [19].

Na uwagę zasługują badania wskazujące na to, że istotny wpływ na powstawanie oporności na cisplatynę ma enzym cyklooksigenaza-2. Cyklooksigenaza-2 jest enzymem biorącym udział w procesie otrzymywania z kwasu arachidonowego prostaglandyny H<sub>2</sub>, która jest następnie przekształcana w inne prostaglandyny i tromboksan [20]. Ekspresja enzymu COX-2 indukowana jest mitogenezą, cytogenezą, a także towarzyszy stanom zapalnym. W wielu nowotworach np. w nowotworze pęcherza moczowego zaobserwowano podwyższony poziom ekspresji COX-2 [4]. Wysoki poziom tego enzymu prawdopodobnie powoduje wzrost ekspresji innych czynników oporności jak: MRP-1 (białka związanego z opornością wielolekową) czy Bcl-2. Dlatego często łączy się wysoki poziom COX-2 z opornością na związki platynowe.



Rysunek 1. Mechanizmy oporności na cisplatinę [19]

Figure 1. Mechanisms of resistance to cisplatin [19]

● – cisplatin; Ctrl – transporter miedziowy 1; ABCC1/2 – białka związane z opornością wielolekową; GSH – glutation; GGR – całościowa naprawa genomu; MT – metalotioneiny; ECMP – białka macierzy pozakomórkowej; NER – naprawa przez wycięcie nukleotydu; MMR – naprawa niesparowanych zasad; ICL – naprawa między-niciowych połączeń krzyżowych; RR – naprawa rekombinacyjna; TLS – naprawa ponad miejscem uszkodzenia

Poza omówionymi mechanizmami istnieje jeszcze szereg innych procesów mogących utrudniać terapię cisplatiną jak i pozostałymi lekami platynowymi. Należą do nich zmiany ekspresji między innymi następujących genów: *c-Myc*, *c-Fos*, *c-Jun*, *PKC $\alpha$* , *PP2A*, *PP4*, *SKP2*, *NF- $\kappa$ B* [4]. W chwili obecnej ilość poznanych genów, których ekspresja zwiększa oporność na związki platynowe sięga dziesiątek [21].

Stwierdzono ponadto, że komórki nowotworowe platynooporne charakteryzują się zniekształceniami chromosomalnymi. Komórki takie mają zmniejszoną długość telomerów, obniżoną aktywność telomeraz i obniżoną ekspresję telomerazy mRNA [4].

## 5. STRATEGIE POKONYWANIA ZJAWISKA OPORNOŚCI NA LEKI PLATYNOWE

Słaba odpowiedź organizmu oraz rozwój oporności komórek nowotworowych na dostępne procedury terapeutyczne, to czynniki skutecznie ograniczające czas przeżycia chorych. Dlatego od wielu lat prowadzi się szeroko zakrojone badania nad mechanizmami oporności nowotworów na cytostatyki, w tym na leki pochodne platyny. Naukowcy poszukują nowych strategii umożliwiających przełamywanie oporności, zwiększania cytotoksyczności leków i podnoszenia skuteczności leczenia.

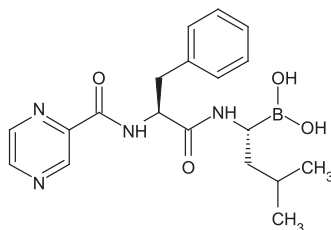
### 5.1. KOMBINACJE CISPLATYNY Z MODULATORAMI ODGRYWAJĄCYMI GŁÓWNĄ ROLĘ W ROZWOJU OPORNOŚCI

Skuteczną strategią pokonywania wspomnianych mechanizmów oporności na leki platynowe może być wykorzystywanie modulatorów oporności, czyli związków zwiększających wrażliwość komórek nowotworowych na leki platynowe.

Jednym z takich modulatorów oporności jest tilmakoksyb, który jest selektywnym inhibitorem cyklooksygenazy 2. Nadekspresja tego enzymu obserwowana jest w przebiegu stanu zapalnego i rozwoju nowotworu, zwiększa ona m.in. ekspresję białka oporności wielolekowej MDR-1. Białko MDR-1 jest P-glikoproteiną odpowiedzialną za effluks leków platynowych [20]. Stosowanie leczenia skojarzonego, cisplatinę z tilmakoksybem, nasila działanie cytotoksyczne cisplatinę oraz apoptozę opornych na cytostatyki komórek nowotworowych pęcherza moczowego linii komórkowej T24 [22] oraz opornych komórek nowotworu okrężnicy [20]. Zainteresowanie badaczy przyciągają także inne selektywne inhibitory COX-2, m.in. celekoksyb. Jak dotąd nie wykazano jednak, by lek ten poprawiał działanie jednocześnie stosowanych chemioterapeutyków [23].

### 5.2. ŁĄCZENIE CISPLATYNY Z LEKAMI, KTÓRYCH DZIAŁANIE SKIEROWANE JEST WPROST NA KOMÓRKI NOWOTWOROWE

Inną strategią jest podawanie leków platynowych w terapii skojarzonej wraz z innymi chemioterapeutykami. Takie postępowanie pozwala zwiększyć skuteczność równolegle stosowanych leków, a także pokonać lekooporność. Jednym z leków stosowanych w terapii skojarzonej jest inhibitor proteasomu 26S – **Bortezomib**.



Rysunek 2. Wzór strukturalny bortezomibu [11]  
Figure 2. Structural formula of bortezomib [11]

Bortezomib jest lekiem zatwierdzonym do stosowania w szpiczaku mnogim i chłoniaku, ale może okazać się również skuteczny m.in. w nowotworze jajnika [24]. Związek ten działa synergistycznie z cisplatyną. Zapobiega indukowanej cisplatyną degradacji transportera miedziowego Ctr1, co w konsekwencji zwiększa wewnątrzkomórkową kumulację cisplatyny. Ponadto blokuje proteasomy, które biorą udział w degradacji licznych białek komórek nowotworowych jajnika ludzkiego [24]. Bortezomib podawany w leczeniu skojarzonym z gemcytabiną i karboplatyną w niedrobnokomórkowym raku płuc (NSCLC) znacznie zwiększa cytotoxycyzość karboplatyny [25].

Standardowym postępowaniem w terapii onkologicznej jest łączenie działania różnych chemioterapeutyków. Jednoczesne podawanie kilku leków w zestawach pozwala zwiększyć skuteczność terapeutyczną oraz przełamać oporność komórek nowotworowych. Nazwy zestawów tworzone są najczęściej od pierwszych liter leków wchodzących w ich skład np. **PAC** (cisplatyna, doksorubicyna, cyklofosfamid), **PVB** (cisplatyna, winblastyna, bleomycyna), **MVP** (mitomycyna, wineorelibina, cisplatyna) [8].

Do czynników przełamujących oporność na leki platynowe należą też przeciwciała monoklonalne oddziaływujące z czynnikami wzrostu, ich receptorami i ligandami. Do grupy przeciwciał skutecznych w chorobach nowotworowych należą: cetuximab, bevacizumab oraz trastuzumab. Cetuximab to przeciwciało monoklonalne, inhibitor naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor receptor*, EGFR). Stosowanie tego przeciwciała jest jedyną celowaną terapią w nawracającym lub tworzącym przerzuty nowotworze głowy i szyi. Stosowany jest zarówno w połączeniu z chemioterapią jak i w monoterapii. Lek ten podawany jest pacjentom, u których pojawiła się oporność na leki pochodne platyny. Cetuximab podawany chorym łącznie z lekami platynowymi wyraźnie wydłuża czas przeżycia pacjentów [26, 27]. Z kolei bevacizumab to humanizowane, monoklonalne przeciwciało skierowane przeciwko czynnikowi wzrostu śródbłnka naczyniowego (ang. *vascular endothelial growth factor*, VEGF). VEGF jest ważnym regulatorem procesu angiogenezy. Bevacizumab zwiększa skuteczność terapii w połączeniu z gemcytabiną i cisplatyną w niedrobnokomórkowym raku płuc [28].

Trastuzumab to kolejne przeciwciało monoklonalne, które skierowane jest przeciwko zewnątrzkomórkowej domenie drugiego ludzkiego naskórkowego receptora dla czynnika wzrostu (ang. *human epidermal growth factor receptor 2*, HER2). Jest to związek skuteczny w HER2-dodatnim rozsiałym raku piersi. Trastuzumab wykazuje synergizm działania z lekami platynowymi. Przeciwciało to utrudnia sygnalizację z udziałem HER2 i tym samym osłabia proces naprawy uszkodzeń DNA wywołanych przez addukty platynowe [29]. Wysoka skuteczność stosowania terapii łączonej cisplatyna-trastuzumab-docetaksel w HER2-dodatnim nowotworze piersi została potwierdzona w badaniach klinicznych [30].

### 5.3. NOWE LEKI PLATYNOWE

Kompleksy platyny(II) są powszechnie stosowanymi chemioterapeutykami w wielu typach nowotworów. Jednak ze względu na liczne działania toksyczne oraz rozwijające się mechanizmy oporności na tę grupę leków konieczne stało się poszukiwanie nowych rozwiązań terapeutycznych. Jedną z takich strategii jest opracowanie leków pochodnych platyny(IV) – proleków, które w ustroju ulegają redukcji do bardziej aktywnych pochodnych platyny(II) [5]. Innym skutecznym rozwiązaniem mogą okazać się wielojądrowe kompleksy platyny tworzące z DNA addukty o odmiennej strukturze od tych tworzonych przez analogi cisplatyny.

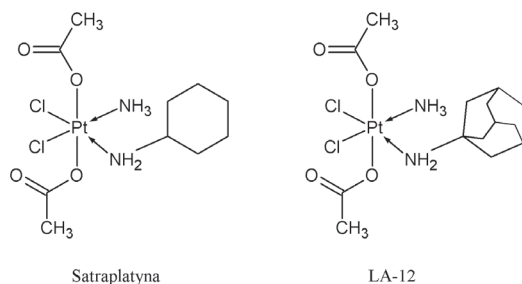
#### 5.3.1. Związki platyny(IV)

Kompleksy platyny(IV) posiadają oktaedryczną symetrię oraz dwa dodatkowe ligandy w stosunku do płasko-kwadratowych kompleksów platyny(II). W konsekwencji, kompleksy o takiej strukturze charakteryzują się większą inercją wewnętrzną i mniejszą reaktywnością. Tym samym, rzadziej podlegają pobocznym reakcjom i interakcjom z czynnikami oporności. Związki platyny(IV) są prolekami, które w organizmie ulegają redukcji uwalniając związki platyny(II) i ligandy osiowe (ang. *axial ligands*) [5]. Projektowanie kompleksów platyny(IV) stwarza możliwości otrzymywania związków o lepszych parametrach farmako-kinetycznych takich jak lipofilność. Pozwala to redukować działania niepożądane, zwiększać selektywność, ponadto ligandy osiowe po odłączeniu mogą wywierać dodatkowe działanie np. cytotoksyczne. Niestety, pomimo licznych zalet, kompleksy platyny(IV) posiadają też wady, a mianowicie znacznie wolniej ulegają wychwytywi do komórki niż związki platyny(II) [5]. Ciekawą właściwością związków platyny(IV) jest ich aktywność nawet w warunkach hipoksji. Tę specyficzną właściwość można wykorzystać w onkologii do leczenia nowotworów beznaczyniowych. Obecnie najlepiej poznanym związkiem platyny(IV) jest satraplatyna (JM216). Satraplatyna została zaprojektowana jako doustny lek o właściwościach lipofilnych. Charakteryzuje się szybkim wychwytem komórkowym, co prowadzi do zwiększenia kumulacji che-



mioterapeutyku w komórkach opornych [5]. Satraplatyna powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie  $G_2/M$ . W porównaniu do oksaliplatyny charakteryzuje się większą aktywnością oraz osiągnięciem czterokrotnie wyższego stężenia komórkowego. [6].

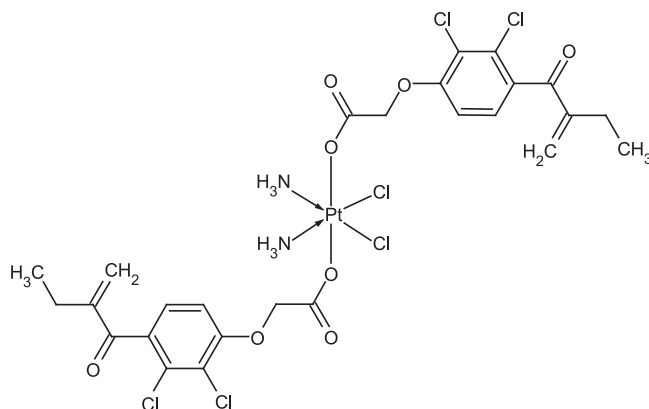
Lekiem nowej generacji jest również pochodna platyny(IV) o nazwie LA-12 i budowie zbliżonej do satraplatyny [31]. Lek ten jest silnie lipofilowy i w badaniach *in vitro* nie daje oporności krzyżowej z cisplatyną [5].



Rysunek 3. Wzory strukturalne kompleksów platyny(IV): satraplatyny i LA-12 [31]

Figure 3. Structural formula of platinum(IV) complexes: satraplatin and LA-12 [31]

Projektując związki kompleksowe platyny(IV) jako ligandy osiowe wprowadza się związki o właściwościach modulujących oporność. Jednym z takich leków pochodnych platyny(IV) jest etakraplatyna (ang. *ethacraplatin*). Ligandami osiowymi tego związku są zdeprotonowane cząsteczki kwasu etakrynowego. Kwas etakrynowy jest inhibitorem glutationo-S-transferazy (GST). Zahamowanie aktywności GST ogranicza inaktywację cytostatyku, ponieważ nie dochodzi do łączenia z glutationem. Ze względu na tę właściwość oraz zwiększoną lipofilność, etakraplatyna wywiera działanie cytotoksyczne w niższym stężeniu niż cis platyna [5].



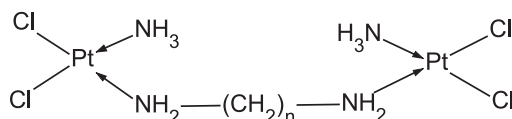
Rysunek 4. Wzór strukturalny etakraplatyny [5]

Figure 4. Structural formula of ethacraplatin [5]

Innymi ligandami osiowymi, które umożliwiają przełamywanie oporności na związki platyny są ligandy estradiolo-3-benzoosowe. Ligandy te mogą być skuteczne wobec komórek nowotworowych piersi o nadekspresji receptorów estrogenowych. Powstałe podczas redukcji wewnątrzkomórkowej ligandy estradiolo-3-benzoosowe zwiększają ekspresję białka HMGB1 (białka dużej mobilności, B1). Białka HMGB1 osłaniają addukty DNA przed systemem naprawy NER. Konsekwencją takiej nieskutecznej naprawy jest indukcja apoptozy [5].

### 5.3.2. Wielojądrowe kompleksy platyny

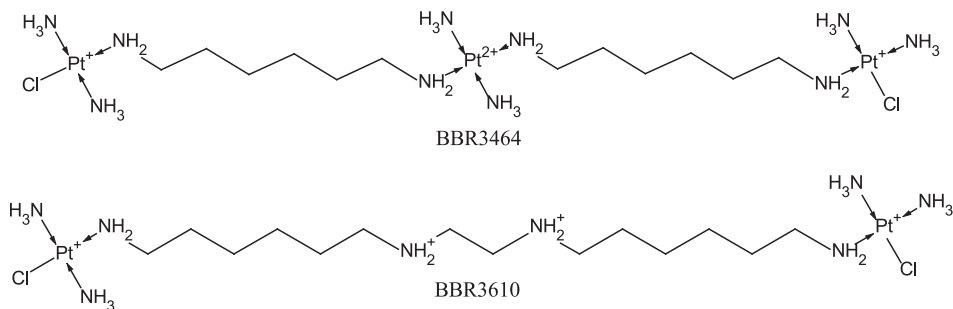
Kompleksy tej grupy to związki o konfiguracji *trans*, posiadające dwa lub więcej atomów platyny. Atomy te łącząc się kowalencyjnie z DNA tworzą addukty o odmiennej strukturze od tych tworzonych przez analogi cisplatyny [32]. Badania nad tą grupą związków rozpoczęły się od połączenia dwóch pochodnych cisplatyny łańcuchem diaminowym. Następnie wprowadzano stopniowe zamiany ligandów na takie, które zapewniały lepszą rozpuszczalność związków w wodzie oraz większą cytotoksyczność. Niektóre z nich częściej niż cisplatyna tworzą addukty międzyciowe [33].



Rysunek 5. Wzór strukturalny dwujądrowych kompleksów platyny [32]

Figure 5. Structural formula of bis(platinum) complexes [32]

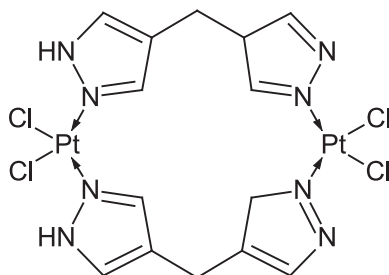
Nowością podczas projektowania trójjądrowych kompleksów (np. BBR3464), a także dwujądrowych kompleksów połączonych ligandami poliaminowymi (np. BBR3610), jest możliwość wprowadzenia do nich ładunku i zdolność tworzenia przez te związki wiązań wodorowych.



Rysunek 6. Wzór strukturalny BBR3464 i BBR3610 [34]

Figure 6. Structural formula of BBR3464 and BBR3610 [34]

W wielojądrowych związkach centralne atomy platyny oraz grupy aminowe ligandów poliaminowych odpowiadają za tworzenie wiązań wodorowych z atomami tlenu guaniny lub tyminy, zasad azotowych kwasu DNA [32]. Związki te charakteryzują się też dobrą rozpuszczalnością w wodzie. Na aktywność wielordzeniowych kompleksów platyny mają wpływ parametry takie jak: zdolność do tworzenia wiązań wodorowych, długość, elastyczność, ładunek łańcucha łączącego atomy platyny, a także położenie tego łańcucha względem ligandu chlorkowego. Jak wynika z badań najodpowiedniejszą długością łańcucha łączącego jest sześć grup metylenowych i dwie aminowe. Taka struktura tłumaczy dłaczezo związek BBR3464 jest aktywniejszy od związków o krótszych oraz dłuższych łańcuchach węglowych. Natomiast związki o poliaminowych ligandach zyskują na aktywności wraz z wydłużaniem łańcucha węglowego [32]. Dowiedziono, że łączenie atomów platyny elastycznymi ligandami alifatycznymi daje lepsze efekty niż stosowanie aromatycznych ligandów jak np. bis(pirazolilo)metanowych. Dzieje się tak dlatego, że usztywnienie cząsteczek zmniejsza ich aktywność [32]. Ponadto wykazano, że związki o konfiguracji *trans* ligandów chlorkowych względem łańcucha węglowego charakteryzują się silniejszym działaniem cytotoksycznym w porównaniu do izomerów *cis* [35].



Rysunek 7. Przykład kompleksu wielordzeniowego platyny o ligandach bis(pirazolilo)metanowych [32]  
Figure 7. Example of a multi-nuclear platinum complex containing dipirazolylmethane ligands [32]

#### 5.4. NOWE POSTACIE LEKU

Ze względu na krótką retencję cisplatyny w nowotworze, dużą toksyczność oraz rozwój oporności, zaczęto poszukiwania nowych sposobów zwiększenia skuteczności leczenia związkami platyny. Jednym z takich rozwiązań było opracowanie odpowiedniej postaci leku, która będzie skutecznie dostarczać chemioterapeutyk do komórek nowotworowych.

##### 5.4.1. Enkapsulacja

Enkapsulacja to metoda polegająca na zamknięciu środka leczniczego wewnątrz osłonki lub warstwy lipidowej, co powinno zwiększyć transport cytostatyków do

wnętrza stransformowanych komórek. Najczęściej przeprowadza się enkapsulację cisplatyny wewnątrz sfer zbudowanych z fosfatydylocholino (PC), fosfatydyloetanolaminy (PE) i cholesterolu (CH) [36]. Istotnym problemem napotykanym podczas projektowania takich postaci leku jest zamykanie małych ilości leku we wnętrzu sfer. Badania dowodzą, że możliwe jest upakowanie cisplatyny w liposomach z PE z wielokrotnie większą wydajnością niż w liposomach z PC. Za taki stan odpowiada chelatacja akwakompleksów cisplatyny z wolnymi parami elektronowymi dwuwarstwowej fosfolipidowej w PE. Zjawisko to nie zachodzi w liposomach zbudowanych z PC. Karboplatyna nie tworzy akwakompleksów, stąd jej stopień wiązania wewnątrz liposomów z PE jest niższy [36]. Enkapsulowana cisplatyna dostaje się do wnętrza komórki głównie na zasadzie endocytozy, ale częściowo też przez bezpośrednią fuzję liposomów PE.

Przewagą liposomów, nad tradycyjnie podanym lekiem, jest ich dłuższe pozostawanie w masie nowotworowej. Ważnym parametrem odpowiedzialnym za tę właściwość jest wielkość liposomów, których średnica powinna wynosić około 100 nm. Tak zbudowana postać leku, po wstrzyknięciu do nowotworu, dostaje się w sieć włókien w śródmięzszu nowotworowym i nie potrafi wydostać się do przestrzeni naczyniowej. Enkapsulowana cisplatyna jest wyraźnie skuteczniejsza niż podana tradycyjnie, ponieważ pozostaje dłużej w masie nowotworowej. Rozwój nowych, skuteczniejszych postaci leku może zwiększyć wewnątrzkomórkową kumulację cytostatyku oraz umożliwić przewyżczenie oporności wobec cisplatyny. Inkorporowanie pochodnych polietylenoglikolu do liposomów PE z cisplatyną dodatkowo zwiększa działanie cytotoksyczne cisplatyny [36]. Liposomy PE zawierające cisplatynę są aktywne wobec wielu nowotworów m.in. komórek czerniaka. Komórki te są niezwykle odporne na chemio- i radioterapię, ponadto charakteryzują się słabą odpowiedzią na tradycyjne leczenie.

Leki, pochodne platyny, mogą być też enkapsulowane w demineralizowanej ferrytynie np. apoferrytynie (AFt). Metoda ta jest interesująca, gdyż w komórkach nowotworowych zaobserwowano obecność miejsc wiążących ferrytynę oraz endocytozę ferrytyny. Stwarza to szanse na terapię celowaną wobec komórek stransformowanych o nadekspresji receptorów dla ferrytyny. Ponadto enkapsulowana w AFt cisplatyna charakteryzuje się wyraźnie wyższym wychwytem do komórki niż sama cisplatyna. Natomiast enkapsulowane formy karboplatyny i oksaliplatyny w AFt, podawane w tych samych stężeniach, wykazują znacznie mniejszą cytotoksyczność w porównaniu do enkapsulowanej w AFt cisplatyny [37].

#### 5.4.2. Nanorurki

Ciekawym systemem dostarczającym leki platynowe do wnętrza komórek nowotworowych są nanorurki. Ta nowa postać leku daje wielkie nadzieje na pokonanie oporności na grupę leków platynowych. Jednym z rodzajów tej postaci leku są rozpuszczalne, jednowarstwowe nanorurki węglowe pokryte z zewnątrz związkami

platyny. Jednowarstwowe nanorurki węglowe (ang. *single walled carbon nanotubes*, SWCNTs) dostarczają małe cząsteczki związków platyny(IV) do komórek na zasadzie zależnej od klateryn endocytozy. Rozpuszczalne SWCNTs pokryte są z zewnątrz kompleksami platyny(IV) związanymi z ich ścianą za pomocą ligandów osiowych. Podczas endocytozy, SWCNTs zostają zamknięte we wnętrzu endosomów. Niska wartość pH endosomu ułatwia redukcję związków platyny(IV) i utratę ligandów osiowych, następuje wówczas uwolnienie kompleksów platyny(II). Zastosowanie SWCNTs w transporcie leków platynowych, pozwala osiągnąć nawet sześć razy wyższe stężenie tych chemioterapeutyków wewnątrz komórek nowotworowych, niż obserwowane po tradycyjnym podaniu leku [38].

Inną strategią terapeutyczną, jest zamykanie leków platynowych we wnętrzu wielowarstwowych nanorurek węglowych (ang. *multiwalled carbon nanotubes*, MWCNTs). Zastosowanie wielowarstwowych nanorurek węglowych MWCNTs pozwala umieścić w ich wnętrzu mniejszą ilość substancji niż w nanorurkach jednowarstwowych, ale jednocześnie więcej związku ulega uwolnieniu. Odpowiedzialne za to są interakcje cisplatyny z SWCNTs, które z jednej strony zwiększają upakowanie cytostatyku na powierzchni nanorurki, ale zmniejszają też ilość niezwiązanego, uwolnionego chemioterapeutyku. Wpływ leku z MWCNTs jest zależny od czasu i ma miejsce pomiędzy 12–48 godziną po wprowadzeniu do ustroju, a wydajność takiego procesu to około 95% [39].

## 6. INFЕКCJA WIRUSAMI ONKOLITYCZNYMI

Jedną z najnowszych strategii pokonywania mechanizmów lekooporności jest metoda polegająca na infekcji komórek nowotworowych za pomocą wirusów onkolitycznych.

Wirus onkolityczny to taki typ wirusa, który selektywnie infekuje i lizuje tylko komórki nowotworowe nie naruszając tym samym komórek prawidłowych.

Jednym z nich jest szczurzy parwowirus H-1 (H-1PV). Dowiedziono, że H-1PV jest skuteczny wobec niewrażliwych na cisplatynę komórek glejaka opornych na zewnątrzkomórkowy i wewnątrzkomórkowy szlak apoptozy [40]. H-1PV jest również skuteczny wobec komórek białaczki monoblastycznej linii U937 występującej u ludzi, kilku linii komórek nowotworowych wątroby, stransformowanych keratynocytów i komórek nowotworowych piersi [40]. Szczurzy parwowirus H-1 zabija komórki glejaka przez nieapoptotyczny, nie do końca jeszcze poznany, mechanizm z użyciem katepsyn. Infekcja wirusowa permeabilizuje (zwiększa przepuszczalność) błony lizosomu (ang. *lysosomal membrane permeabilization*, LMP). Następuje uwolnienie lizosomalnych enzymów, a zwłaszcza katepsyn, do cytozolu. Jak dowiedziono, aby nastąpiła śmierć komórki tym szlakiem musi dojść nie tylko do kumulacji katepsyn w cytozolu na skutek LMP, ale również do zmniejszenia stężenia ich inhibitorów np. cystatyn. Oporność glejaków na liczne czynniki wywołujące LMP wynika właśnie z nadekspresji cystatyn. Są one jednak wrażliwe na infekcję H-1PV,

gdyż wirus ten nie tylko podwyższa stężenia katepsyn w cytozolu, ale także obniża stężenia cystatyny B i C [40]. Ponadto infekcja parwowirusem charakteryzuje się selektywnością wobec komórek stransformowanych i jest znacznie mniej szkodliwa wobec zdrowych komórek gleju, astrocytów. Uważa się, że ta onkospecyficzność wynika z niższego stężenia katepsyny B, braku obniżonej ekspresji cystatyny B oraz obniżenia zdolności do namnażania się H-1PV w ich wnętrzu. Infekcja wysokoopornych komórek nowotworowych z wykorzystanym H-1PV może być skuteczną metodą aktywacji szlaku lizosomalno-katepsynowego i indukcji śmierci komórek niezależnie od wrażliwości na inne terapie lecznicze.

## UWAGI KOŃCOWE

Leki platynowe należą do jednych z najczęściej stosowanych chemioterapeutyków w terapii nowotworów. Najdłużej i najczęściej stosowanym lekiem tej grupy jest cisplatyna. Jednakże ze względu na dużą toksyczność wobec zdrowych komórek oraz rozwój licznych mechanizmów oporności w komórkach nowotworowych, możliwości stosowania tego leku w onkoterapii są ograniczone. Pewnym sukcesem w pokonywaniu tych problemów, było wprowadzenie do leczenia drugiej generacji leków platynowych: karboplatyny i oksaliplatyny. Skutecznym lekiem jest zwłaszcza oksaliplatyna, która nie podlega wielu mechanizmom oporności. Aktualnie prowadzone są intensywne badania kompleksów platyny(IV), które posiadają lepsze parametry farmakokinetyczne takie jak lipofilność, co pozwoliło zredukować niektóre działania niepożądane oraz zwiększyć selektywność. Niestety minusem stosowania kompleksów platyny(IV) jest znacznie wolniejszy wychwytywanie do komórki w porównaniu do związków platyny(II).

Pomimo swoich wad cisplatyna, dzięki dużej cytotoxyczności, jest skuteczna w leczeniu dużej grupy nowotworów złośliwych. Dlatego szereg badań koncentruje się na opracowaniu metod dostarczania jej do wnętrza komórek nowotworowych. Obejmują one wykorzystanie nanorurek węglowych oraz enkapsulację w liposomach lub w transferrynie. Takie rozwiązania pozwalają na wielokrotne podwyższenie stężenia leku wewnątrz komórki w porównaniu do podania tradycyjnego. Natomiast wykorzystanie wirusów onkolitycznych np. H-1PV może dawać szansę na selektywne niszczenie komórek nowotworowych.

Dotychczas opracowano szereg różnych strategii przełamывania mechanizmów oporności na leki platynowe, ale tylko nieliczne z nich są wykorzystywane w leczeniu nowotworów, a te stosowane nie zawsze przynoszą zadowalające efekty terapeutyczne. Dlatego potrzebne są dalsze badania i opracowania nowych, skutecznych strategii terapeutycznych przeciw opornym komórkom nowotworowym.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Główny Urząd Statystyczny Departament Badań Demograficznych. Podstawowe informacje o rozwoju demograficznym Polski w latach 2000–2010, Materiał na konferencję prasową w dniu 28 stycznia 2011 r.
- [2] B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, *Nature*, 1965, **205**, 698.
- [3] C.A. Rabik, M.E. Dolan, *Cancer Treat. Rev.*, 2007, **33**, 9.
- [4] D.J. Stewart, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2007, **63**(1), 12.
- [5] M.D. Hall, H.R. Mellor, R. Callaghan, T.W. Hambley, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**(15), 3403.
- [6] M. Kalimutho, A. Minutolo, S. Grelli, A. Formosa, G. Sancesario, A. Valentini, G. Federici, S. Bernardini, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2011, **67**, 1299.
- [7] V. Kumar, R.S. Cotran, S.L. Robbins, *Robins Patologia*, Wyd. I polskie (red.: W.T. Olszewski), Urban i Partner, Wrocław, 2005, s. 186.
- [8] W. Janiec, *Farmakodynamika. Podręcznik dla Studentów Farmacji*, Wyd. I, PZWL, Warszawa, 2008, Tom 2, s. 989.
- [9] A. Kułakowski, A. Skowrońska-Gardas, *Onkologia podręcznik dla studentów medycyny*, Wyd. I, PZWL, Warszawa, 2003, s. 28.
- [10] R. Kordka, *Onkologia podręcznik dla studentów i lekarzy*, Wyd. I, Via Medica, Gdańsk, 2007, s. 8.
- [11] E. Mutschler, *Farmakologia i toksykologia*, Wyd. II polskie, red. W. Buczek, MedPharm Polska, 2010, s. 945.
- [12] I. Mitrus, S. Szala, *Nowotwory*, 2009, **59**, 5, 368.
- [13] D.B. Longley, D.P. Harkin, P.G. Johnston, *Nat. Rev. Cancer*, 2003, **3**, 330.
- [14] L.L. Brunton, J.S. Lazo, K.L. Parker, *Farmakologia*, Tom II, Goodman & Gilman, Wyd. I polskie, red. T.F. Krzemiński, Czelej, Lublin, 2007, s. 1428.
- [15] T. Boulikas, A. Pantos, E. Bellis, P. Christofis, *Cancer Ther*, 2007, **5**, 537.
- [16] N.J. Wheate, S. Walker, G.E. Craig, R. Oun, *Dalton Trans.*, 2010, **21**, **39**(35), 8113.
- [17] K. Ito, S. Adachi, Y. Itani, M. Koyama, K. Hori, R. Chin, M. Shintani, K. Beppu, S. Kawai, K. Sait, *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 1999, **29**(6), 299.
- [18] P. Heffeter, U. Jungwirth, M. Jakupc, C. Hartinger, M. Galanski, L. Elbling, M. Micksche, B. Keppler, W. Berge, *Drug Resist. Updat.*, 2008, **11**, 1.
- [19] B. Koberle, M.T. Tomicic, S. Usanova, B. Kaina, *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, **1806**, 172.
- [20] Y. Saikawa, T. Sugiura, F. Toriumi, T. Kubota, K. Suganuma, S. Isshiki, Y. Otani, K. Kumai, M. Kitajima, *Anticancer Res.*, 2004, **24**, 2723.
- [21] D. Roberts, J. Schick, S. Conway, S. Biade, P.B. Laub, J.P. Stevenson, T.C. Hamilton, P.J. O'Dwyer, S.W. Johnson, *Br. J. Cancer*, 2005, **92**, 1149.
- [22] Y. Mizutani, H. Nakanishi, Y.N. Li, N. Sato, A. Kawauchi, T. Miki, *J. Urol.*, 2004, **172**, 1474.
- [23] B.F. El-Rayes, M.M. Zalupski, A.F. Shields, A.M. Ferris, U. Vaishampayan, L.K. Heilbrun, R. Venkatramanamoorthy, V. Adsay, P.A. Philip, *Invest New Drugs*, 2005, **23**, 583.
- [24] D.D. Jandial, S. Farshchi-Heydari, C.A. Larson, G.I. Elliott, W.J. Wrasidlo, S.B. Howell, *Clin. Cancer Res.*, 2009, **15**, 553.
- [25] A.M. Davies, K. Chansky, P.N. Lara, P.H. Gumerlock, J. Crowley, K.S. Albain, S.J. Vogel, D.R. Gandara, *J Thorac Oncol*, 2009, **4**(1), 87.
- [26] K.A.R. Price, E.E. Cohen, *Curr Treat Options Oncol*, 2012, **13**, 35.
- [27] J.B. Vermorken, R. Mesia, F. Rivera, E. Remenar, A. Kawecki, S. Rottey, J. Erfan, D. Zabolotnyy, H.-R. Kienzer, D. Cupissol, F. Peyrade, M. Benasso, I. Vynnychenko, D. De Raucourt, C. Boke-meyer, A. Schueler, N. Amellal, R. Hitt, *N. Engl. J. Med.*, 2008, **359**, 1116.
- [28] M. Reck, J. Von Pawel, P. Zatloukal, R. Ramlau, V. Gorbounova, V. Hirsh, N. Leighl, J. Mezger, V. Archer, N. Moore, C. Manegold, *J. Clin. Oncol.*, 2009, **27**(8), 1227.

- [29] M.D. Pegram, T. Pienkowski, D.W. Northfelt, W. Eiermann, R. Patel, P. Fumoleau, E. Quan, J. Crown, D. Toppmeyer, M. Smylie, A. Riva, S. Blitz, M.F. Press, D. Reese, M.-A. Lindsay, D.J. Slamon, *J. Natl. Cancer Inst.*, 2004, **96**(10), 759.
- [30] J. Hurley, P. Doliny, I. Reis, O. Silva, C. Gomez-Fernandez, P. Velez, G. Pauletti, J.E. Powell, M.D. Pegram, D.J. Slamon, *J. Clin. Oncol.*, 2006, **24**(12), 1831.
- [31] V. Kvardova, R. Hrstka, D. Walerych, P. Muller, E. Matoulkova, V. Hruskova, D. Stelcova, P. Sova, B. Vojtesek, *Mol. Cancer*, 2010, **9**, 147.
- [32] N.J. Wheate, J.G. Collins, *Coord Chem Rev*, 2003, **241**(1-2), 133.
- [33] N. Farrell, Y. Qu, L. Feng, B. Van Houten, *Biochemistry*, 1990, **29**(41), 9522.
- [34] C. Mitchell, P. Kabolizadeh, J. Ryan, J.D. Roberts, A. Yacoub, D.T. Curiel, P.B. Fisher, M.P. Hagan, N.P. Farrell, S. Grant, P. Dent, *Mol. Pharmacol.*, 2007, **72**(3), 704.
- [35] C. Manzotti, G. Pratesi, E. Menta, R. Di Domenico, E. Cavalletti, H.H. Fiebig, L.R. Kelland, N. Farrell, D. Polizzi, R. Supino, G. Pezzoni, F. Zunino, *Clin. Cancer Res.*, 2000, **6**, 2626.
- [36] T.L. Hwang, W.R. Lee, S.C. Hua, J.-Y. Fang, *J. Dermatol. Sci.*, 2007, **46**, 11.
- [37] R. Xing, X. Wang, C. Zhang, Y. Zhang, Q. Wang, Z. Yang, Z. Guo, *J. Inorg. Biochem.*, 2009, **103**, 1039.
- [38] R.P. Feazell, N. Nakayama-Ratchford, H. Dai, S.J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 8438.
- [39] C. Tripisciano, S. Costa, R.J. Kalenczuk, E. Borowiak-Palen, *Eur Phys J B*, 2010, **75**, 141.
- [40] M. Di Piazza, C. Mader, K. Geletneky, M. Herrero Y Calle, E. Weber, J. Schlehofer, L. Deleu, J. Rommelaere, *J. Virol.*, 2007, **81**(8), 4186.

Praca wpłynęła do Redakcji 27 sierpnia 2013