

Chemoprewencja – profilaktyka i terapia wspomagana raków głowy i szyi

Chemoprevention – prophylaxis and adjuvant therapy of head and neck cancers

WANDA BAER-DUBOWSKA

Katedra Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Prof. dr hab. Wanda Baer-Dubowska jest kierownikiem Katedry Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Od ponad 20 lat zajmuje się zagadnieniem chemicznej kancerogenezy. Jej największe osiągnięcia dotyczą interakcji chemicznych kancerogenów z DNA i ich powiązaniu z mutacjami w specyficznych genach. Równolegle z kancerogenezą w polu jej zainteresowań znajduje się problematyka antykancerogenezy i chemoprewencji. Jest członkiem *American Association for Cancer Research*, *European Association for Cancer Research*, *International Society of Cancer Chemoprevention* oraz *European Environmental Mutagen Society*. W tej ostatniej organizacji w bieżącej kadencji pełni funkcję sekretarza generalnego.

Streszczenie

Po ćwierćwieczu szybkiego postępu w badaniach nad rakiem punkt ciężkości poszukiwań leków onkologicznych przesunął się z cytotoksycznej chemioterapii w stronę racjonalnego projektowania czynników nakierowanych na specyficzne cząsteczki. Złośliwa transformacja komórek jest procesem wieloetapowym, charakteryzującym się licznymi zmianami fenotypowymi i genotypowymi. Poznanie ich mechanizmów umożliwia wczesną interwencję.

Chemoprewencja to stosowanie farmakologicznych lub naturalnych czynników w celu zahamowania lub odwrócenia procesu kancerogenezy u osób o wysokim ryzyku rozwoju choroby nowotworowej. Koncepcja ta została sformułowana ponad 30 lat temu. Od tej pory opisano wiele związków, które wykazują zdolność hamowania wczesnych etapów kancerogenezy w modelach doświadczalnych. Są wśród nich zarówno uznane leki, jak tamoxifen, czy niesteroidowe leki przeciwzapalne, jak i tzw. nieodżywcze składniki jadalnych owoców i warzyw oraz napojów (np. polifenole zawarte w zielonej herbacie). Związki te hamują proces nowotworowy za pośrednictwem różnych mechanizmów. Stwarza to możliwość doboru właściwego celu i modyfikacji zwiększającej skuteczność oddziaływania. Koncepcję chemoprewencji uwiarygodniły pozytywne wyniki badań klinicznych pacjentów z ryzykiem drugich nowotworów pierwotnych głowy i szyi, poddanych leczeniu retinoidami. Jednak tylko nieliczne, prowadzone do tej pory na szeroką skalę badania kliniczne, dały zadawalające wyniki. Jest to m.in. związane z brakiem precyzyjnych biomarkerów, pozwalających monitorować efekty działania czynników chemoprewencyjnych. Nie zmienia to faktu, że mimo istniejących trudności czynniki chemoprewencyjne można określić jako leki XXI wieku. Artykuł omawia problemy i perspektywy stosowania strategii chemoprewencyjnej, szczególnie w odniesieniu do nowotworów głowy i szyi.

Słowa kluczowe: chemoprewencja, rak głowy i szyi, retinoidy, inhibitory COX-2, inhibitory proteaz.

Abstract

After a quarter of a century of rapid advances in cancer research, the focus of oncological drug development has shifted from cytotoxic chemotherapy to rationally designed agents that



target specific molecules associated with malignant cells or their environment. Carcinogenic process is driven by mutation, but there are many epigenetic variables which could be the targets of early intervention before invasion and metastasis occur. Chemoprevention is the inhibition, retardation or reversal of carcinogenic processes by pharmacological or natural agents targeting these pathways in high-risk individuals. This approach was developed more than 30 years ago and its credibility was enhanced by the positive results of clinical trials involving subjects with the risk of head and neck second primary tumors. So far however not many clinical trials provided satisfying results not only because of the lack of efficacy or side toxic effects of chemopreventive agents but also the lack of precise biomarkers monitoring their effects. Despite the problems which have to be solved before their application chemopreventive agents are considered as the drugs of 21. century.

This article reviews the conceptual basis of chemoprevention and perspectives of its application in head and neck cancers.

Key words: chemoprevention, head and neck cancer, retinoids, COX-2 inhibitors, protease inhibitors.

(Postępy w chirurgii głowy i szyi 2003; 2: 3–14)

Wprowadzenie

W ciągu minionych 30 lat, jakie upłynęły od wprowadzenia programu tzw. wojny z rakiem, poczyniony został ogromny postęp w zrozumieniu molekularnych podstaw kancerogenezy [1]. Udoskonalono także terapię nowotworów. Mimo to, założenie zmniejszenia o 50% śmiertelności z powodu chorób nowotworowych w roku 2000 przewidywane przez Instytut Badań Rakowych (NCI) USA, nie zostały spełnione. Jednocześnie jednak zyskała na znaczeniu koncepcja wczesnej interwencji. Stało się oczywiste, że heterogenność, tak genotypowa, jak i fenotypowa złośliwych nowotworów jest istotną przeszkodą, tak dla terapii genowej, jak i celowanej chemioterapii. Chociaż podstawą procesu kancerogenezy są mutacje, to jej wieloetapowemu przebiegowi towarzyszy szereg zjawisk epigenetycznych, związanych z modyfikacjami wielu molekuł regulujących procesy różnicowania i proliferacji komórkowej, które mogą być determinantami co najmniej 20-letniego okresu utajenia poprzedzającego inwazyjną i zdolną do przerzutów postać nowotworu [2]. Modulacja tych dróg regulacyjnych, jak i blokowanie mutagennych uszkodzeń DNA za pomocą środków farmakologicznych, bądź tzw. nieodżywczych składników żywności, to podstawa aktualnej profilaktyki onkologicznej, czyli chemoprewencji [3, 4].

Dotyczy to także nowotworów głowy i szyi, w przypadku których 5-letnie przeżycie dotyczy tylko 53% pacjentów leczonych z powodu płaskonabłonkowego raka chirurgicznie i z wykorzystaniem radioterapii. Wskaźnik ten nie uległ poprawie od kilku dziesięcioleci, mimo stosowania chemioterapii pomocniczej. Ponadto istotnym problemem dotyczącym pacjentów leczonych z powodu nowotworów głowy i szyi stają się drugie nowotwory pierwotne (ang. *second primary tumors*) [5]. Wskazuje to wyraźnie, że konieczne jest

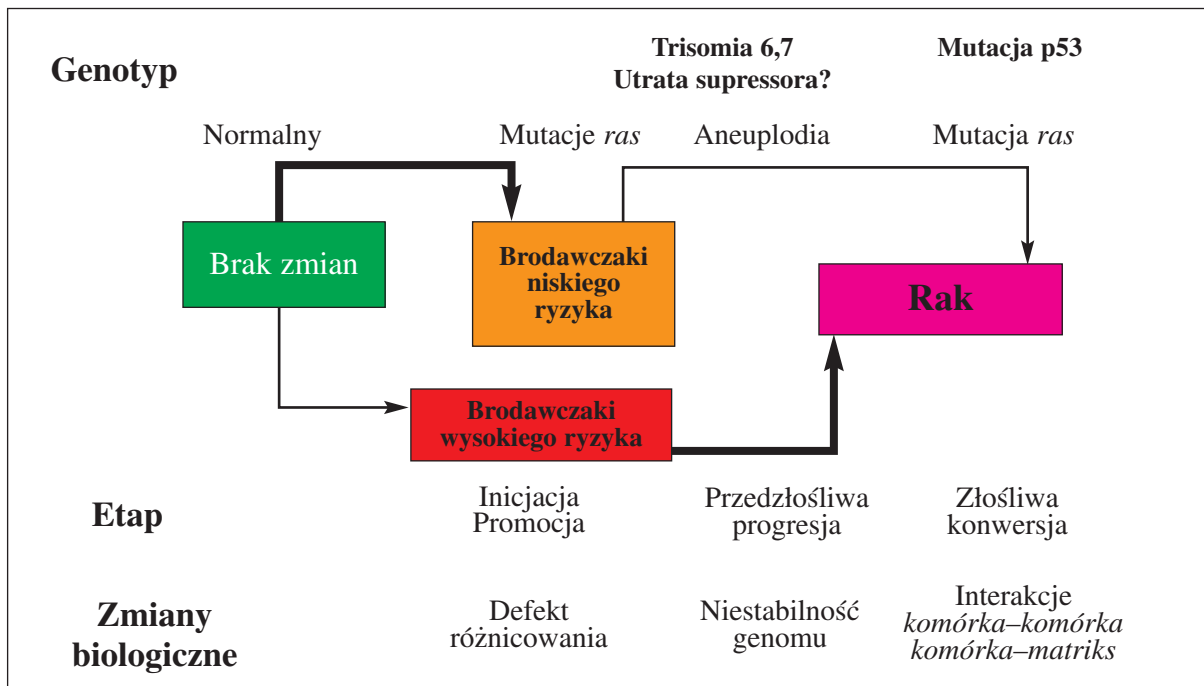
nowe podejście do prewencji i leczenia tych schorzeń [6]. Jednym z nich jest wcześniejsza interwencja za pośrednictwem czynników chemo- i/lub biochemoprewencyjnych, która jeśli nawet nie spowoduje odwrócenia lub zahamowania procesu kancerogenezy, może znacznie opóźnić złośliwą transformację [7]. Wiąże się ze ogólną zmianą podejścia do choroby nowotworowej. O ile motywem przewodnim badań nad nowymi lekami w XX w. było *szukaj i niszczy*, o tyle mottem bieżącego stulecia jest *namierzaj cel i kontroluj* [8].

Koncepcja chemo- i biochemoprewencji: podstawy molekularne

Koncepcja chemoprewencji pojawiła się pod koniec lat 60., a jej autorami byli Wattenberg i Sporn [9, 10]. Wynikała ona z obserwacji, że pewne związki chemiczne, w tym pochodzące z żywności, mogą hamować chemiczną kancerogenezę w eksperymentalnych modelach zwierzęcych. Poszerzenie wiedzy o podstawach molekularnych procesu kancerogenezy dostarczyło temu pojęciu racjonalnych argumentów i stworzyło podstawy projektowania czynników chemoprewencyjnych na podstawie mechanizmu działania.

Informacje jakie uzyskano stosując modele eksperymentalne, szczególnie w odniesieniu do raków pochodzenia nabłonkowego wskazują, że proces kancerogenezy związany jest z kompleksowym układem zmian genetycznych i epigenetycznych, występujących w przewidywalnej sekwencji. Dobrze ilustruje to obserwacja fenotypowej ewolucji normalnego keratynocyta do płaskonabłonkowego raka w wyniku nakładania w określonej kolejności związków kancerogennych na skórę myszy [11–14]. Wiąże się ona z odtwarzalnymi genetycznymi i epigenetycznymi zmianami charakterystycznymi dla





Ryc. 1. Model wieloetapowej kancerogenezy w naskórku myszy. Poszczególne etapy zdefiniowane na podstawie zmian biologicznych powiązane ze specyficznymi zmianami genetycznymi [wg 14]

każdego etapu tego procesu (ryc. 1.). Najwcześniejszy etap – inicjacja – jest zjawiskiem nieodwracalnym, o którym decydują zmiany o charakterze genotoksycznym prowadzące do powstania zainicjowanych komórek [12]. Kolejny etap, promocję, charakteryzują zmiany epigenetyczne, które są często odwracalne. Promotory indukują zmiany w naskórkowej homeostazie, które dostarczają tej tkance środowiska do klonalnej ekspansji zainicjowanych komórek. Konsekwencją inicjacji i promocji jest tworzenie licznych płaskonabłonkowych brodawczaków, z których każdy reprezentuje pojedynczy klon zainicjowanych komórek. Brodawczaki wykazują 3 istotne cechy różniące je od normalnych keratynocytów: hiperplazję, zmienioną ekspresję markerów keratynocytowych i zablockowane lub opóźnione różnicowanie terminalne. Część tych łagodnych guzów już bez dodatkowej ekspozycji na czynniki kancerogenne ulega uzłośliwieniu. Chociaż wiele fenotypowych zmian zostało udokumentowanych podczas przedzłośliwej progresji [15–17], główne genetyczne nieprawidłowości są związane z generowaniem niestabilności genomu, szczególnie aneuploidii [18, 19]. Złośliwą konwersję charakteryzuje inwazyjność i migracja do sąsiednich tkanek, co musi wiązać się z istotnymi zmianami w interakcji komórka-komórka i komórka-matriks [14]. Zjawiska obserwowane w naskórku myszy mają charakter ogólny i odnoszą się w dużej mierze także do raków głowy i szyi u człowieka, choć sekwencja zdarzeń i ich rozmieszczenie w czasie jest w tym przypadku bardziej złożona. Jak opisano w pierwszym numerze tego czasopisma, rozwój nowotworów

głowy i szyi, podobnie jak i innych narządów u człowieka związany jest z progresywną akwizycją mutacji w wielu genach [20–22]. Zarówno w modelach doświadczalnych, jak i u ludzi upływa dostatecznie długi dla ewentualnej interwencji okres, zanim łagodny guz nabierze cech typowych dla komórek rakowych. Zjawiska biochemiczne i molekularne, jakie temu towarzyszą są bardzo złożone i wiele z nich jest bezpośrednią konsekwencją mutacji w specyficznych onkogenach. Dotyczy to m.in. bardzo powszechnej mutacji protoonkogenu *ras*. Produkt tego genu, białko Ras odgrywa kluczową rolę w przekazywaniu sygnałów z powierzchni błony do jądra komórkowego. Zmutowana dominująca forma Ras pobudza do podziału komórki, nawet jeśli druga kopia genu nie jest uszkodzona. Jest to wynikiem całej kaskady zdarzeń, zapoczątkowywanych połączeniem czynników wzrostu, takich jak czynnik wzrostowy naskórka ze swoim powierzchniowym receptorem, a kończących się aktywacją lub inaktywacją wielu czynników transkrypcyjnych (patrz słowniczek na końcu tekstu). Niektóre z nich, takie jak *raf*, *fos*, *jun* i *myc* są również onkogenami i dominujące mutacje w którymkolwiek z nich prowadzą również do pobudzenia wzrostu komórek, także bez udziału białka Ras [23, 24].

Pomiędzy inicjacją a progresją kancerogenezy zachodzi też szereg zmian, związanych z zaburzeniem regulacji innych dróg sygnałowych, od których uzależniony jest rozwój i różnicowanie komórek. Należy do nich superrodzina jądrowych receptorów, obejmująca czynniki transkrypcyjne regulowane przez małe lipo-



filne ligandy, takie jak steroidy, retinoidy, witamina D i hormon tarczycy [25]. Charakterystyczna jest także zwiększona synteza czynników prozapalnych i mitogennych, takich jak cytokiny, prostaglandyny i eikozanoidy, co pociąga za sobą uruchomienie złożonego ciągu rozprzestrzeniających się reakcji o charakterze zapalnym. Wiąże się to m.in. z aktywacją czynników transkrypcyjnych, takich jak NFkappaB i zwiększoną ekspresją kontrolowanych przez nie genów. Należą do nich m.in. geny cyklooksygenazy [4].

Wszystkie te zjawiska mogą być celem oddziaływania czynników farmakologicznych i naturalnych, i ta droga interwencji stanowi postawę postępowania chemoprewencyjnego.

W przypadku połączenia czynnika chemicznego z biologicznym, najczęściej interferonu, pojawia się termin biochemoprewencja [26].

Strategie chemoprewencyjne

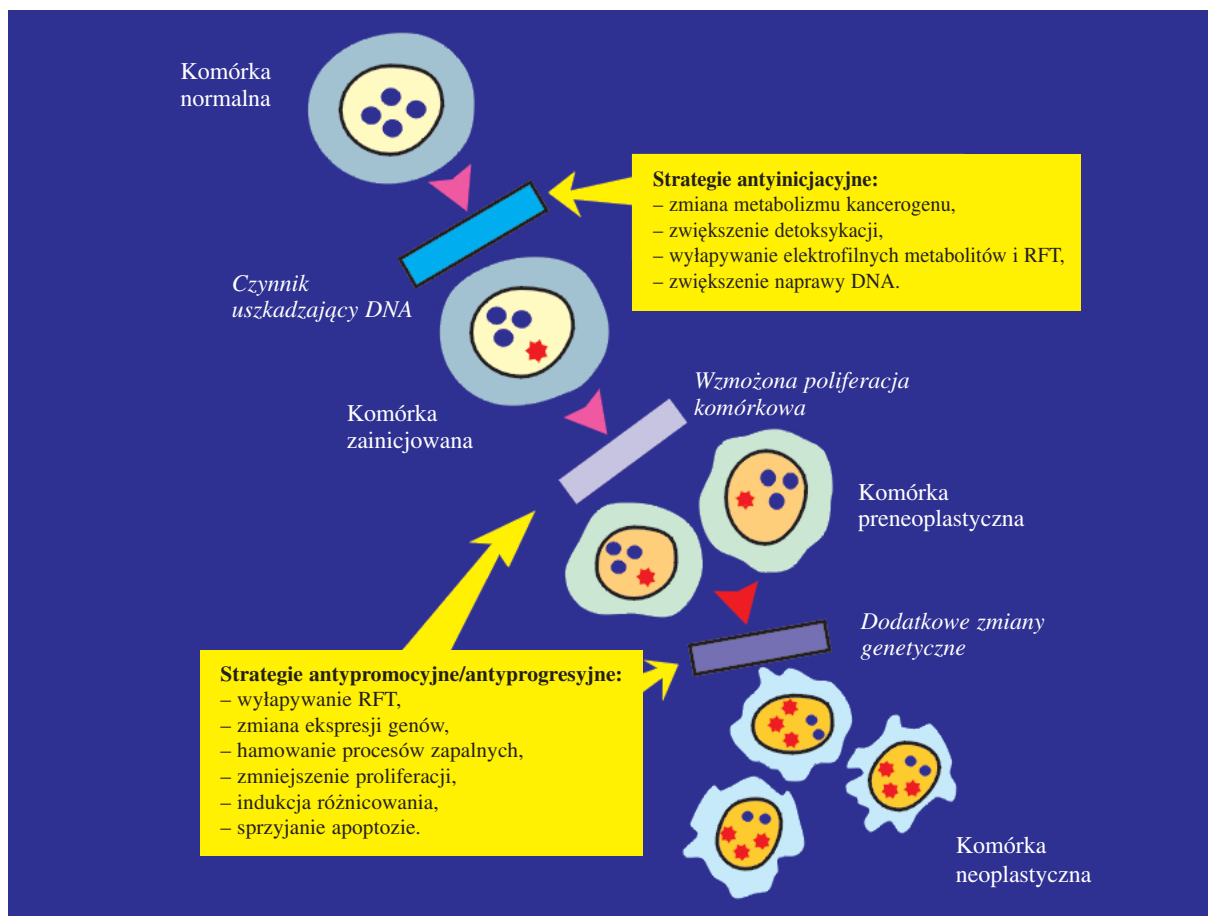
Strategie chemoprewencyjne mogą być rozwijane na różnych poziomach (ryc. 2.). Biorąc pod uwagę me-

chanizmy oddziaływania kancerogenów oraz zjawiska, jakie mają miejsce na poszczególnych etapach indukcji nowotworów, czynniki chemoprewencyjne zwykle dzieli się na tzw. *blokujące*, które hamują inicjację oraz *supresyjne* działające na późniejszych etapach (strategia antypromocyjna i antyprogresyjna).

Czynniki antyinicjacyjne mogą zmieniać (hamować) I/ aktywację metaboliczną kancerogenu, II/ zwiększać drogi detoksykacji, III/ unieczynniać reaktywne metabolity, a także wolne rodniki zapobiegając ich reakcji z DNA i IV/ zwiększać skuteczność naprawy DNA lub indukować apoptozę (patrz słowniczek na końcu tekstu).

Czynniki *antypromocyjne/antyprogresyjne* mogą hamować proces kancerogenezy poprzez zmiatanie reaktywnych form tlenu, modyfikację dróg transdukcji sygnału, zmianę ekspresji genów, hamowanie procesów zapalnych, supresję proliferacji, indukcję różnicowania i sprzyjanie apoptozie [3, 4].

Opisano też wiele związków, które mogą ingerować zarówno na etapie inicjacji, jak i promocji. Z tego powodu niekiedy postuluje się, aby potencjalne związki chemoprewencyjne klasyfikować raczej wg kaskady zdarzeń, w którą ingerują, niż w odniesieniu do okre-



Ryc. 2. Strategie chemoprewencyjne w odniesieniu do wieloetapowego modelu kancerogenezy



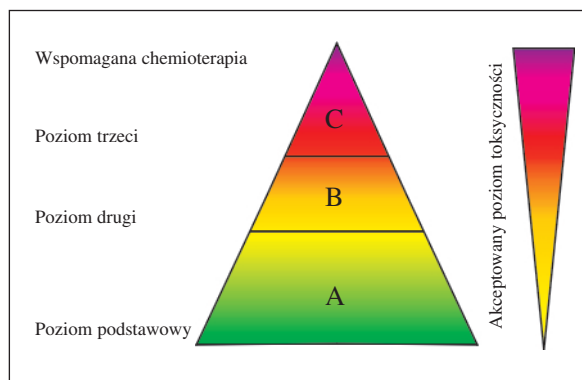
ślonego etapu tumorigenezy, co też bardziej odpowiada sytuacji u ludzi [27]. Wiele potencjalnych czynników chemoprewencyjnych to związki pochodzenia naturalnego, stanowiące składniki żywności, jak flawonoidy i polifenole, organiczne związki siarki i karotenoidy [28]. Spośród związków farmakologicznych działanie chemoprewencyjne wykazują niektóre leki stosowane w terapii innych schorzeń, jak tamoxifen i niesteroidowe leki przeciwzapalne [29, 30].

Postępowanie chemoprewencyjne może być również realizowane na różnych poziomach (ryc. 3.). Poziom podstawowy dotyczy osób zdrowych, ale obciążonych wysokim ryzykiem choroby nowotworowej z powodu predyspozycji genetycznych lub ekspozycji na czynniki kancerogenne. Drugi poziom chemoprewencji powinien obejmować pacjentów ze zmianami preneoplastycznymi lub z przedinwazyjną dysplazją, natomiast trzeci pacjentów wyleczonych, ale o ryzyku wtórnych nowotworów. Poziom ostatni to wspomaganie chemioterapii. W zależności od poziomu aplikacji zmienia się też kryterium akceptowanej toksyczności. W odróżnieniu od leków czynniki chemoprewencyjne na poziomie podstawowym w swoim założeniu muszą być stosowane przez długi okres i z tego powodu powinny wykazywać całkowity brak lub minimalną toksyczność [31].

Potencjalne czynniki chemoprewencyjne w prewencji/terapii raków głowy i szyi

Chemoprewencja nowotworów w znaczeniu klinicznym oznacza zmniejszenie liczby przypadków lub szybkości rozwoju raka przez jeden lub kilka czynników w III fazie badań klinicznych [7]. W tym sensie wiarygodności temu pojęciu nadały pozytywne wyniki badań klinicznych dotyczące raków gruczołu piersiowego, w których wykazano działanie prewencyjne tamoxifenu [32], raloxifenu [33] i 4-hydroksyfenylretinamidu (fenretinid) [34] u kobiet o różnym stopniu ryzyka. Nie jest jednak całkowicie jasne, czy przyczyną pozytywnych wyników było całkowite usunięcie przedzłośliwych klonów komórek, czy opóźnienie ich progresji. Dane kliniczne zdają się wskazywać, że ten ostatni element może stanowić istotną część chemoprewencji.

Ryc. 4. ilustruje koncepcję możliwych dróg odwrócenia procesu kancerogenezy głowy i szyi, zaproponowaną przez Lippmana i Hong [7] w odniesieniu do fenotypowych zmian histologicznych, powiązanych z regionem chromosomu, w których zachodzą. Szczegółowo przedstawiono hipotetyczną możliwość korekty genu *p53* (w regionie 17p). Mutacja tego genu wiąże się z obniżoną apoptozą i ostatecznie z progresją nowotworu [35, 36]. Czynniki chemoprewencyjne powinny



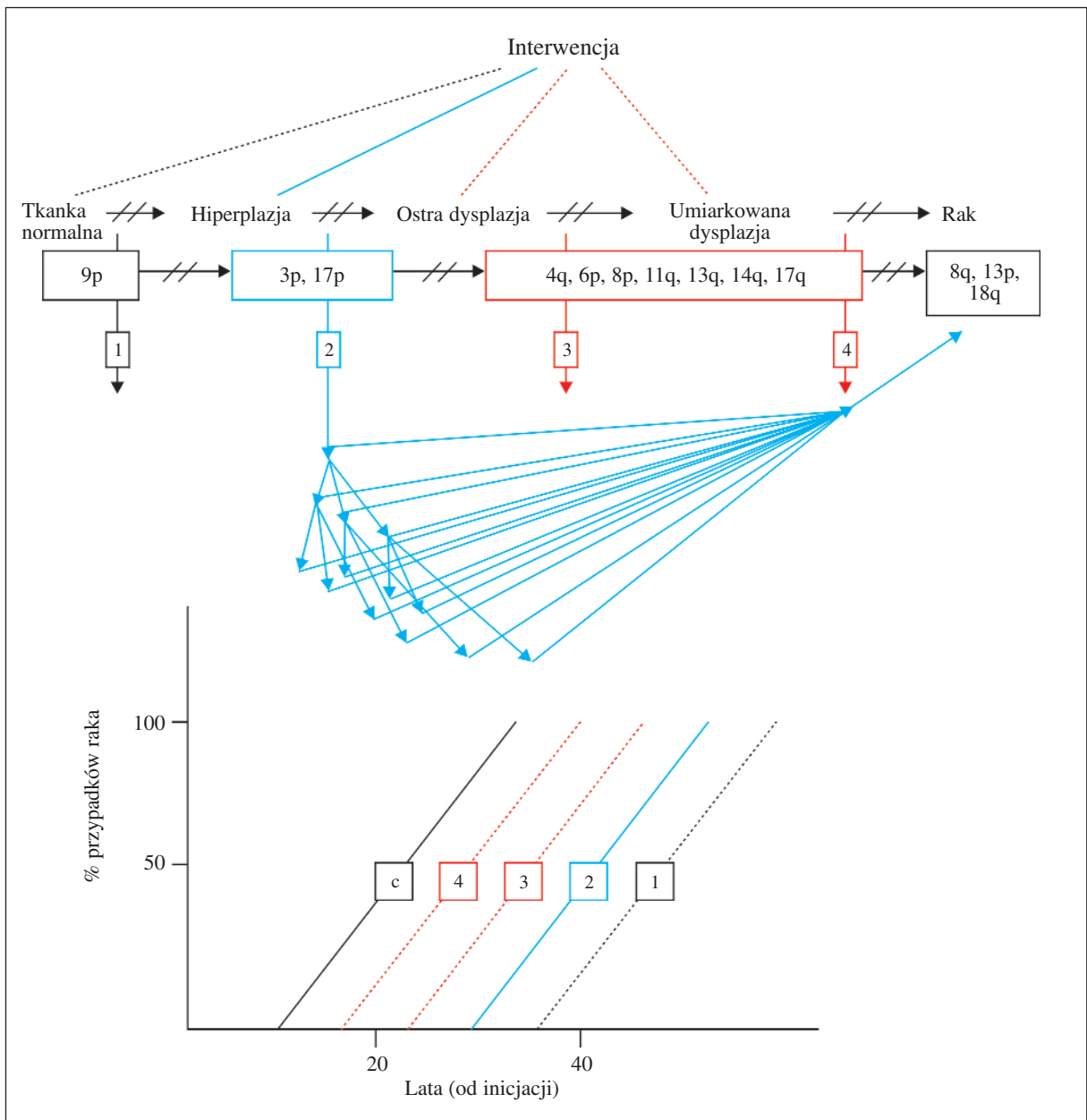
Ryc. 3. Poziomy aplikacji chemoprewencji:
A – osoby zdrowe i o zwiększonym ryzyku choroby nowotworowej;
B – pacjenci z przedinwazyjną dysplazją oraz uszkodzeniami preneoplastycznymi;
C – pacjenci wyleczeni z ryzykiem wtórnych nowotworów

zwiększać apoptozę. Taką możliwość stwarza terapia genu poprawnym *p53*, która pozostaje jednak jeszcze w sferze hipotez [37, 38]. Praktycznego dowodu możliwości stosowania strategii chemoprewencyjnej w odniesieniu do raków głowy i szyi dostarczyły opublikowane w 1990 r. przez Hong i wsp. [39] wyniki badań klinicznych, które wykazały choć ograniczone w czasie, znamienne zmniejszenie liczby przypadków drugich nowotworów pierwotnych głowy i szyi w wyniku podawania retinoidu, kwasu 13-cis-retinowego.

Retinoidy

Badania nad możliwością zahamowania procesu kancerogenezy przez witaminę A (retinol) i jej syntetyczne analogi (retinoidy) skłoniły Michaela Sporna do sformułowania pojęcia chemoprewencji [9]. Jak wspomniano wyżej, przedstawiciel tej grupy związków uwiarygodnił jej znaczenie w badaniach klinicznych. Podawanie przez jeden rok wysokich dawek kwasu 13-cis-retinowego wywołało znaczące obniżenie przypadków drugich nowotworów pierwotnych. Efekt ten utrzymywał się jednak tylko przez 3 lata od zaprzestania leczenia [39]. Był to stosunkowo krótki okres, jednak klinicznie istotny, zważywszy na problem, jaki te nowotwory stanowią dla pacjentów wcześniej leczonych z powodu raków głowy i szyi [5, 6]. Badania z tym samym związkiem u pacjentów z przedzłośliwymi zmianami jamy ustnej [40, 41] wykazały ponadto, że leukoplakia jest wskaźnikiem ryzyka i dobrym markerem skuteczności oddziaływania czynników chemoprewencyjnych. Długotrwałe stosowanie retinoidów i ocena pełnego oddziaływania opracowanych dotychczas analogów jest utrudniona z powodu ich niekorzystnych objawów ubocznych, w tym działania teratogennego. Z tego powodu intensywnie poszukuje się nowych retinoidów, pozbawionych tych niekorzystnych właściwości. Stanowią one nadal najbardziej obiecującą grupę związków w odniesieniu do profilaktyki i leczenia nowotworów głowy i szyi [42].





Ryc. 4. Możliwość odwrócenia krytycznych zmian genetycznych kancerogenezy głowy i szyi [wg 7]. Przedstawiono powiązanie fenotypowych zmian histologicznych ze zmianami w określonych miejscach chromosomów. Interwencja 2 (górną część schematu) może być zastosowana stosunkowo wcześniej i zapewnia najdłuższy okres opóźnienia rozwoju nowotworu (dolną część schematu). Kaskada strzałek przedstawia kompleks dróg, jakie mogą być włączone w odwrócenie kancerogenezy, na każdym z etapów tego procesu. Im wcześniej interwencja nastąpi, tym większa szansa na jego opóźnienie (dolna część schematu, c – kontrola)

Retinoidy modulują wzrost i różnicowanie komórek nowotworowych przez aktywację transkrypcji genów za pośrednictwem jądrowego receptora retinoidów. Receptory jądrowe, podobnie jak receptory steroidowe, należą do dużej rodziny czynników transkrypcyjnych, których aktywność jest regulowana poprzez wiązanie ligandu. Receptory RAR wiążą wszystkie *trans*-kwasy retinowe, natomiast RXR tylko kwas-9-*cis* retinowy. Obydwa występują w trzech różnych formach α , β i γ . Receptory te tworzą heterodimery RXR-RAR lub homodimery RXR-

-RXR, które wykazują duże powinowactwo do domen lub miejsc odpowiedzi w DNA, zlokalizowanych w obrębie genów regulowanych przez retinoidy [43]. Poza wiązaniem naturalnych kwasów retinowych receptory RAR i RXR wiążą szereg syntetycznych retinoidów. Te syntetyczne retinoidy wykazują zwykle selektywność wobec określonych form RAR lub względem RAR lub RXR. Te ostatnie określane są jako rexinoidy [44]. Nowe, selektywne wobec określonych receptorów retinoidy są pozbawione niekorzystnych właściwości, charak-



terystycznych dla naturalnych retinoidów i na ogół bardziej skuteczne. Badania oddziaływania szeregu syntetycznych retinoidów na proliferację kilku linii komórkowych płaskonabłonkowego raka głowy i szyi wykazały, że silniejszymi inhibitorami proliferacji tych komórek są te, które oddziałują z heterodimerami RXR-RAR niż z homodimerami RXR-RXR. Ponadto najaktywniejsze retinoidy (CD437) indukowały apoptozę [45]. Wyniki tych badań pozwalają mieć nadzieję, że związki te będą bardziej skuteczne niż kwas 13-cis-retinowy w hamowaniu progresji raków głowy i szyi.

Inhibitory kaskady kwasu arachidonowego

W nowotworach głowy i szyi stwierdza się podwyższoną produkcję prostaglandyn w porównaniu z normalną tkanką. Dotyczy to szczególnie prostaglandyny E₂. Prostaglandyny wydają się odgrywać ważną rolę w patogenezie nowotworów z powodu ich wpływu na mitogenezę, komórkową adhezję, immunologiczną przeżywalność i apoptozę. Podwyższony poziom prostaglandyn jest wynikiem zwiększonego metabolizmu kwasu arachidonowego [46]. Ten 20-węglowy wielonienasycony kwas tłuszczowy jest metabolizowany przez cyklooksyzogenezę – enzym regulujący syntezę prostagladyn i tromboksanów oraz lipooksyzogenezę katalizującą m.in. tworzenie leukotrienów [47]. Ponadto w metabolizm kwasu arachidonowego zaangażowany jest cytochrom P450, który odpowiada za aktywację wielu kancerogenów [20, 48]. Metabolity kwasu arachidonowego wpływają na szereg procesów komórkowych, a ich udział w tumorigenezie wiąże się przed wszystkim z syntezą prozapalnych prostaglandyn.

Chociaż na powiązanie pomiędzy stanami zapalnymi i kancerogenezą zwrócono uwagę już dawno [49], to znaczenie tego faktu zostało docenione dopiero wtedy, gdy metodami molekularnej genetyki wykazano nadekspresję genu kodującego cyklooksyzogenezę-2 (COX-2) we wczesnych stadiach kancerogenezy jelita grubego [50] oraz supresji tego procesu u myszy podatnych na ten rodzaj kancerogenezy, ale pozbawionych genu *cox-2* [51]. COX-2 w przeciwieństwie do ulegającej konstytutywnej ekspresji COX-1, jest enzymem, który jest indukowany przez prozapalne cytokiny, promotory nowotworów, czynniki wzrostu i onkogeny [52, 53]. Syntetyzowane przez COX-2 prostaglandyny stymulują proliferację komórkową. Działając jednocześnie immunosupresyjnie, zmniejszają szansę rozpoznania i zniszczenia nieprawidłowych komórek przez układ odpornościowy. Zwiększona synteza PGE₂ wiązana jest ze zmniejszeniem częstości występowania apoptozy. Sprzyja to dalszym podziałom transformowanych komórek oraz nabywaniu i utrwalaniu nowych mutacji. Wzrost ekspresji COX-2 wiązany jest także ze zwiększonym ryzykiem angiogene-

zy i metastazy [54, 55]. Mutacje protoonkogenu *ras* prowadzą do szybkiej indukcji COX-2 i w efekcie zwiększonej produkcji prostagladyn, zwiększając szanse przeżycia tych komórek [56]. Konwencjonalne niesteroidowe leki przeciwzapalne (NSAIDs) wykazują działanie przeciwnowotworowe, ale hamując jednocześnie obydwie formy cyklooksyzogenazy działają niekorzystnie przede wszystkim na przewód pokarmowy. Stało się to przyczyną poszukiwania selektywnych inhibitorów COX-2, które powinny być lepiej tolerowane niż typowe NSAIDs, takie jak aspiryna. Pierwszym tego rodzaju związkiem był celecoxib, który okazał się skutecznym inhibitorem kancerogenezy u zwierząt doświadczalnych, a także w badaniach klinicznych u pacjentów o wysokim ryzyku, takim jak rodzinna polipowatość jelita grubego lub niepolipowate syndromy tego nowotworu. Wyniki tych badań klinicznych przyczyniły się do zatwierdzenia w USA celecoxibu do stosowania u pacjentów z rodzinną polipowatością jelita grubego w celach chemoprewencyjnych [57]. Ponieważ wykazano ostatnio, że nadekspresja COX-2 charakteryzuje inne formy nabłonkowych raków [58, 59], selektywne inhibitory COX-2 mogą mieć zastosowanie do supresji kancerogenezy także w innych narządach. Poczyniono takie próby również w odniesieniu do raków głowy i szyi. Badania zespołu Dannenberg [60, 61] u pacjentów z tym typem nowotworów wykazały 100–150-krotny wzrost poziomu mRNA dla COX-2 w komórkach płaskonabłonkowego raka, w porównaniu z normalną słuzówką. Metodą immunoblottingu wykryto również w tych komórkach białko COX-2, niewykrywalne w normalnej słuzówce. W hodowli komórkowej retinoidy obniżały indukcję COX-2 przez naskórkowy czynnik wzrostu. Wyniki te sugerują, że selektywne inhibitory COX-2 mogą być przydatne w zapobieganiu i leczeniu płaskonabłonkowych raków głowy i szyi. Co więcej wskazują, że przeciwnowotworowe działanie retinoidów może być po części związane z inhibicją ekspresji COX-2. Połączenie retinoidów z selektywnymi inhibitorami COX-2 może być bardziej skuteczne niż oddziaływanie tylko jednym z tych czynników. Może ono wynikać również z możliwości pozbawienia COX-2 przez selektywną inhibicję ekspresji jej genu, aktywności peroksydazowej. Ta ostatnia może przyczyniać się do aktywacji niektórych kancerogenów, szczególnie policyklicznych węglowodorów aromatycznych [48]. Ich źródłem jest m.in. dym tytoniowy [20]. Inhibicja COX-2 może mieć jeszcze inny istotny dla progresji nowotworowej skutek – ochronę funkcji genu supresorowego *p53* [62]. Ponieważ COX-2 może być indukowana przez niektóre promotory kancerogenezy poprzez aktywację drogi sygnałowej powiązanej z kinazą białek C, można przypuszczać, że czynniki chemoprewencyjne hamujące tę drogę będą hamowały także COX-2. Jednym z możliwych kandydatów jest kurkumina, składnik popularnych przypraw [63].

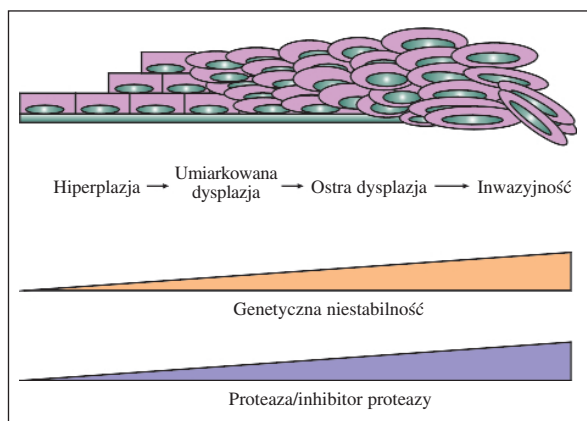


Genisteina

Innym potencjalnym czynnikiem chemoprewencyjnym i/lub terapeutycznym w odniesieniu do raków głowy i szyi jest genisteina. Ten występujący naturalnie izoflawonoid o strukturze podobnej do estrogenu, był do tej pory rozważany jako potencjalny czynnik chemoprewencyjny przede wszystkim w odniesieniu do nowotworów hormonozależnych (rak gruczołu piersiowego i prostaty). Ostatnie badania z wykorzystaniem linii komórkowej HN4 raka głowy i szyi wykazały, że genisteina wywołuje pleiotropowe zmiany molekularne, prowadzące do zahamowania wzrostu i indukcji apoptotycznej śmierci tych komórek (patrz słowniczek na końcu tekstu) [64]. Jedną z obserwowanych zmian było obniżenie zdolności wiązania do DNA czynnika transkrypcyjnego NFκapαB, który kontroluje, m.in. ekspresję COX-2 oraz matriksowej metaloproteinazy. Aktywność tej ostatniej związana jest z inwazyjnością komórek rakowych.

Inhibitory proteaz

Przedmiotem badań w odniesieniu do chemoprewencji kancerogenezy jamy ustnej są inhibitory proteazy. W trakcie procesu kancerogenezy w tej tkance obserwuje się zaburzenie równowagi między naturalnymi proteazami i ich inhibitorami na korzyść proteolizy. Zjawisko to występuje już bezpośrednio po ekspozycji na kancerogen (np. dym tytoniowy) i wzrasta wraz postępującą transformacją nowotworową. Z tego powodu inhibicja aktywności proteolitycznej może być dodatkową strategią chemoprewencyjną (ryc. 5.). Badania tego typu związków, jako potencjalnych czynników chemoprewencyjnych rozpoczęto ponad 30 lat temu [65]. Inhibitor Bowman-Birk (BBI) należy do rodziny roślinnych inhibitorów polipeptydów serynowych, takich jak trypsyna i chymotrypsyna. Pierwszy z serii BBI został zidentyfikowany przez Bowmana w 1940 r.



Ryc. 5. Zmiany stosunku proteaza: PI (naturalny inhibitor proteaz) na korzyść proteolizy w trakcie procesu kancerogenezy jamy ustnej [wg 66]. Zmiana ta występuje bardzo wcześnie po ekspozycji na kancerogen (np. dym tytoniowy)

w nasionach soi. Najistotniejsza dla jego działania chemoprewencyjnego wydaje się być zdolność do hamowania chymotrypsyny [66]. Poza zdolnością inhibicji proteaz są brane pod uwagę także inne mechanizmy, jak modulacja produkcji anionorodnika ponadtlenkowego, naprawy DNA, czy metabolizmu kwasu arachidonowego. Związki te stały się aktualnie przedmiotem badań klinicznych. W odniesieniu do przedzłośliwych zmian jamy ustnej zastosowano podobne podejście, jak 20 lat wcześniej w odniesieniu do retinoidów, a więc ocenę zdolności odwrócenia/supresji przedzłośliwych uszkodzeń jamy ustnej, a następnie przeniesienie tych doświadczeń do prewencji drugich nowotworów pierwotnych związanych z rakiem głowy i szyi. Badania wstępne przeprowadzono u pacjentów z leukoplakią (wczesny marker przedzłośliwych zmian), którym podawano koncentrat BBI przez miesiąc. We wszystkich badanych dawkach stwierdzono 24-% zmniejszenie powierzchni zmian. Nie stwierdzono żadnych objawów toksycznych [67], co kwalifikuje ten preparat do dalszych etapów badań klinicznych [68].

Galusan epigallokatechiny

Galusan-3-epigallokatechiny (EGCG) jest głównym biologicznie czynnym składnikiem zielonej herbaty, której spożycie wiąże się z mniejszą zapadalnością na niektóre nowotwory łite w populacjach azjatyckich. W układach eksperymentalnych związek ten hamuje proces kancerogenezy zarówno na etapie inicjacji, jak i promocji [69]. Badania pacjentów z rakiem głowy szyi, którym przez 6 mies. podawano zieloną herbatę nie wykazały wprawdzie żadnego wpływu na stan pacjentów, a nawet pewne objawy toksyczne, wiązano je jednak z zastosowaną dawką oraz czasem podawania. Jako rekomendowaną dawkę w przyszłych badaniach zalecono 120 ml zielonej herbaty podawanej 3 razy dziennie [70]. Ostatnie badania *in vitro* w hodowlach komórek płaskonabłonkowego raka głowy i szyi wskazują, że EGCG hamuje receptor naskórkowego czynnika wzrostu i ingerując w związane z nim drogi sygnałowe może uwrażliwiać komórki nowotworowe na działanie leków, takich jak Taxol, często używanych w terapii raków głowy i szyi [71].

Biochemoprewencja

Przykładem kompleksowego podejścia do prewencji raków głowy i szyi jest zakończona II faza badań klinicznych, mająca na celu ocenę zapobiegania nawrotom lub drugim nowotworom pierwotnym przez równoczesne podawanie retinoidu, kwasu 13 cis-retinowego, interferonu-alfa i alfa-tokoferolu. Takie podejście określa się mianem biochemoprewencji. Alfa-tokoferol posiada aktywność chemoprewencyjną w odniesieniu do nowo-



tworów głowy i szyi i może obniżać toksycność kwasu 13-cis-retinowego. Interferon-alfa zarówno w połączeniu z retinoidami, jak i bez nich zmniejsza proliferację komórkową, różnicowanie i apoptozę *in vitro*. Wykazuje taką aktywność również w badaniach klinicznych *in vivo* w odniesieniu do nowotworów głowy i szyi, a także innych guzów litych. W badaniach uczestniczyło 45 pacjentów o różnym stopniu zaawansowania płaskonabłonkowego raka poddanych uprzednio leczeniu chirurgicznym i/lub radioterapii. Badane związki podawano przez 12 mies. Pacjentów monitorowano 2 lata po zaprzestaniu leczenia. Wolnymi od choroby było 91 i 84% pacjentów, odpowiednio po upływie jednego i dwóch lat od zakończenia terapii, co może wskazywać, że ta kombinacja czynników biologicznych, na ogół dobrze tolerowana, może być polecana jako wspomagająca terapia dla lokalnie zaawansowanych raków płaskonabłonkowych głowy i szyi [72]. Choć biochemoprewencja wydaje się być obiecującym podejściem do leczenia laryngologicznych dysplazji, wymaga jeszcze dokładnych badań.

Pośrednie biomarkery w chemoprewencji

Idealem byłoby stosowanie chemoprewencji na poziomie podstawowym. Jedną z istotnych przeszkód takiego podejścia jest brak precyzyjnych biomarkerów, które pozwalałyby ocenić efekty tej interwencji. Aby spełniać swoje zadanie biomarkery powinny a) dokładnie przewidywać ryzyko rozwoju nowotworu i w ten sposób umożliwiać selekcję pacjentów do postępowania interwencyjnego i b) służyć jako pośrednie wskaźniki oceny skuteczności nowych czynników chemoprewencyjnych. Często określa się je mianem zastępczych biomarkerów.

Stosowane aktualnie biomarkery dzieli się na 4 kategorie: genetyczne, markery różnicowania, proliferacji i skuteczności (farmakodynamiczne). Przykłady niektórych z ich przedstawia tabela. Markery farmakodynamiczne stanowią jednocześnie cel oddziaływania określonej klasy czynników chemoprewencyjnych. Do

najwcześniejszych markerów genetycznych, a zarazem farmakodynamicznych należy też zaliczyć addukty DNA, choć są one przydatne raczej w układach modelowych [73]. Rozwijana w ostatnich latach technika analizy DNA metodą *microarray* (mikromacierzy) umożliwiającą ocenę szeregu genów powinna także znaleźć zastosowanie do oceny skuteczności czynników chemoprewencyjnych [74].

Obiecujące wyniki badań klinicznych z retinoidami w odniesieniu do raków głowy i szyi zintensyfikowały badania nad udoskonaleniem zastępczych biomarkerów w odniesieniu do tych narządów. Wydaje się, że specyficzne zmiany w genomie komórek somatycznych, występujące w komórkach nabłonkowych jamy ustnej, mogą być przydatne w przyszłych badaniach klinicznych [75, 76]. Ponadto zmniejszona ekspresja receptorów retinoidowych, takich jak receptor β kwasu retinowego w przedłośliwych uszkodzeniach może korelować z odpowiedzią na terapię retinoidami [77, 78]. Przydatne jako biomarkery nowotworów głowy i szyi, a także innych narządów mogą być również inne receptory jądrowe.

Postuluje się także wykorzystanie oceny aktywności telomerazy (patrz słowniczek na końcu tekstu) jako wczesnego markera płaskonabłonkowych raków głowy i szyi [79, 80].

Intensywne badania prowadzono w celu zidentyfikowania pośrednich markerów ryzyka raków głowy i szyi u pacjentów z leuko- i erytroplakią [81]. Rosin i wsp. [82] analizowali utratę heterozygotyczności (LOH) w 19 mikrosatelitarnych loci w próbach biopsyjnych i starali się znaleźć korelację ze stopniem zaawansowania nowotworu. LOH na 19 mikrosatelitarnym locus i/lub w regionie 9p w 53% powiązane były z progresją do inwazyjnej formy raka. Lee i wsp. [83] przeprowadzili chemoprewencyjne badania kliniczne z kwasem 13-cis-retinowym w grupie pacjentów z zaawansowanym przedłośliwymi zmianami, w których starali się znaleźć markery złośliwej transformacji, które uzupełniałyby badania histologiczne w materiale biopsyjnym. Spośród trzech zastosowanych markerów najlepszą korelację stwierdzono również dla LOH. W poszerzonych badaniach biochemoprewencyjnych [84] stosowano podobne biomarkery w materiale biopsyjnym. W tym przypadku najlepiej z odpowiedzią histologiczną skorelowany był poziom chromosomalnej polisomii (CP). Niski poziom CP (poniżej 2% komórek z więcej niż jedną kopią chromosomu w jądrze) wydaje się być dobrym wskaźnikiem odpowiedzi na chemoprewencję oraz skryningu pacjentów do takiego postępowania. W innych badaniach biochemoprewencyjnych [85] analizowano powiązanie genotypu cykliny D1 z odpowiedzią na terapię konkludując, że obniżona ekspresja cykliny D1 (patrz słowniczek na końcu tekstu) zmniejsza podatność na biochemoprewencyjną interwencję i zwiększa szybkość progresji.

Tab. Pośrednie biomarkery w chemoprewencji nowotworów

Markery genetyczne	niestabilność mikrosatelitarna mutacja p53 mutacja K lub H-Ras mutacja genu supresorowego FHIT
Markery różnicowania	markery zmian płaskonabłonkowych (SCC) (keratyny, inwolukryna) ekspresja genu mucyny antygeny grupowe krwi
Markery proliferacji	jądrowy antygen proliferujących komórek indeks w budowywania tymidyny receptory retinoidów
Markery skuteczności (farmakodynamiczne)	wskaźniki stanu oksydacyjnego ekspresja i aktywność COX-2



Poszukuje się także biomarkerów możliwych do oceny w krwi obwodowej. Jedną z propozycji jest pomiar COX-2 w leukocytach jako miernika oddziaływania inhibitorów tego enzymu [86].

Ponieważ żaden z badanych biomarkerów – prehistologicznych wskaźników biochemicznych lub molekularnych – nie wykazuje dostatecznie silnego powiązania z rozwojem nowotworu w takim stopniu, że mógłby być uznany do przewidywania z dużą dokładnością prawdopodobieństwa choroby, ostatnio zaproponowano, aby stosować do tych celów ocenę wewnątrz-nabłonkowej neoplazji (IEN, *intraepithelial neoplasia*) [87]. Zdaniem autorów tej propozycji charakterystyka oraz walidacja markerów molekularnych najbardziej skutecznie może być wykonana *in situ* w obrębie tej tkanki. Propozycja ta spotyka się jednak z krytyką [81].

Mimo aktualnych trudności wydaje się, że rozwój nowych technologii umożliwi wkrótce opracowanie wiarygodnych biomarkerów i tym samym uczyni chemoprewencję bardziej skuteczną. Ostatnie badania Belhocine i wsp. [88, 89] z aneksyną ukazały możliwości obrazowania apoptozy jako miary terapeutycznego efektu u pacjentów z rakiem. Podobna technologia może być zastosowana do oceny interwencji chemoprewencyjnej.

Podsumowanie

O ile koncepcja chemoprewencji w ciągu ponad 30 lat, jakie upłynęły od jej sformułowania nabrała znaczenia i została udokumentowana w wielu układach modelowych, a czynniki chemoprewencyjne określone zostały jako leki XXI w., zasadniczo żaden z proponowanych do tej pory związków nie spełnia wymogów idealnego czynnika chemoprewencyjnego, albo z powodu niedostatecznej skuteczności lub mocy, lub z powodu toksycznych efektów ubocznych, związanych z ich powszechnym i długotrwałym stosowaniem [1, 10]. Mimo zidentyfikowania dużej liczby związków, które mogą skutecznie ingerować we wczesne etapy kancerogenezy, tylko nieliczne poddano badaniom klinicznym III fazy. Istotną przeszkodą jest brak precyzyjnych biomarkerów, monitorujących efekty chemoprewencji. Dotyczy to także nowotworów głowy i szyi. Stosowane do tej pory biomarkery, choć użyteczne, nie wykazują dostatecznie silnego powiązania z określonym etapem rozwoju nowotworu. Wydaje się, że ich opracowanie powinno ułatwić zastosowanie właściwych modeli zwierzęcych, przede wszystkim transgenicznych. W takich modelach precyzyjna ocena prognostycznej wartości biomarkera jest, w przeciwieństwie do badań klinicznych, znacznie ułatwiona. Te doświadczenia powinny być następnie przeniesione do kliniki (*Bridging strategies*). Chociaż poszukiwanie nowych bardziej ukierunkowanych na określony cel molekularny czynników chemoprewencyjnych

jest ciągle aktualne, ważna jest także ocena łącznego oddziaływania tych już uznanych, oraz opracowanie właściwych protokołów ich podawania. Wreszcie, jak sugerują autorzy raportu: *Prevention of Cancer in the Next Millennium* opublikowanego w roku 1999 [1], istotne jest także osiągnięcie konsensusu z instytucjami zatwierdzającymi leki, odnośnie kryteriów oceny klinicznej czynników chemoprewencyjnych i ich rejestracji. Mimo problemów, które muszą być jeszcze rozwiązane, chemoprewencja jest nie tylko obiecującą, ale już uznaną strategią profilaktyki i leczenia nowotworów.

Piśmiennictwo

1. Sporn MB. Prevention of cancer in next Millennium: Report of chemoprevention working group to the American Association for Cancer Research. *Cancer Res* 1999; 59: 4743-58.
2. Sporn MB, Suh N. Chemoprevention of cancer. *Carcinogenesis* 2000; 21: 525-30.
3. Baer-Dubowska W. Chemoprewencja-nowa strategia profilaktyki nowotworów. W: Na pograniczu chemii i biologii. H. Koroniak, J. Barciszewski, W. T. Markiewicz, K. Ziemiński (red.). Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań 1998; 201-18.
4. Hursting SD, Slaga TJ, Fischer SM, DiGiovanni J, Phang JM. Mechanism-based Cancer Prevention Approaches: Targets, Examples, and the Use of Transgenic Mice. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 215-25.
5. Wierzbicka M, Szyfter K. Mnogie pierwotne nowotwory w obrębie głowy i szyi – podłoże genetyczne. *Post Chir Głowy i Szyi* 2003; 2: 21-40.
6. Geyer C, Papdimitrakopoulou V, Hong WK. Chemoprevention in head and neck cancer: basic science and clinical application. *Semin Radiat Oncol* 1998; 8: 292-301.
7. Lippman SM, Hong WK. Cancer prevention by delay. *Clin. Cancer Res* 2002; 8: 305-13.
8. Gallop-Goodman G. Spotlight shines on AACR's new cancer prevention meeting. *AACR News Fall* 2002; 1-3.
9. Wattenberg LW. Chemoprophylaxis of carcinogenesis: A review. *Cancer Res* 1966; 26: 1520-26.
10. Sporn MB, Dunlop NM, Newton DL, Smith JM. Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs (retinoids). *Fed Proc* 1976; 35: 1332-38.
11. Yuspa SH. The pathogenesis of squamous cell cancer: lessons learned from studies of skin carcinogenesis – 33rd G. H. A. Clowes Memorial Award Lecture. *Cancer Res* 1994; 54: 1178-89.
12. DiGiovanni J. Multistage skin carcinogenesis in mice. In: *Carcinogenesis*. M. P. Waalkes, J. M. Ward (red.). Raven Press Ltd New York 1994; 265-99.
13. Baer-Dubowska W. Mouse skin model as a reliable short-term carcinogenesis assay. *Acta Pol Toxicol* 1997; 5: 9-23.
14. Yuspa SH. The pathogenesis of squamous cell cancer: lessons learned from studies of skin carcinogenesis. *J Dermatol Sci* 1998; 17: 1-7.
15. Tennenbaum T, Weiner AK, Belanger AJ, Glick AB, Hennings H, Yuspa SH. The suprabasal expression of β 4 integrin is associated with high risk for malignant progression in mouse skin carcinogenesis. *Cancer Res* 1993; 53: 4803-10.
16. Tennenbaum T, Yuspa SH, Grover A, et al. Extracellular matrix receptors and mouse skin carcinogenesis: altered expression linked to appearance of early markers of tumor progression. *Cancer Res* 1992; 52: 2966-76.
17. Glick AB, Kulkarni AB, Tennenbaum T, et al. Loss of expression of transforming growth factor β in skin and skin tumors is associated with hyperproliferation and high risk for malignant conversion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 6076-80.
18. Aldaz CM, Conti CJ, Larcher F, et al. Sequential development of aneuploidy, keratin modification and gamma-glutamyltransferase expression in mouse skin papillomas. *Cancer Res* 1988; 48: 3253-57.



19. Aldaz CM, Trono D, Larcher F, Slaga TJ, Conti CJ. Sequential trisomization of chromosomes 6 and 7 in mouse skin premalignant lesions. *Mol Carcinog* 1989; 2: 22-26.
20. Szyfter K. Rola czynnika genetycznego w powstawaniu i przebiegu płaskonabłonkowego raka krtani. *Post Chir Głowy i Szyi* 2002; 1: 5-19.
21. Weinstein JB, Carothers AM, Santella RM, Perera FP. Molecular mechanisms of mutagenesis and multistage carcinogenesis. In: *The Molecular Basis of cancer*. J. Mendelsohn, P. M. Howley, M. A. Israel, L. A. Liotta (red.). W. B. Saunders, Philadelphia 1995; 59-85.
22. Feason ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-67.
23. Lowy DR. Function and regulation of Ras. *Annu Rev Biochem* 1993; 62: 851-91.
24. Bos JL. Ras Oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res* 1998; 49: 4682-09.
25. Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 1995; 83: 835-39.
26. Papadimitrakopoulou VA, Clayman GL, Shin DM, Myers JN, Gillenwater AM. Biochemoprevention for dysplastic lesions of the upper aerodigestive tract. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125: 1083-89.
27. De Flora S. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Res* 1998; 402: 151-58.
28. Baer-Dubowska W. Nieodżywcze składniki roślin w chemoprewencji nowotworów oraz chorób serca i układu krążenia. *Farmacja Polska* 2000; 56: 1064-70.
29. Lippman SM, Brown PH. Tamoxifen prevention of breast cancer: an instance of the fingerpost. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1809-19.
30. Sharma RA, Gescher AJ, O'Byrne KJ, Steward WP. Familiar drugs may prevent cancer. *Postgrad Med J* 2001; 77: 492-97.
31. Gescher A, Pastorino U, Plummer SM, Manson MM. Suppression of tumour development by substances derived from the diet-mechanisms and clinical implications. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 45: 1-12.
32. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the national surgical breast and bowel project P-1 study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 1371-88.
33. Cummings SR, Eckert S, Krueger KA, et al. The effect of raloxifene on risk of breast cancer in postmenopausal women: results from the MORE randomized trial. *J Am Med Assoc* 1999; 281: 2189-97.
34. Veronesi U, De Palo G, Marubini E, et al. Randomized trial of fenretinide to prevent second breast malignancy in women with early breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1847-56.
35. Vogelstein B, Kinzler KW. P53 function and dysfunction. *Cell* 1992; 70: 523-26.
36. Lowe SW, Lin AW. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 2000; 21: 485-95.
37. Lippman SM, Lee JJ, Sabichi AL. Cancer chemoprevention: progress and promise. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1514-28.
38. Clayman GL, El-Naggar AK, Lippman SM, et al. Adenovirus-mediated p53 gene transfer in patients with advanced recurrent head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2221-32.
39. Hong WK, Lippman SM, Itri LM, et al. Prevention of second primary tumors with isotretinoin in squamous-cell carcinoma of head and neck. *N Engl J Med* 1990; 323: 795-801.
40. Silvermaman S jr, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. *Cancer* 1984; 53: 563-68.
41. Hong WK, Endicott J, Itri LM. 13-*cis*-Retinoic acid in treatment of oral leukoplakia. *N Engl J Med* 1986; 315: 1501-05.
42. Khuri FR, Lippman SM, Spitz MR, Lotna R, Hong WK. Molecular epidemiology and retinoid chemoprevention of head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 199-211.
43. Chambon PA. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 1996; 10: 940-54.
44. Mukherjee R, Davies PJ, Crombie DL, et al. Sensitization of diabetic and obese mice to insulin by retinoid X receptor agonists. *Nature* 1997; 386: 407-10.
45. Sun S-Y, Yue P, Mao L, et al. Identification of receptor-selective retinoids that are potent inhibitors of the growth of human head and neck squamous cell carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1563-73.
46. El Attar TMA, Lin HS, Vanderhoek Jy. Biosynthesis of prostaglandins and hydroxyl fatty acids in primary squamous carcinomas of head and neck in humans. *Cancer Lett* 1985; 27: 255-9.
47. Spingarn A, Sacks PG, Kelley D, Dannenberg AJ, Schantz SP. Synergistic effects of 13-*cis* retinoic acid and arachidonic acid cascade inhibitors on growth of head and neck squamous cell carcinoma in vitro. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 118: 159-64.
48. Subbaramaiah K, Zakim D, Weksler BB, Dannenberg AJ. Inhibition of cyclooxygenase: a novel approach to cancer prevention. *PSEBM* 1997; 216: 201-10.
49. Sporn MB, Roberts AB. Peptide growth factors and inflammation, tissue repair and cancer. *J Clin Invest* 1996; 78: 329-32.
50. Prescott SM, White RL. Self-promotion? Intimate connections between APC and prostaglandin H synthase-2. *Cell* 1996; 87: 783-86.
51. Oshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, et al. Suppression of intestinal polyposis in Apc Δ 716 knock-out mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell* 1996; 87: 803-9.
52. Prescott SM, Fitzpatrick FA. Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. *Biochem Biophys Acta* 2000; 1470: M69-78.
53. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, VanDePutte LB, Lipsky PE. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* 1998; 12: 1063-73.
54. Dempke W, Rie Ch, Grothey A, Schmoll HJ. Cyclooxygenase-2: a novel target for cancer chemotherapy? *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 411-17.
55. Li G, Yang T, Yan J. Cyclooxygenase-2 increases the angiogenic and metastatic potential of tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 299: 886-90.
56. Sheng H, Williams CS, Shao J, Liang P, Dubois RN, Beauchamp RD. Induction of cyclooxygenase-2 by activated Ha-ras oncogene in Rat-1 fibroblasts and the role of mitogen-activated protein kinase pathway. *J Biol Chem* 1998; 273: 22120-27.
57. Willis DB, Colburn NH. Molecular targets for cancer prevention: A meeting review of the third American Cancer Society-Schilling Research Conference. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2002; 11, 972-8.
58. Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT, Araki R, DeVito B, Weksler BB, Dannenberg AJ. Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. *Cancer Res* 1996; 56: 4424-29.
59. Michaluart P, Masferrer JL, Carothers AM, et al. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. *Cancer Res* 1999; 59: 2347-52.
60. Chan G, Boyle JO, Yang EK, et al. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res* 1999; 59: 991-94.
61. Mestre JR, Chan G, Zhang F, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 expression. An approach to preventing head and neck cancer. *Ann N-Y-Acad-Sci* 1999; 889: 62-71.
62. Swamy MV, Herzog CR, Chinthalapally VR. Inhibition of COX-2 in colon cancer cell lines by celecoxib increases the nuclear localization of active p53. *Cancer Res* 2003; 63: 5239-42.
63. Zhang F, Altorki NK, Mestre JR, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Curcumin inhibits cyclooxygenase-2 transcription in bile acid- and phorbol ester-treated human gastrointestinal epithelial cells. *Carcinogenesis* 1999; 20: 445-51.
64. Alhasan SA, Aranha O, Sarkar FH. Genistein elicits pleiotropic molecular effects on head and neck cancer cells. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 4174-81.
65. Lippman SM, Matrisian LM. Protease inhibitors in oral carcinogenesis and chemoprevention. *Clin Cancer Res* 2000; 6, 4599-03.
66. Kennedy AR. Chemopreventive agents: protease inhibitors. *Pharmacol Ther* 1998; 78: 167-209.
67. Armstrong WB, Kennedy AR, Wan XS, et al. Clinical modulation of oral leukoplakia and protease activity by Bowman-Birk inhibitor concentrate in phase IIa chemoprevention trial. *Clin Cancer Res* 2000; 6, 4684-91.
68. Meyskens FL. Development of Bowman-Birk inhibitor for chemoprevention oral head and neck cancer. *Ann NY Acad Sci* 2001; 952: 116-23.
69. Fujiki H, Saganuma M, Imai K, Nakachi K. Green tea: cancer preventive beverage and/or drug. *Cancer Lett* 2000; 188: 9-13.



70. Pisters KM, Newman RA, Coldman B, et al. Phase I trial of oral green tea extract in adult patients with solid tumors. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1830-38.
71. Masuda M, Suzui M, JTM Lim, Weinstein B. Epigallocatechin-3-gallate inhibits activation of HER-2/neu and downstream signaling pathways in human head and neck and breast carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3486-91.
72. Shin DM, Khuri FR, Murphy B, Garden AS, et al. Combined interferon- α , 13-cis-retinoic acid, and alpha-tocopherol in locally advanced head and neck squamous cell carcinoma: novel bioadjuvant phase II trial. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3010-17.
73. Cai Y, Baer-Dubowska W, Ashwood-Smith M, DiGiovanni J. Inhibitory effects of naturally occurring coumarins on the metabolic activation of benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in cultured mouse keratinocytes. *Carcinogenesis* 1997; 18: 215-22.
74. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM. Mechanism of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points. *Carcinogenesis* 2001; 22: 999-1013.
75. Mao L, El-Naggar AK, Papadimitrakopoulou V, et al. Phenotype and genotype of advanced premalignant head and neck lesions after chemopreventive therapy. *J Natl Cancer Inst*. 1998; 90: 1545-51.
76. Mao L, Lee JS, Fan YH, Ro JY, et al. Frequent microsatellite alterations at chromosome 9p 21 and 3p14 in oral premalignant lesions and their values in Cancer risk assessment. *Nat Med* 1996; 2: 682-85.
77. Lotan R, Xu XC, Lippman SM, Ro JY, Lee JS, Lee JJ, Hong WK. Suppression of retinoic acid receptor- β in premalignant oral lesions and its up-regulation by isotretinoin. *N Engl J Med* 1995; 332: 1405-10.
78. Shin DM, Xu XC, Lippman SM, Lee JS, et al. Accumulation of p53 protein and retinoic acid receptor-beta in retinoid chemoprevention. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 875-80.
79. Mao L, El-Naggar AK, Fan YN, et al. Telomerase activity in head and neck squamous cell carcinoma and adjacent tissues. *Cancer Res*; 56: 5600-04.
80. Luzar B, Poljak M, Marin IJ, Gale N. Telomerase reactivation is an early event in laryngeal carcinogenesis. *Mod Pathol* 2003; 16: 841-48.
81. Armstrong WB, Taylor TH, Meyskens FL jr. Point: surrogate end point biomarkers are likely to be limited in their usefulness in the development of cancer chemoprevention agents against sporadic cancers. *Cancer Epidemiol Biomark Preven*. 2003; 12: 589-92.
82. Rosin MP, Cheng X, Poh C, et al. Use of allelic loss to predict malignant risk for low-grade oral epithelial dysplasia. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 357-62.
83. Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN, et al. Predicting cancer development in oral leukoplakia: ten years of translational research. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1702-10.
84. Papadimitrakopoulou VA, Liu DD, Mao L, et al. Biologic correlates of biochemoprevention trial in advanced upper aerodigestive tract premalignant lesions. *Cancer Epidemiol Biomark Preven* 2002; 11: 1605-10.
85. Izzo JG, Papadimitrakopoulou VA, Liu DD, et al. Cyclin D1 genotype, response to biochemoprevention, and progression rate to upper aerodigestive tract cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 198-205.
86. Plummer SM, Hill KA, Festing MFW, Steward WP, Gescher AJ, Sharma RA. Clinical development of leucocyte cyclooxygenase-2 activity as a systematic biomarker for cancer chemopreventive agents. 2001; 10: 1295-99.
87. O'Shaughnessy JA, Kelloff GJ, Gordon GB, et al. Treatment and prevention of intraepithelial neoplasia: an important target for accelerated new agent development. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 314-46.
88. Belhocine T, Steumetz N, Hustinx R, et al. Increased uptake of the apoptosis-imaging agent (99m) Tc recombinant human Annexin V in human tumors after one course of chemotherapy as a predictor of tumor response and patient prognosis. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2766-02.
89. Blankenberg F. To scan or not to scan, it is a question of timing: technetium-99m-annexin v radionuclide imaging assessment of treatment efficacy after one course of chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2757-58.

Adres do korespondencji

prof. dr hab. **Wanda Baer-Dubowska**
Katedra Biochemii Farmaceutycznej
Akademia Medyczna
im. K. Marcinkowskiego
ul. Grunwaldzka 6
60-780 Poznań
tel. 0 (prefiks) 61 865 96 05
faks 0 (prefiks) 61 865 95 66
e-mail: baerw@amp.edu.pl

Słowniczek niektórych pojęć

Apoptoza – zaprogramowana śmierć komórki.

Cyklina – białko regulacyjne, którego ilość zmienia się w trakcie cyklu komórkowego; reguluje procesy biochemiczne w sposób zależny od cyklu komórkowego. *CYKLINA D1* – gen na chromosomie 11, jego mutacja prowadząca do nadprodukcji cykliny zaburza cykl komórkowy, co wiąże się z transformacją nowotworową.

Czynnik transkrypcyjny – białko aktywujące inicjację transkrypcji u eukariotów. Większość genów eukariotycznych nie ulega ekspresji dopóki nie zostaną zaktywowane przez przyłączenie do DNA specyficznych białek nazwanych czynnikami transkrypcyjnymi. Obok podstawowych czynników transkrypcyjnych niezbędnych do związania polimerazy RNA z sekwencją TATA miejsca promotora transkrybowanego genu, w procesie transkrypcji biorą udział także produkty protoonkogenów *jun* i *fos*. Tworzą one czynnik transkrypcyjny AP-1. Nadprodukcja lub ciągła aktywacja tych czynników prowadzi do niekontrolowanej ekspresji genów i może wywołać transformację nowotworową.

Telomer – koniec chromosomów eukariotycznych.

Telomeraza – enzym utrzymujący końce chromosomów eukariotycznych przez syntetyzowanie powtórzeń telomerowych. Eukariotyczne polimerazy DNA nie mogą syntetyzować DNA w kierunku 3'→5', czego skutkiem jest zróżnicowana synteza obydwu nici DNA. Usunięcie startera (niezbędnego do zainicjowania syntezy DNA) z nici opóźnionej powoduje powstawanie potomnej cząsteczki DNA z niekompletnym końcem 5'. Skracaniu telomerów zapobiega telomeraza, która syntetyzuje nić telomerową na podstawie własnej matrycy komplementarnej do syntetyzowanej nici. W komórkach nowotworowych ma miejsce podwyższona ekspresja telomerazy, co przyczynia się do nieograniczonych podziałów komórki.

