

W Polsce co roku na 100 tys. kobiet rozpoznaje się 11 zachorowań na raka jajnika. Pomimo istotnej pierwotnej chemiowrażliwości komórek nowotworowych 5-letnie przeżycie wynosi jedynie ok. 30 proc. U większości chorych dochodzi do wznowy choroby nowotworowej, której zwykle już nie udaje się pokonać. Jednym z głównych mechanizmów odpowiedzialnych za brak sukcesów kolejnych „rzutów” chemioterapii raka jajnika jest wyodrębnianie się klonów komórek opornych na standardowo stosowane cytostatyki. Ten stan jest warunkowany przez oporność wielolekową. Genetycznym podłożem oporności komórek nowotworowych wobec cytostatyków jest utrata zdolności do indukcji apoptozy. Do tej pory poznano różne mechanizmy lekooporności, które próbowano przełamać przez eskalację dawek cytostatyków, do chemioterapii wysokodawkowej z przeszczepem komórek macierzystych szpiku włącznie, równoczesne lub sekwencyjne stosowanie kilku cytostatyków o różnym mechanizmie działania, terapię genową typu uzyskanie funkcji genu (ang. gain-of-function) i utrata funkcji genu (ang. loss-of-function), czy hamowanie angiogenezy w guzie nowotworowym, jak i stosowanie różnych środków farmakologicznych, nazywanych ze względu na swą funkcję modulatorami lub modyfikatorami oporności, czy też chemiouczulaczami. Mają one działać zarówno na wykryte geny oporności wielolekowej, jak i poprzez inne mechanizmy, nie zawsze do końca poznane. Stosując modulatory można uzyskać zwiększenie toksyczności stosowanego cytostatyku bez zwiększania jego dawki. Ze stosowaniem modulatorów oporności wielolekowej wiąże się nadzieje na zwiększenie skuteczności konwencjonalnej chemioterapii. W pracy dokonano przeglądu dostępnych badań dotyczących prób przełamania oporności komórek raka jajnika.

**Słowa kluczowe:** rak jajnika, oporność wielolekowa, geny oporności wielolekowej, modulatory oporności wielolekowej, S-transferaza glutationu  $\pi$ .

# Modulacje oporności wielolekowej u chorych na raka jajnika

*The modulation of multidrug resistance in ovarian cancer patients*

Magdalena Miedzińska-Maciejewska, Gabriel Wciśło, Lubomir Bodnar

Klinika Onkologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

## WPROWADZENIE

W Polsce co roku na 100 tys. kobiet rozpoznaje się 11 zachorowań na raka jajnika. Pomimo istotnej pierwotnej chemiowrażliwości komórek nowotworowych – od 60 do 80 proc. chorych z zaawansowaną chorobą, czyli III i IV stopniem zaawansowania klinicznego wg FIGO (ang. *International Federation of Gynaecology and Obstetrics*) odpowiada na pierwszorazowe standardowe leczenie cytostatyczne, składające się z pochodnych platyny (zwykle karboplatyny) i taksanów (paklitaksel), 5-letnie przeżycie wynosi jedynie ok. 30 proc. W ciągu 2 lat u większości chorych (55–75 proc.) dochodzi do wznowy choroby nowotworowej i wiele z nich umiera, gdyż skuteczność chemioterapii drugiego i kolejnych rzutów jest wciąż niewystarczająca. Jednym z głównych mechanizmów odpowiedzialnych za brak sukcesów kolejnych linii chemioterapii raka jajnika jest wyodrębnianie się klonów komórek opornych na standardowo stosowane cytostatyki.

Terminem oporności wielolekowej określa się występowanie szeroko pojmowanej oporności krzyżowej na różne cytostatyki. Oporność na chemioterapię – czy to

pierwotną, istniejącą już w czasie rozpoznania choroby, czy też powstałą w trakcie jej leczenia jako wynik adaptacji lub selekcji lekoopornych klonów komórek nowotworowych, jest bardzo istotnym czynnikiem decydującym o braku skuteczności leczenia chorych na raka jajnika. Genetycznym podłożem oporności komórek nowotworowych na leki jest utrata zdolności do indukcji apoptozy. Częstość występowania wtórnej oporności wielolekowej u tych pacjentek jest warunkowana znaczną heterogennością antygenową raka jajnika [1]. Szczegółowo o mechanizmach oporności wielolekowej w raku jajnika autorzy pisali już wcześniej [2], obecnie chcą się skupić nad możliwościami modulowania oporności na cytostatyki. Zainteresowanie poszukiwaniem substancji przełamujących lekooporność wynika głównie z braku poprawy wydłużenia całkowitego czasu przeżycia oraz czasu wolnego od wznowy raka jajnika, pomimo wysokiego odsetka odpowiedzi obiektywnych po leczeniu paklitaksellem i pochodnymi cisplatyny. Dodatkowo u chorych z postacią raka jajnika oporną na pochodne cisplatyny obserwuje się niski odsetek odpowiedzi (ok. 10 proc.) po leczeniu drugiego rzutu.

*Ovarian cancer is ubiquitously diagnosed in Poland with morbidity of 11 new cases per 100 000 annually. Despite the high response rates with initial chemotherapy, the five-year survival rate from ovarian cancer is only 20% to 30%. Most patients with ovarian cancer relapse and the response rate for the secondary treatment remains disappointingly low. The main problem and reason for these low cure rates are the selection of tumor cell clones that are resistant to cytotoxic drugs. It is so called the multidrug resistance connected with a decreased susceptibility to apoptosis. There are many studies dealing with drug resistance and the ways of overcoming it, including the escalation of cytostatics doses, high dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation, multidrug chemotherapy, gene therapy (two types: (1). gain-of-function and (2). loss-of-function), inhibition of the tumor angiogenesis or using different pharmacological substances, which are called due to their function, resistance modulators, modifiers or chemosensitizers. Modulators function through targeting multidrug resistance genes or any other mechanisms not completely known yet. We can increase cytotoxicity without increasing the drug dose when the modulator is given simultaneously. It is expected that modulators can increase efficacy of conventional chemotherapy. This article presents an overview of different studies on basic modulators of drug resistance in ovarian cancer and their clinical significance.*

*Key words: ovarian cancer, multidrug resistance, multidrug resistance genes, multidrug resistance modulators, glutathione-S-transferase  $\pi$ .*

Badane są różne aspekty lekooporności, obejmujące zarówno próby jej przełamania przez eskalację dawek cytostatyków, do chemioterapii wysokodawkowej z przeszczepem komórek macierzystych szpiku włącznie, równoczesowe lub sekwencyjne stosowanie kilku cytostatyków o różnym mechanizmie działania, terapia genowa czy hamowanie angiogenezy w guzie nowotworowym, jak i stosowanie różnych środków farmakologicznych, nazywanych ze względu na swą funkcję modulatorami lub modyfikatorami oporności, czy też chemioczulaczami. Mają one działać zarówno na wykryte geny oporności wielolekowej (MDR1 – ang. *multidrug resistance*; MRP1 – ang. *multidrug resistance-associated protein*; LRP – ang. *lung resistance related protein*; BCRP – ang. *breast cancer related protein*), jak i poprzez inne mechanizmy (np. hamowanie aktywności S-transferazy glutationu, p53, Bcl2 i inne), nie zawsze do końca poznane. Ze stosowaniem modulatorów oporności wielolekowej wiąże się nadzieję na zwiększenie skuteczności konwencjonalnej chemioterapii. W rozpoczętych próbach przełamania oporności stosowane są różne związki farmakologiczne, w tym różne leki o innym pierwotnym zastosowaniu terapeutycznym, przeciwciała monoklonalne, immunotoksyny, przeciwciała dwufunkcyjne czy syntetyczne oligonukleotydy typu antysens.

W odniesieniu do raka jajnika zdecydowanie najwięcej badań prowadzonych jest na liniach komórkowych z opornością wytworzoną zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, na modelach zwierzęcych, a jedynie nieliczne prace dotyczą badań na ludziach.

## MECHANIZMY DZIAŁANIA MODULATORÓW

Część przyczyn lekooporności wynika z czynników farmakologicznych możliwych do przewidzenia

przez lekarza, takich jak dostępność biologiczna i metabolizm leku, dawkowanie i częstość jego podania. Za obniżoną wrażliwość na chemioterapię odpowiedzialne są jednak głównie mechanizmy komórkowe, które ogólnie można podzielić na powodujące:

- 1) zaburzenie transportu, czyli zmniejszenie wnikania leków do komórki lub zwiększenie ich aktywnego usuwania z komórki nowotworowej; uczestniczące w tym białka to glikoproteina P, która transportuje np. paklitaksel, alkaloidy *Vinca* i antracykliny; MRP – związana z opornością na etopozyd i doksorubicynę; LRP – warunkująca oporność na doksorubicynę, winkrystynę, karboplatynę, cisplatynę i melfalan oraz BCRP, która zmniejsza wewnątrzkomórkową akumulację antracyklin przy braku nadekspresji innych znanych białek oporności wielolekowej, takich jak P-gp czy MRP;
- 2) zakłócenie metabolizmu poprzez przyspieszenie procesów detoksykacyjnych lub inaktywację związków farmakologicznych czynnych w komórkach nowotworowych, tak jak to następuje, np. w przypadku łączenia się glutationu z ksenobiotykiem przed jego usunięciem z komórki;
- 3) zmiany w komórkowym punkcie docelowym działania cytostatyków, do których dochodzi na drodze mutacji w przebiegu stosowania, np. takich leków, jak paklitaksel lub alkaloidy *Vinca*;
- 4) nieprawidłowe działanie białek naprawy uszkodzonego DNA, głównie pod wpływem leków alkilujących oraz
- 5) zmniejszenie ekspresji onkogenów, brak aktywacji szlaków apoptozy czy też zmiany dotyczące czynników wzrostu lub ich receptorów [3].

## Modulatory MDR

Najbardziej zaawansowane są badania nad modulatorami oporno-

ści wielolekowej (ang. *multidrug resistance*, MDR) zależnej od glikoproteiny P (P-gp). Glikoproteina P kodowana przez gen MDR1 jest integralnym białkiem błon komórkowych w wielu prawidłowych tkankach. Podstawowym mechanizmem fizjologicznym jest zależny od stężenia ATP transport na zewnątrz komórki hydrofobowych metabolitów, ksenobiotyków i hormonów steroidowych. Działanie P-gp jako mechanizm oporności wielolekowej jest podobne, jak w warunkach fizjologicznych i polega na transporcie cytotostatyków pochodzenia naturalnego na zewnątrz komórki nowotworowej. Powoduje to obniżenie ich stężenia w jądrze komórkowym do wartości nieefektywnych cytotoksycznie. Obecność P-gp w komórkach nowotworowych stanowi podłoże oporności o szerokim spektrum, m.in. w stosunku do antracyklin i alkaloidów *Vinca*.

Badano kilka sposobów na przełamanie oporności wielolekowej warunkowanej nadmierną ekspresją glikoproteiny P:

- stosowanie cytotostatyków, na które komórki z ekspresją P-gp wykazują wrażliwość;
- stosowanie chemouczulających substancji o właściwościach hamujących funkcje P-gp;
- stosowanie metod immunoterapii, gdzie przez zastosowanie przeciwciał można zahamować funkcje P-gp;
- hamowanie ekspresji genu MDR1 przez stosowanie substancji supresorowych;
- stosowanie chemioterapii wysokodawkowej [4].

Badania modulatorów oporności wielolekowej warunkowanej przez MDR trwają od początku lat 80. Zapoczątkował je Tsuruo i wsp. [5], którzy jako pierwsi wykazali na przykładzie werapamilu, że blokery kanału wapniowego mogą powodować odwrócenie oporności wielolekowej. Mechanizmem wspólnym dla większości modulatorów MDR, w tym także właśnie najlepiej poznanego modulatora wera-

pamilu i jego analogów jest kompetycyjne hamowanie transportowej funkcji glikoproteiny P przez odwrócenie działania zależnej od glikoproteiny P pompy usuwającej substancje obce z komórki. Pozwala to na zwiększenie stężenia cytotostatyku w komórce nowotworowej. Dzięki temu możliwe byłoby zmniejszenie zwykle stosowanej bez modulatora dawki leku przeciwnowotworowego (wg niektórych doniesień nawet o 25 proc.), co jest równoznaczne ze zmniejszeniem działań niepożądanych. Istotny jest fakt, że komórki, w których udaje się przełamać oporność wielolekową przy użyciu modulatorów wykazują wyższe stężenia glikoproteiny P w porównaniu do tych niewrażliwych [6].

Do grupy modulatorów oporności wielolekowej należą blokery kanału wapniowego, cyklosporyna, leki antyarytmiczne, analogi steroidów, antybiotyki, inhibitory kalmodyliny i leki przeciwmalaryczne (tab. 1.).

Niektórzy badacze dzielą modulatory tej grupy pod względem czasu wprowadzenia ich do badań nad opornością, co ma bezpośredni związek z ich coraz to większą skutecznością, a co jest nawet bardziej istotne – mniejszą toksycznością. Wyróżnia się 3 generacje inhibitorów P-gp (tab. 2.). Do pierwszej należą takie klasyczne modulatory, jak cyklosporyna i werapamil, do drugiej, np. valspodar i birikodar, a do trzeciej

**Tab. 1. Modulatory MDR**

**Table 1. MDR modulators**

- blokery kanału wapniowego: werapamil, dekswerapamil, deksniguldypina, nifedypina
- immunomodulatory (cyklosporyny): cyklosporyna A, PSC 833 (cyklosporyna D, valspodar)
- steroidy: progesteron, deksametazon, prednizon
- inhibitory receptora estrogenowego: tamoksifen, toremifen
- leki przeciwmalaryczne (chinolony): HS-209, chinina, chinidyna
- antagoniści kalmoduliny: chlorpromazyna, trifluoroperazyna (stelazyna), tiorydazyna, klomipramina
- inne: rezerpina, dipirydamol, amiodaron, bepridil, mitotan

**Tab. 2. Generacje modulatorów MDR**

**Table 2. Generations of MDR modulators**

Pierwsza
<ul style="list-style-type: none"> <li>– werapamil</li> <li>– cyklosporyna A</li> <li>– tamoksifen</li> <li>– antagoniści kalmoduliny</li> <li>– chinidyna</li> </ul>
Druga
<ul style="list-style-type: none"> <li>– dekswerapamil</li> <li>– deksniguldypina</li> <li>– PSC 833 (valspodar)</li> <li>– birikodar (VX-710)</li> </ul>
Trzecia
<ul style="list-style-type: none"> <li>– tariquidar (XR9576)</li> <li>– zosuquidar (LY335979)</li> <li>– laniquidar (R101933)</li> <li>– ONT-093</li> <li>– elakridar (GF120918/GG918)</li> </ul>

najnowsze badane substancje: tariquidar XR9576, zosuquidar LY335979, laniquidar R101933 i ONT-093 [7].

Wśród wielu substancji badanych pod kątem modulowania oporności komórek nowotworowych, jedynie niektóre były stosowane w przypadku raka jajnika. Należą do nich m.in.:

- ▶ cyklosporyna A – badania na liniach komórkowych, fazy I i II [6, 8–13],
- ▶ dipirydamol – badanie fazy I [14],
- ▶ nifedypina – badanie fazy I [15],
- ▶ PSC-833 (valspodar) – badania na liniach komórkowych, fazy I, II i III [6,9,13,16,17],
- ▶ Ro 44-5912 (bloker kanału wapniowego) – badanie na liniach komórkowych [18],
- ▶ skonjugowany SPM-glutaraldehyd (poli-SPM; ang. *reduced polymer of spermine and glutaraldehyde*) [16],
- ▶ trifluoroperazyna (stelazyna) – badanie fazy I/II [19],
- ▶ werapamil – badania na liniach komórkowych [8, 20],
- ▶ XR9576 (tarikwidar) – badania fazy II [21],
- ▶ 5-hydrokxy-4-oxo-L-norvaline (HON) – badanie na liniach komórkowych raka jajnika [22].

W badaniach na różnych pod względem lekooporności liniach komórkowych raka jajnika zaobserwowano, że zastosowanie modulatorów oporności pozwala na odwrócenie defektu akumulacji leku w liniach opornych na dany cytostatyk. Efekt działania modulatorów jest niejednakowo wyrażony w stosunku do różnych linii komórek nowotworowych raka jajnika, wykazujących oporność na poszczególne cytostatyki. Moran i wsp. [8] przedstawili badanie, w którym zastosowanie werapamilu i cyklosporyny A doprowadziło do wyrównania się stężeń wewnątrzkomórkowych doksorubicyny w komórkach linii opornych i wrażliwych. Dodatkowo stosowanie modulatorów

spowodowało podwyższenie stężenia cytostatyku w komórkach nie wykazujących lekooporności. Cyklosporyna A okazała się skuteczniejsza od werapamilu. Stosując cyklosporynę A z karboplatiną (AUC=6) uzyskano 14 proc. obiektywnych odpowiedzi wśród chorych platynoopornych oraz 24 proc. odpowiedzi w całej grupie 38 chorych, badanej przez Chambersa i wsp. [10]. PSC-833 (valspodar) jest analogiem cyklosporyny pozbawionym własności immunosupresyjnych. W badaniu na liniach komórkowych raka jajnika opornych na paklitaksel, Duraj i wsp. [23] stosując PSC-833 doprowadzili do powrotu wrażliwości komórek nowotworowych na lek i zablokowania ich w fazie G2/M cyklu komórkowego w takim samym stopniu, jak komórki z linii wrażliwych. Całkowite odwrócenie oporności uzyskali także Aziz i wsp. [16], poddając działaniu modulatorów linie komórkowe raka jajnika odporne na paklitaksel i etopozyd w przypadku PSC-833 oraz odporne jedynie na paklitaksel stosując cyklosporynę A. Dodatkowo autorzy przedstawili dane, dotyczące działania nowo zsyntetyzowanej substancji o działaniu modulującym – skonjugowanego SPM-glutaraldehydu (poli-SPM). Działanie poli-SPM polega na odwróceniu oporności zależnej od fenotypu MDR. Po zastosowaniu poli-SPM akumulacja leków, takich jak doksorubicyna, paklitaksel, winblastyna i etopozyd nie różniła się w komórkach linii opornych i wrażliwych. Coley i wsp. [6] wykazali, że stosowanie cyklosporyny A i PSC-833 jest bardziej efektywne, jeśli chodzi o odwrócenie efektu lekooporności na doksorubicynę niż na paklitaksel.

Inną potencjalną możliwością zablokowania transportowej funkcji P-gp jest stosowanie inhibitorów kinaz białkowych (PKC), zwłaszcza kinazy białkowej  $C\alpha$ . Do inhibitorów PKC należą takie leki, jak chlorpromazyna, trifluo-

razyna czy tamoksifen. Hamują one fosforylację P-gp, utrudniając usuwanie leków cytostatycznych z komórek. W badaniach *in vitro* tamoksifen wykazywał działanie synergiczne z pochodnymi platyny oraz wydawał się odwracać oporność na cisplatinę. Sprowokowało to próbę przeprowadzenia badania u chorych z zaawansowanym rakiem jajnika. W grupie 105 chorych tamoksifen był podawany 2 razy dziennie w dawce po 20 mg. U wszystkich poddanych badaniu chorych rak jajnika był chorobą przetrwałą lub nawrotową po pierwotnym zabiegu operacyjnym i chemioterapii pierwszego rzutu. Odnotowano 18 proc. obiektywnych odpowiedzi [24]. W dokonanej następnie reanalizie, wyodrębniono chore z chorobą platynooporną, gdzie odsetek odpowiedzi wyniósł 13 proc. W grupie chorych platynowrażliwych odsetek ten wyniósł 15 proc. [25]. Prowadzono także badania z wyższymi dawkami tamoksifenu. Ahlgren i wsp. wśród 29 chorych z opornym rakiem jajnika stosowali przez 30 dni 80 mg tamoksifenu/dobę, a następnie dawkę podtrzymującą 40 mg/dobę. Odnotowano 17 proc. obiektywnych odpowiedzi, w tym u 2 chorych odpowiedzi te były długotrwałe (ponad 5 lat) [26].

Stosując modulatory można uzyskać zwiększenie toksyczności stosowanego cytostatyku bez zwiększania jego dawki. Poza znalezieniem skutecznej i bezpiecznej substancji odwracającej oporność wielolekową, ważne jest odpowiednie wytypowanie pacjentek z rakiem jajnika, które mogą odnieść korzyść ze stosowanego leczenia, np. na podstawie poziomu aktywności glikoproteiny P [6].

Niestety, nie każda substancja, która ma zdolność modulowania oporności w badaniach *in vitro* może być stosowana także *in vivo*. Główną cechą dobrego modulatora powinna być możliwość uzyskania odpowiednio wysokiego stężenia

**Tab. 3. Modulatory MDR stosowane w badaniach u chorych na raka jajnika**  
**Table 3. MDR modulators studied in ovarian cancer patients**

Źródło	Stosowany modulator	Stosowane cytostatyki	Wynik badania
Ozols i wsp., 1987 [20]	werapamil	adriamycyna	wśród 8 chorych nie zaobserwowano żadnej odpowiedzi
Miller i wsp., 1988 [19]	trifluoroperazyna	doksorubicyna	faza I/II; badanie obejmowało 36 chorych, w tym 4 z rakiem jajnika; u 1 z tych 4 chorych uzyskano PR
Isonishi i wsp., 1991 [14]	dipirydamol	etopozyd	faza I; odnotowano 6 proc. odpowiedzi (1/16)
Philip i wsp., 1992 [15]	nifedypina	etopozyd	faza I; wśród 15 badanych były 2 chore z rakiem jajnika; u 12 odnotowano PD, u 2 – SD i u jednej PR
Lum i wsp., 1993 [11]	cyklosporyna A	etopozyd	faza I; w 79-osobowej grupie badanych było 17 chorych z rakiem jajnika; regresja guza wystąpiła u 4 z 25 chorych, u których stosowano wyższe stężenia CsA ( $\geq 2000$ ng/ml), w tym u chorych na raka jajnika i nowotwory hematologiczne
Chambers i wsp., 1996 [10]	cyklosporyna A	karboplatyna	faza II; u 38 chorych uzyskano 24 proc. obiektywnych odpowiedzi w grupie chemoopornej i 14 proc. wśród platynoopornych
Chambers i wsp., 1996 [12]	cyklosporyna A	karboplatyna	faza I; wśród 29 chorych było 25 z rakiem jajnika; w całej grupie odnotowano 1 CR trwający 11 mies. i 1 PR trwający 5 mies.; obie odpowiedzi wystąpiły u chorych platynowrażliwych; jeden długotrwały (21 mies.) PR wystąpił także u chorej platynoopornej
Fields i wsp., 1997 [50]	valsopodar	paklitaksel	faza II; wśród 49 chorych z opornym na paklitaksel, nawrotowym rakiem jajnika odnotowano 4 proc. CR i 4 proc. PR.
Fracasso i wsp. 2001 [17]	valsopodar	paklitaksel	faza II
Baekelandt i wsp., 2001 [9]	valsopodar	doksorubicyna i cisplatyna	faza I/II; badano 59 chorych z rakiem jajnika opornym na pochodne platyny i antracykliny; wśród 33 chorych leczonych maksymalnymi dawkami leków zaobserwowano 3 proc. CR, 12 proc. PR i 21 proc. SD
Thomas i wsp. 2001 [21]	XR9576 tarikwidar	paklitaksel	faza I/II; bez wpływu na farmakokinetykę paklitakselu
Joly i wsp. 2002 [27]	valsopodar	paklitaksel i karboplatyna	faza III; 762 chore – bez różnic

w osoczu bez powodowania działań toksycznych, co w większości przypadków okazuje się niemożliwe. Jeśli chodzi o próby blokowania funkcji glikoproteiny P, najprawdopodobniej wiąże się to z tym, że białko to odgrywa równocześnie bardzo ważną rolę w ochronie normalnych tkanek nie tylko przed cytotoksycznym działaniem leków przeciwnowotworowych, ale i innych substancji szkodliwych. Metabolizm podawanego łącznie z badanym modulatorem cytostatyku nie powinien ulegać zmianie, a dodatkowym

utrudnieniem jest zwykle krótki okres połowicznego półtrwania modulatora i jego szybki klirens.

Pomimo wielu obiecujących badań nad skutecznością modulatorów MDR w leczeniu nowotworów, uzyskane w badaniach na liniach komórkowych dane wciąż nie pozwalają na ostateczną ocenę ich przyszłego zastosowania klinicznego i włączenie ich do badań na ludziach na szerszą skalę. W przypadku leczenia nowotworów układu krwiotwórczego, a zwłaszcza ostrych

białaczek, wyniki podobnych prób są bardziej zachęcające niż w odniesieniu do guzów litych. Wciąż brak jest jednoznacznie pozytywnych randomizowanych badań, potwierdzających użyteczność zastosowania powyższych modulatorów.

**Modulatory MDR stosowane w badaniach u chorych na raka jajnika.** Dodatkową trudność stanowią nieliczne grupy chorych, biorących udział w badaniach nad odwracaniem oporności, które prowadzone są głównie na heterogennych gru-

pach pacjentów z różnymi rodzajami nowotworów, gdzie analiza chorych na raka jajnika jest trudnym zadaniem, z uwagi na małą liczbę pacjentek. Jak dotychczas nie przeprowadzono zbyt wielu badań nad modulowaniem oporności wielolekowej u chorych na raka jajnika (tab. 3.). Chlubnym wyjątkiem jest badanie III fazy Joly i wsp. [27], w którym zgromadzono 762 chore z rakiem jajnika w stopniu IV, lub III po nieradykalnym zabiegu operacyjnym lub z pierwotnym zajęciem otrzewnej. W tym badaniu porównano skuteczność leczenia schematem paklitaksel z karboplatiną w połączeniu lub bez PSC 833. Niestety, nie odnotowano różnic w ogólnym odsetku odpowiedzi, w czasie do progresji ani w przeżyciu całkowitym.

### Modulatory MRP

W związku z istnieniem strukturalnego podobieństwa pomiędzy białkami transportowymi, kodowanymi przez geny oporności wielolekowej MDR1 i MRP1, substancje odwracające oporność zależną od MDR są skuteczne także w przypadku oporności zależnej od MRP, choć nie zawsze w jednakowym stopniu. Przebadane pod tym właśnie kątem takie substancje, jak cyklosporyna A, PSC 833 wykazują podobną skuteczność w obu przypadkach, a inne modulatory działają bardziej specyficznie w stosunku do oporności zależnej od konkretnego genu. Antagonista receptora leukotrienu LTC<sub>4</sub> – MK571 może przełamywać oporność jedynie komórek z nadekspresją MRP. Jest to zapewne spowodowane tym, że głównym fizjologicznym substratem dla MRP1 jest właśnie leukotrien LTC<sub>4</sub>, będący mediatorem procesów zapalnych i reakcji alergicznych [28].

**Modulatory innych genów oporności wielolekowej.** Dostępne są jedynie pojedyncze wyniki badań nad przełamywaniem oporności

wśród chorych na raka jajnika kodowanej przez inne geny niż MDR i MRP1.

Ponieważ BCRP transportuje leki z grupy kamptotecyny stosowane w leczeniu nowotworów złośliwych jajnika, podjęto próbę zahamowania tego białka w celu zwiększenia koncentracji cytostatyków w komórce nowotworowej raka jajnika. Badaniom na liniach komórkowych opornych na kamptotecynę poddano substancję GF120918, będącą inhibitorem BCRP [29–31]. Okazało się, że GF120918 w nietoksycznych dla komórek stężeniach całkowicie hamuje transport topotekanu i innych pochodnych kamptotecyny w komórkach linii komórkowych raka jajnika wykazujących nadekspresję BCRP i tym samym zmniejsza oporność tych komórek na wymienione cytostatyki. Równocześnie stwierdzono, że na uwagę zasługują nowe pochodne kamptotecyny odporne na BCRP, takie jak DX8951f i BNP1350 [29]. Znany jest także inny inhibitor BCRP – fumitremorgin C (FTC), jednak nie był on stosowany w raku jajnika [32, 33].

**Przeciwciała monoklonalne.** Badane są także inne sposoby przełamywania oporności kodowanej przez geny oporności wielolekowej. Trwają prace wykorzystujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko zewnętrznemu epitopowi glikoproteiny P. Przeciwciało jest elementem rozpoznającym, a substancją niszczącą może być, np. egzotoksyna *Pseudomonas aeruginosa*. Takie podejście pozwoliłoby na wybiórcze niszczenie opornych komórek nowotworowych. Niestety, publikowane prace nie dotyczą raka jajnika, tylko innych nowotworów (np. raka nerki, prostaty) [34].

**Blokowanie nadekspresji transferazy glutationu.** S-transferaza glutationu  $\pi$  (GST $\pi$ ) odgrywa ważną rolę w procesach detoksyfikacji chroniących komórki przed

uszkodzeniem DNA, w tym także komórki nowotworowe przed toksycznością leków przeciwnowotworowych. Wysokie stężenie GST $\pi$  jest złym czynnikiem prognostycznym w raku jajnika [35, 36] oraz innych nowotworach (raku jelita grubego, niedrobnokomórkowym raku płuca, raku żołądka, przewlekłej białaczce limfatycznej i glejakach). Wykazano liniową zależność pomiędzy stężeniem glutationu a opornością na cisplatinę zarówno na liniach komórkowych raka jajnika, jak i w badaniach na biopłatach guzów od chorych na raka jajnika [37]. Trwają badania II oraz III fazy nad stosowaniem w raku jajnika, niedrobnokomórkowym raku płuca, raku piersi i jelita grubego substancji hamującej S-transferazę glutationu  $\pi$  (TLK286). TLK286 (Telcyta) jest zmodyfikowanym analogiem glutationu, powodującym śmierć komórek z nadekspresją transferazy glutationu na drodze apoptozy. Leczenie preparatem TLK286 (monoterapia lub leczenie skojarzone, wlewy dożylnie co tydzień lub co 3 tyg.) jest zwykle dobrze tolerowane, pomimo stosowania go wśród chorych z zaawansowaną chorobą nowotworową, po wcześniejszym intensywnym leczeniu cytostatycznym oraz niekiedy także po napromienianiu. Do objawów niepożądanych leku, ograniczających stosowaną dożylnie dawkę należy głównie zapalenie pęcherza moczowego i krwiomocz oraz zapalenie trzustki. Natomiast do częstych, ale niezagrażających życiu objawów ubocznych należą nudności i wymioty, osłabienie oraz niedokrwistość [38, 39]. Dotychczas leczone grupy chorych z rakiem jajnika są jednak nieliczne i nie można jeszcze wyciągać wiążących wniosków z tej metody terapii. Natomiast toczące się badania II fazy, do których wciąż trwa rekrutacja chorych, mają na celu nie tylko wybranie najbezpieczniejszego schematu dawkowania, ale i ocenę skuteczności

oraz działań niepożądanych związanych z leczeniem skojarzonym TLK286 z karboplatiną czy TLK286 z liposomalną dokсорubicyną. W otwartym badaniu III fazy (ASSIST-1) porównana zostanie skuteczność TLK286 z liposomalną dokсорubicyną i topotecanem. Wszystkie wymienione badania prowadzone mają być na chorych z nawrotowym, opornym na cisplatinę rakiem jajnika.

**Onkogeny.** Z istnieniem czy też powstawaniem oporności wielolekowej związane są także onkogeny, np. onkogen HER-2/neu, który koduje receptor dla glikoproteiny błonowej o ciężarze 185-kD o aktywności kinazy tyrozynowej. Wykazano jego nadekspresję u ok. 20–30 proc. chorych na raka jajnika i związek z bardziej zaawansowaną chorobą o krótszym czasie przeżycia [40]. Badania wykazały, że nadekspresja tego onkogenu prowadzi do powstania oporności na cisplatinę, dokсорubicynę, etopozyd, karmustynę, melfalan i mitomycynę. Udowodniono, że zastosowanie trastuzumabu, czyli rekombinowanego przeciwciała monoklonalnego zwiększa wrażliwość na cisplatinę wykazujących nadekspresję HER-2/neu opornych komórek raka jajnika. Jednak doniesienia z badań na liniach komórkowych nie zostały potwierdzone w badaniach klinicznych i trastuzumab nie ma zastosowania w leczeniu raka jajnika.

**Cytokiny.** W próbach przełamania oporności wielolekowej niezależnej od glikoproteiny P stosowano także czynnik martwicy nowotworów (TNF – ang. *tumour necrosis factor*). Cimoli i wsp. przeprowadzili badanie na liniach komórkowych raka jajnika, gdzie po zastosowaniu ludzkiego rekombinowanego TNF uzyskali prawie całkowity powrót wrażliwości komórek nowotworowych na cytostatyki, będące inhibitorami topoizomeryazy II (dokсорubicyna, mitoksantron i etopozyd) [41].

**Oligonukleotydy typu antysens.** Wydaje się, że oligonukleotydy typu antysens mogłyby stanowić dobre narzędzie terapii genowej do modulowania komórkowej oporności wielolekowej [42]. W badaniach na liniach komórkowych raka jajnika opornych na taksol, z powodzeniem stosowano oligonukleotydy typu antysens w stosunku do mRNA izoform kinazy proteinowej C  $\alpha$  i  $\beta$  [43]. Ekspresja tej kinazy wiąże się z opornością wielolekową, warunkowaną przez glikoproteinę P i transferazę glutationu.

**Modulatory cyklu komórkowego.** Kolejnym ciekawym, ale dopiero co odkrywanym sposobem przełamania oporności, niezwiązanym bezpośrednio z genami oporności wielolekowej jest próba ingerencji w cykl komórkowy komórek nowotworowych. W badaniu substancji Ro44-5912, będącej blokerem kanału wapniowego, na liniach komórkowych raka jajnika opornych na dokсорubicynę stwierdzono znaczący wzrost cytotoxyczności dokсорubicyny, przejawiający się zwiększonym odsetkiem powodowanych pęknięć zarówno pojedynczej, jak i podwójnej nici DNA, wynikający z przedłużenia fazy S w trakcie działania cytostatyku. Te same linie komórkowe raka jajnika poddane działaniu samej dokсорubicyny ulegały zahamowaniu w fazie G2/M [18]. Poprzez modyfikacje szlaków kontrolnych cyklu komórkowego działa też 7-hydroksystaurosporyna (UCN-01), która początkowo została opracowana jako inhibitor kinazy C, a następnie okazało się, że hamuje także kinazy aktywowane przez cykliny (Cdk) – kluczowe enzymy, od których zależą procesy inicjacji, postępu i zakończenia cyklu komórkowego. W badaniach na liniach komórkowych UCN-01 znosi zahamowanie fazy S, występujące po podaniu gemcytabiny i kamptotecyny, wzmagając toksyczność tych związków [44, 45]. Jednak jak na razie nie są to ba-

dania na liniach komórkowych raka jajnika.

**Nowe formy leków cytostatycznych.** Ciekawym i wprowadzanym już do kliniki sposobem na modulowanie oporności komórek raka jajnika jest stosowanie liposomalnej formy chemioterapeutyków, jak np. dokсорubicyny [46]. Przypuszcza się, że liposomalna forma leku chroni go przed wykryciem i fagocytozą przez system siateczkowo-śródbłonkowy, co powoduje dłuższe krążenie formy aktywnej leku w ustroju [47]. Gromadzenie leków cytotoxycznych w liposomach potęguje skuteczność leku poprzez zmiany biodystrybucji i profilu farmakokinetycznego. Wykazano, że komórki guza mogą wybiórczo wychwytywać liposomy. Polietylenoglikol opłaszczający liposomy (pegylacja) jest dalszym udoskonaleniem, poprawiającym integralność liposomów i hamującym wychwyt przez układ siateczkowo-śródbłonkowy. Dzięki zastosowaniu liposomalnego przenośnika dokсорubicyna osiąga wyższe stężenia w komórkach nowotworowych, co z kolei pozwala na zwiększenie jej skuteczności przeciwnowotworowej przy jednocześnie mniejszej toksyczności ogólnej. Liposomalna dokсорubicyna jest z powodzeniem stosowana w badaniach III fazy nad leczeniem nawrotowego i opornego raka jajnika. Stosowana jest zarówno w monoterapii, jak i w schematach wielolekowych, np. z winorelbiną [48]. W badaniach II fazy jest także liposomalny inhibitor topoizomeryazy I – lurtotekan (NX211) [49].

## ZAKOŃCZENIE

Na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań można wnioskować, że oporność jest powodowana przez złożone interakcje wielu czynników i zastosowanie pojedynczego modulatora prawdopodobnie nigdy nie doprowadzi do jej całkowitego odwrócenia. Być może po dokładniejszym

poznaniu mechanizmów oporności wielolekowej konieczne będzie stosowanie połączeń leków, mających różne miejsca uchwytu i sposoby działania. Dodatkowym warunkiem powodzenia omawianych terapii jest na pewno odpowiedni dobór chorych i znalezienie czynników predykcyjnych odpowiedzi na konkretne schematy leczenia.

## PIŚMIENNICTWO

- Bar JK, Harlozińska A, Sobańska E, Cisko M. *Relation between ovarian carcinoma-associated antigens in tumor tissue and detached cyst fluid cells of patients with ovarian neoplasms*. *Tumori* 1994; 80 (1): 50-5.
- Miedzińska-Maciejewska M, Wcisło G. *Mechanizmy oporności wielolekowej w raku jajnika*. *Przegl Lek* 2002; 59, 10: 854-8.
- Bates SE, Wilson WH, Fojo AT, et al. *Clinical reversal of multidrug resistance*. *Stem Cells* 1996; 14: 56-63.
- Unger C. *Current concepts of treatment in medical oncology: new anti-cancer drugs*. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122: 189-98.
- Tsuruo T, Iida H, Tsukagoshi S, Sakurai J. *Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil*. *Cancer Res* 1982; 41: 1967-72.
- Coley HM. *Drug resistance studies using fresh human ovarian carcinoma and soft tissue sarcoma samples*. *Keio J Med* 1997; 46 (3): 142-7.
- Thomas H, Coley HM. *Overcoming multidrug resistance in cancer: an update on the clinical strategy of inhibiting p-glycoprotein*. *Cancer Control* 2003; 10, 2: 159-65.
- Moran E, Cleary I, Larkin AM, et al. *Co-expression of MDR-associated markers, including P-170, MRP and LRP and cytoskeletal proteins, in three resistant variants of the human ovarian carcinoma cell line, OAW42*. *Eur J Cancer* 1997; 33, 4: 652-60.
- Baekelandt M, Lehne G, Tropé CG, et al. *Phase I/II trial of the multidrug-resistance modulator valspodar combined with cisplatin and doxorubicin in refractory ovarian cancer*. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2983-93.
- Chambers SK, Davis CA, Schwartz PE, et al. *Modulation of platinum sensitivity and resistance by cyclosporin A in refractory ovarian and fallopian tube cancer patients: a phase II study*. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 1693-7.
- Lum BL, Fisher GA, Brophy NA, et al. *Clinical trials of modulation of multidrug resistance*. *Cancer* 1993; 72: 3502-14.
- Chambers SK, Davis CA, Chambers JT, et al. *Phase I trial of intravenous carboplatin and cyclosporin A in refractory gynecologic cancer patients*. *Clin Cancer Res* 1996; 2 (10): 1699-704.
- Fridborg H, Jonsson B, Nygren P, et al. *Activity of cyclosporins as resistance modifiers in primary cultures of human haematological and solid tumours*. *Br J Cancer* 1994; 70: 11-17.
- Isonishi S, Kirmani S, Kim S, et al. *Phase I and pharmacokinetic trial of intraperitoneal etoposide in combination with the multidrug-resistance-modulating agent dipyridamole*. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 621-6.
- Philip PA, Joel S, Monkman SC, et al. *A phase I study on the reversal of multidrug resistance (MDR) in vivo: nifedipine plus etoposide*. *Br J Cancer* 1992; 65: 267-70.
- Aziz SM, Worthenn DR, Yatin M, et al. *A Unique interaction between polyamine and multidrug resistance (P-glycoprotein) transporters in cultured Chinese hamster ovary cells transfected with mouse mdr-1 gene*. *Biochem Pharmacol* 1998; 56, 2: 181-7.
- Fracasso PM, Brady MF, Moore DH, et al. *Phase II study of paclitaxel and valspodar (PSC 833) in refractory ovarian carcinoma: a gynecologic oncology group study*. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2975-82.
- Yin MB, Guo B, Voigt W, et al. *Novel cellular determinants for reversal of multidrug resistance in cells expressing P170-glycoprotein*. *Biochem Biophys Acta* 1998; 1401 (3): 265-76.
- Miller RL, Bukowski RM, Budd GT, et al. *Clinical modulation of doxorubicin resistance by the calmodulin inhibitor trifluoperazine: a phase I/II trial*. *J Clin Oncol* 1988; 5: 880-8.
- Ozols RF, O'Dwyer PJ, Hamilton TC. *Clinical reversal of drug resistance in ovarian cancer*. *Gynecol Oncol* 1993; 51: 90-6.
- Thomas H, Steiner JA, Mould GP, et al. *A phase IIa pharmacokinetic study of the P-glycoprotein inhibitor, XR9576, in combination with paclitaxel in patients with ovarian cancer*. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol* 2001; 20: 288. Abst.
- Tagashira M, Nozato N, Isonishi S, et al. *5-Hydroxy-4-oxo-L-norvaline depletes intracellular glutathione: a new modulator of drug resistance*. *Biosci Biotechnol Biochem* 1999; 63 (11): 1953-8.
- Duraj J, Sedlak J, Bies J, et al. *PSC 833 modulation of multidrug resistance to paclitaxel in cultured human ovarian carcinoma cells leads to apoptosis*. *Anticancer Res* 2002; 22 (6A): 3425-8.
- Hatch KD, Beecham JB, Blessing JA, Creasman WT. *Responsiveness of patients with advanced ovarian carcinoma to tamoxifen. A Gynecologic Oncology Group study of second-line therapy in 105 patients*. *Cancer* 1991; 68: 269-71.
- Markman M, Iseminger KA, Hatch KD, et al. *Tamoxifen in platinum-refractory ovarian cancer: A Gynecologic Oncology Group ancillary report*. *Gynecol Oncol* 1996; 62: 4-6.
- Ahlgren JD, Ellison NM, Gottlieb RJ, et al. *Hormonal palliation of chemoresistant ovarian cancer: three consecutive phase II trials of the Mid-Atlantic Oncology Program*. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1957-68.
- Joly F, Joly F, Mangioni C, et al. *A phase 3 study of PSC 833 in combination with paclitaxel and carboplatin versus paclitaxel and carboplatin alone in patients with stage IV or suboptimally debulked stage III epithelial ovarian cancer or primary cancer of the peritoneum*. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21: A806.
- Leier I, Jedlitschky G, Buchholz U, et al. *The MPR gene encodes an ATP-dependent export pump for leukotriene C4 and structurally related conjugates*. *J Biol Chem* 1994; 45: 27807-10.
- Maliepaard M, van Gastelen MA, Tohgo A, et al. *Circumvention of breast cancer resistance protein (BCRP) - mediated resistance to camptothecins in vitro using non-substrate drugs or the BCRP inhibitor GF120918*. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 935-41.
- Hyafil F, Vergely C, Du Vignaud P, Grand-Perret T. *In vitro and in vivo reversal of multidrug resistance by GF120918, an acridonecarboxamide derivative*. *Cancer Res* 1993; 53: 4595-602.



31. de Bruin M, Miyake K, Litman K, et al. *Reversal of resistance by GF120918 in cell lines expressing the half-transporter, MXR*. *Cancer Lett* 1999; 146: 117-26.
32. Rabindran SK, He H, Singh M, Brown E, Collins KI, Annable T, Greenberger LM. *Reversal of a novel multidrug resistance mechanism in human colon carcinoma cells by fumitremorgin C*. *Cancer Res* 1998; 58: 5850-8.
33. Rabindran SK, Ross DD, Doyle LA, et al. *Fumitremorgin C reverses multidrug resistance in cells transfected with the breast cancer resistance protein*. *Cancer Res* 2000; 60: 47-50.
34. Mickisch GH, Pai LH, Siegsmund M, et al. *Pseudomonas exotoxin conjugated to monoclonal antibody MRK16 specifically kills multidrug resistant cells in cultured renal carcinomas and in MDR-transgenic mice*. *J Urol* 1993; 149: 174-8.
35. Green JA, Robertson LJ, Clark AH. *Glutathione S-transferase expression in benign and malignant ovarian tumours*. *Br J Cancer* 1993; 68: 235-9.
36. Kase H, Kodama S, Nagai E, Tanaka K. *Glutathione S-transferase  $\pi$  immunostaining of cisplatin-resistant ovarian cancer cells in ascites*. *Acta Cytol* 1998; 42: 1397-402.
37. Perez RP. *Cellular and molecular determinants of cisplatin resistance*. *Cancer* 1998; 34: 1535.
38. Rosen LS, Brown J, Laxa B, et al. *Phase I study of TLK286 (glutathione S-transferase P1-1 activated glutathione analogue) in advanced refractory solid malignancies*. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1628-38.
39. Rosen LS, Laxa B, Boulos L, et al. *Phase I study of TLK286 (Telcyta) administered weekly in advanced malignancies*. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3689-98.
40. Robertson MW, Barnes MN, Rancourt C, et al. *Gene therapy for ovarian carcinoma*. *Semin Oncol* 1998; 25: 397-406.
41. Cimoli G, Valenti M, Parodi S, et al. *Reversal of „atypical“-multidrug resistance by recombinant human tumor necrosis factor in the human ovarian cancer cell line A2780-DX3*. *Oncol Res* 1993; 5, 8: 311-23.
42. Liu C, Qureshi IA, Ding X, et al. *Modulation of multidrug resistance gene (mdr-1) with antisense oligodeoxynucleotides*. *Clin Sci (Colch)* 1996; 91 (1): 93-8.
43. Masanek U, Stammer G, Volm M. *Modulation of multidrug resistance in human ovarian cancer cell lines by inhibition of P-glycoprotein 170 and PKC isoenzymes with antisense oligonucleotides*. *J Exp Ther Oncol* 2002; 2 (1): 37-41.
44. Shi Z, Azuma A, Sampath D, et al. *S-Phase arrest by nucleoside analogues and abrogation of survival without cell cycle progression by 7-hydroxystaurosporine*. *Cancer Res* 2001; 61: 1065-72.
45. Sugiyama K, Shimizu M, Akiyama T, et al. *UCN-01 selectively enhances mitomycin C cytotoxicity in p53 defective cells which is mediated through S and/or G (2) checkpoint abrogation*. *Int J Cancer* 2000; 85: 703-9.
46. Thierry AR, Rahman A, Dritschilo A. *A new procedure for the preparation of liposomal doxorubicin: biological activity in multidrug-resistant tumor cells*. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994; 35: 84-8.
47. Gabizon A, Martin F. *Polyethylene glycol-coated (pegylated) liposomal doxorubicin. Rationale for use in solid tumours*. *Drugs* 1997; 54 (Suppl 4): 15-21.
48. Tambaro R, Gregg S, Iaffaioli RV, et al. *An escalating dose finding study of liposomal doxorubicin and vinorelbine for the treatment of refractory or resistant epithelial ovarian cancer*. *Ann Oncol* 2003; 14: 1406-11.
49. Calvert AH, Grimshaw R, Poole Ch, et al. *Randomized phase II trial of two intravenous schedules of the liposomal topoisomerase I inhibitor, NX211, in women with relapsed epithelial ovarian cancer: an NCIC CTG study*. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21: A830.
50. Fields A, Hochster H, Runowicz C, et al. *SDZ PSC 833/paclitaxel in paclitaxel refractory ovarian carcinoma: a phase II trial with renewed responses*. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1997; 16: 351a (Abstr 1254).

#### ADRES DO KORESPONDENCJI

lek. **Magdalena Miedzińska-Maclejewska**  
 Klinika Onkologii  
 Wojskowy Instytut Medyczny  
 ul. Szaserów 128  
 00-909 Warszawa  
 tel. +48 22 681 71 10  
 faks +48 22 681 84 37  
 e-mail: magdam@kkcmkp.pl