

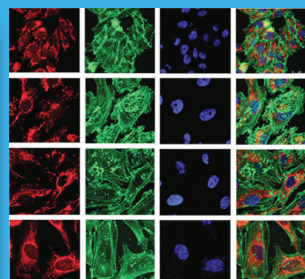
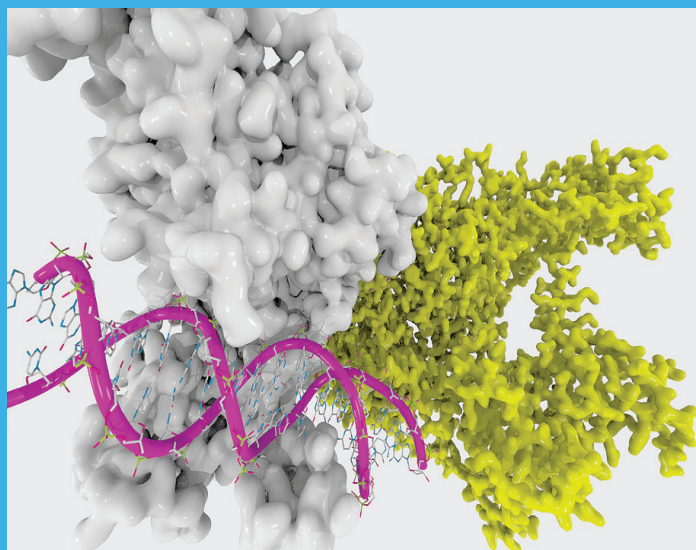
Choroby nowotworowe

zainteresowania naukowe młodych badaczy

Tumor diseases

young scientists' scientific interests

1



Redakcja

Kamil Maciąg

Kinga Kropiwek

Mirosław Szala

Politechnika Lubelska

Lublin 2014

Choroby nowotworowe

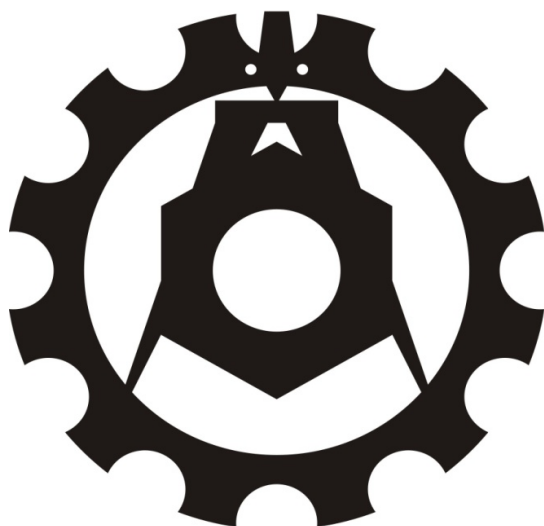
zainteresowania naukowe młodych badaczy

Tumor diseases

young scientists' scientific interests

Politechnika Lubelska

Wydział Mechaniczny



Choroby nowotworowe

zainteresowania naukowe młodych badaczy

Tumor diseases

young scientists' scientific interests

1

redakcja

Kamil Maciąg

Kinga Kropiwiec

Mirosław Szala



Politechnika Lubelska
Lublin 2014

Recenzenci:

prof. dr hab. n. med. Janusz Kocki

dr hab. Agnieszka Szuster-Ciesielska, prof. nadzw. UMCS

dr hab. n. med. Piotr Kopiński

dr hab. n. med. Witold Krupski

dr hab. Roman Paduch

dr hab. Agnieszka Szuster-Ciesielska, prof. nadzw. UMCS

dr hab. n. med. Jacek Tabarkiewicz

dr hab. Barbara Zdzińska

Wszystkie opublikowane artykuły zostały pozytywnie zrecenzowane

Wydano za zgodą Rektora Politechniki Lubelskiej

© Copyright by Politechnika Lubelska 2014

ISBN 978-83-7947-047-1

Wydawca: Politechnika Lubelska

ul. Nadbystrzycka 38D, 20-618 Lublin

Realizacja: Biblioteka Politechniki Lubelskiej

Ośrodek ds. Wydawnictw i Biblioteki Cyfrowej

ul. Nadbystrzycka 36A, 20-618 Lublin

tel. (81) 538-46-59, email: wydawca@pollub.pl

www.biblioteka.pollub.pl

Druk: TOP Agencja Reklamowa Agnieszka Łuczak

www.agencjatorp.pl

Elektroniczna wersja książki dostępna w Bibliotece Cyfrowej PL www.bc.pollub.pl

Nakład: 50 egz.

SPIS TREŚCI

CZYNNIKI RYZYKA ROZWOJU RAKA WĄTROBOWOKOMÓRKOWEGO..... 7

*ARTUR ANISIEWICZ, KAROLINA OKŁA, JUSTYNA SEMENIUK, OLGA ŚLABCZYŃSKA,
ANNA WAWRUSZAK*

HIPOKSJA I EFEKT WARBURGA W KOMÓRKACH RAKA – PRZYCZYNY I SKUTKI.. 19

NATALIA FRĄCZEK, IWONA BRONISZ, JAROSŁAW DUDKA

BAKTERIE I WIRUSY W TERAPII NOWOTWORÓW 29

MAGDALENA BARTOSIAK, KAMILA BIGOS

KACHEKSJA NOWOTWOROWA – PRZYCZYNY, MECHANIZMY, ROLA CYTOKIN 41

*PAWEŁ BINKO, KATARZYNA KUMIĘGA, MONIKA PILECKA, KAROLINA GASIŃSKA,
MICHAŁ DZIK, MARYLA KUCZYŃSKA*

NIEALKOHOLOWA STŁUSZCZENIOWA CHOROBA WĄTROBY – CHARAKTERYSTYKA I STRATEGIE TERAPEUTYCZNE 49

*KAROLINA OKŁA, ARTUR ANISIEWICZ, OLGA ŚLABCZYŃSKA, JUSTYNA SEMENIUK,
ANNA WAWRUSZAK, SYLWIA KATARZYNA KRÓL*

NIEOPERACYJNY ŚLUZAK LEWEGO PRZEDSIONKA – OPIS PRZYPADKU 71

*KAROLINA GASIŃSKA, TOMASZ MICHAŁSKI, PAULINA PAWLIK, JERZY BEDNARSKI,
ANNA SZAJERSKA, PAWEŁ BINKO, LIDIA KOTUŁA*

RAK JELITA GRUBEGO – ETIOLOGIA I LECZENIE 81

MACIEJ FRANT, ARKADIUSZ CZERWONKA, ALEKSANDRA ŻUREK, ROMAN PADUCH

RAK PŁUCA 91

ARKADIUSZ CZERWONKA¹, ALEKSANDRA ŻUREK², MACIEJ FRANT², WOJCIECH RZESKI

SKUTECZNA WALKA Z RAKIEM PŁUCA – HAMOWANIE AKTYWNOŚCI RECEPTORA DLA NASKÓRKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU TYPU I 103

TOMASZ WANDTKE, JOANNA WIELIKDZIEN, EWELINA WĘDROWSKA, ARKADIUSZ GOEDE

WPLYW TALIDOMIDU NA ŻYWOTNOŚĆ KOMÓREK LINII OSTRYCH BIAŁACZEK PROMIELOCYTOWYCH 115

*MARCIN CZOP, ANNA WIŚNIEWSKA, JOANNA PRZEMYSKI, RAFAŁ ŻUKOWSKI, MATEUSZ
GWIZDAŁA, KRZYSZTOF PACZWA, NATALIA TRĘTOWICZ, RUBY MAINI, KAROLINA
KNAP-CZOP, DARIUSZ JAWNIAK, JANUSZ KOCKI, ANNA BOGUCA-KOCKA*

Artur Anisiewicz¹, Karolina Okła², Justyna Semeniuk³, Olga Słabczyńska⁴,
Anna Wawruszak⁵

CZYNNIKI RYZYKA ROZWOJU RAKA WĄTROBOWOKOMÓRKOWEGO

1. Wprowadzenie

Rak wątrobowokomórkowy (HCC – *hepatocellular carcinoma*) jest jednym z najpowszechniej występujących nowotworów na świecie. Ośrodki zajmujące się monitorowaniem zachorowalności na choroby nowotworowe co roku odnotowują około 700 tysięcy nowych przypadków HCC. Rak wątrobowokomórkowy jest nowotworem złośliwym, który każdego roku powoduje blisko 600 tysięcy zgonów. Pomimo szybkiego rozwoju medycyny, obserwuje się tendencję zwyżkową zarówno w odniesieniu do zachorowalności jak i umieralności z powodu HCC [1].

Do najbardziej znaczących czynników ryzyka, predysponujących do rozwoju raka wątrobowokomórkowego zalicza się infekcje wywoływane przez wirusy hepatitis B (HBV) oraz hepatitis C (HCV). Ponadto, rozwojowi HCC sprzyja nadmierne spożywanie alkoholu, otyłość, cukrzyca, palenie tytoniu oraz spożywanie pokarmów zanieczyszczonych aflatoksynami i nitrozoaminami. Czynnikiem ryzyka stanowi też płeć męska i defekty metaboliczne, takie jak niedobór α 1-antytrypsyny i hemochromatoza żelaza i miedzi [1, 2, 3].

Ekspozycja na czynniki ryzyka powoduje rozwój stanu zapalnego różnego pochodzenia. Zaburzeniom ulegają wewnątrzkomórkowe szlaki transdukcji sygnału, co prowadzi do postępującej aktywacji komórek gwiaździstych. Rozregulowanie funkcji komórek występujących w wątrobie skutkuje rozwojem HCC. Poznanie szlaków ulegających zaburzeniom w patogenezie raka wątrobowokomórkowego daje nadzieje na opracowanie nowych i bardziej skutecznych strategii terapeutycznych [4].

W tej pracy omówione zostaną najważniejsze czynniki ryzyka HCC oraz ich wpływ na szlaki sygnałowe prowadzące do rozwoju stanu zapalnego, marskości wątroby, a w konsekwencji raka wątrobowokomórkowego.

¹ a.anisiewicz@gmail.com, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii

i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, www.umcs.pl

² lolik@o2.pl, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, www.umcs.pl

³ semeniukjustyna0804@gmail.com, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, www.umcs.pl

⁴ olgaslabczynska@gmail.com, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, www.umcs.pl

⁵ anna_wawruszak@interia.pl, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, www.am.lublin.pl

2. Rak wątrobowokomórkowy HCC

2.1. Obraz kliniczny

Wśród złośliwych, pierwotnych nowotworów wątroby wyróżnia się raka wątrobowokomórkowego (hepatocellular carcinoma), raka przewodów żółciowych (cholangiocarcinoma), raka płodowego (hepatoblastoma) oraz mięsaka naczyniowego (angiosarcoma). HCC stanowi 85-90% wszystkich pierwotnych nowotworów wątroby. Pomimo postępu medycyny i stopniowego wydłużania czasu przeżycia, co roku odnotowuje się zwiększenie liczby przypadków raka i liczby zgonów spowodowanych chorobą nowotworową wątroby. Największa liczba zachorowań dotyczy krajów rozwijających się i związana jest z wysoką ekspozycją na czynniki ryzyka [5, 6].

Przebieg HCC nie jest tak dramatyczny jak w innych chorobach nowotworowych. W początkowej fazie, objawy kliniczne podobne są do tych, obserwowanych w przebiegu marskości bez współwystępowania HCC. W fazie późnej dochodzi do znacznego pogorszenia funkcjonalności wątroby, żółtaczki i wodobrzusza. Niestety, objawy bólowe, brak łaknienia czy znaczna utrata masy ciała pojawiają się dopiero w zaawansowanej fazie choroby, co przekłada się na późną wykrywalność i w związku z tym, na wysoką śmiertelność. Guzy nowotworowe wątroby posiadają zdolność przerzutowania. HCC jest najczęściej przyczyną wtórnych nowotworów płuc, rzadziej daje przerzuty do nadnerczy, układu kostnego, trzustki, mózgu i nerek [7, 8].

Rozwój HCC jest względnie wolny. Guzki regeneracyjne, powstające w przebiegu marskości, ulegają przekształceniu w guzki dysplastyczne po wielu miesiącach. Zmiany wykrywalne w badaniach obrazowych są obserwowane po około roku od utworzenia guzków dysplastycznych. W przypadku wykrycia HCC w stadium objawowym, uniemożliwiającym jego resekcję, przeżycie wynosi zaledwie kilka miesięcy [7].

2.2. Czynniki ryzyka

Problem HCC dotyczy przede wszystkim krajów rozwijających się. Zróżnicowanie geograficzne raka wątrobowokomórkowego jest wysokie i uzależnione jest od występujących na danym terenie czynników ryzyka, takich jak infekcje HBV i HCV (czynniki infekcyjne), a także nadmierne spożycie alkoholu, palenie tytoniu, otyłość i cukrzyca prowadzące do NAFLD (niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby) oraz zanieczyszczenie pożywienia aflatoksynami i innymi substancjami o działaniu karcynogennym (czynniki nieinfekcyjne) [1, 2, 3, 7, 9].

Blisko 80% wszystkich przypadków HCC spowodowanych jest wirusowymi infekcjami, wywołwanymi zarażeniem HBV lub HCV. Według szacunkowych danych, wśród osób zarażonych wirusem, od 30 do 50% zgonów spowodowanych jest rozwojem raka wątrobowokomórkowego. W krajach Azji

i Afryki, gdzie współczynniki zachorowalności na HCC są najwyższe, głównym czynnikiem ryzyka są zakażenia HBV. W Europie, Stanach Zjednoczonych oraz Japonii wirus HBV jest stopniowo eliminowany, dzięki szeroko zakrojonym programom szczepień ochronnych, zaś rozwój HCC jest najczęściej spowodowany zakażeniem wirusem zapalenia wątroby typu C. Ze względu na integrację wirusowego DNA z materiałem genetycznym gospodarza, ryzyko wystąpienia raka wątrobowego jest blisko 100rotnie wyższe u osób zakażonych HBV. Wirus zintegrowany z genomem może bezpośrednio wpływać na maszynię metaboliczną i energetyczną komórki, stymulując wzrost, proliferację i ostatecznie – transformację nowotworową. W przypadku RNA wirusa HCV oddziaływania te odbywają się za pośrednictwem wirusowych białek: NS3, NS4B, NS5A oraz białek rdzenia [1, 6, 7, 8, 10].

W krajach Dalekiego Wschodu dodatkowym czynnikiem ryzyka jest spożywanie pokarmów zanieczyszczonych grzybowymi mikotoksynami. Aflatoksyny, produkowane przez *Aspergillus flavus*, występują przede wszystkim w orzeszkach ziemnych, migdałach i produktach zbożowych. W połączeniu z zakażeniem HBV, ryzyko rozwoju HCC znacznie wzrasta. W wyniku ekspozycji na aflatoksyny może dochodzić do rozwoju guzów w wątrobie morfologicznie zdrowej, co utrudnia diagnozowanie i wczesne wykrycie choroby [1, 5, 11].

Palenie tytoniu, nadmierne spożywanie alkoholu, otyłość i cukrzyca, prowadzące do NAFLD, są kolejnymi czynnikami predysponującymi do rozwoju HCC. W większości przypadków guzy nowotworowe rozwijają się w wątrobie marskiej. Czynniki te powodują rozwinięcie stanu zapalnego w obrębie wątroby i aktywację komórek gwiazdzistych. Włóknienie wątroby oraz zaburzenie funkcjonowania komórek wchodzących w jej skład, prowadzą do rozwoju raka [1, 9].

Naukowcy donoszą, że problem włóknienia wątroby i raka wątrobowo-komórkowego w większej mierze dotyczy mężczyzn niż kobiet. Występująca w tych schorzeniach nadprodukcja prozapalnej IL-6 jest w pewnym stopniu hamowana przez kobiece hormony – estrogeny [12, 13].

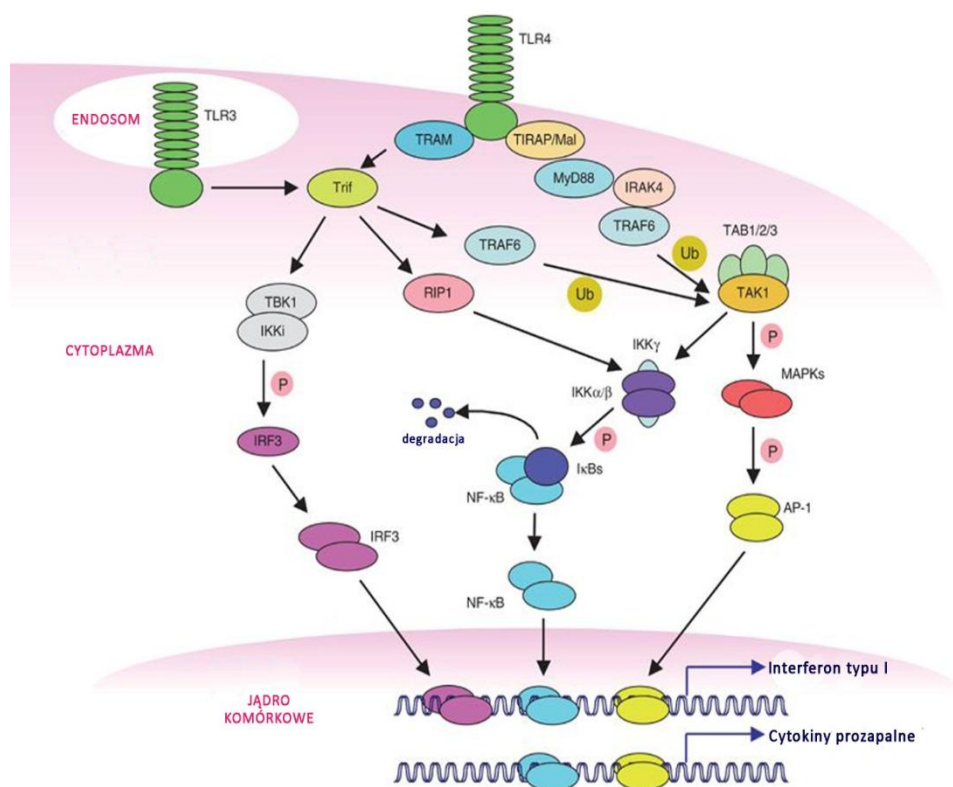
3. Czynniki infekcyjne

3.1. Rola receptorów TLR

Udowodniono, że przewlekły stan zapalny sprzyja procesom nowotworzenia, zaś badania kliniczne potwierdzają, że niesteroidowe leki przeciwzapalne zmniejszają częstość niektórych nowotworów. Istnieją liczne doniesienia naukowe świadczące o roli *Helicobacter pylori* w patogenezie raka żołądka. Przewlekła ekspozycja na czynniki drażniące, takie jak alkohol czy dym papierosowy, w wysokim stopniu zwiększa ryzyko chorób nowotworowych.

Wśród wirusów, właściwości onkogenne posiadają HBV, HCV, HPV, retowirusy i niektóre wirusy z rodziny Herpes [12, 14, 15]

Mikroorganizmy oddziałują na komórki docelowe za pośrednictwem błonowych receptorów TLR. Są one aktywowane poprzez PAMP, czyli wzorce molekularne związane z patogenami. Ich obecność stwierdzono również na powierzchni komórek transformowanych i obecnie wielu naukowców uważa, że ścieżka TLR jest potrzebna do aktywacji macierzystych/progenitorowych komórek nowotworowych [16, 17].



Rys. 1. Szlak MyD88-zależny. Aktywacja receptora TLR4 uruchamia kaskadę sygnałową prowadzącą do aktywacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego NFκB [modyfikacja wg 18]

Najlepiej poznany receptorem rodziny TLR jest TLR4. Po jego aktywacji dochodzi do transdukcji sygnału poprzez wewnątrzkomórkowe białko adaptorowe MyD88. Uruchomiony zostaje szlak MyD88-zależny (Rys. 1), prowadzący do aktywacji NFκB, jądrowego czynnika transkrypcyjnego.

Po aktywacji TLR, białko MyD88 ulega przyłączeniu do receptorowej domeny za pośrednictwem adaptorowego białka TIRAP. W kolejnym etapie do MyD88 przyłączają się białkowe kinazy zasocjowane z receptorem IL-1-IRAK 4 i IRAK 1. Po fosforylacji, ulegają one oddysocjowaniu i aktywują czynnik TRAF6. Białko to przeprowadza ubikwitynację kompleksu Nemo/IKK oraz aktywuje kinazę TAK1. Czynnik TAK1 fosforyluje następnie białko IKK- β wchodzące w skład kompleksu Nemo/IKK, który fosforyluje inhibitor czynnika transkrypcyjnego NF κ B. Po oddysocjowaniu od inhibitora, NF κ B ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie indukuje ekspresję genów cytokin prozapalnych. Ponadto, TAK1 przeprowadza fosforylację kinaz MKK3 i MKK6 (rodzina kinaz aktywowanych mitogenem – MAPKs). W kolejnym etapie dochodzi do fosforylacji kinazy JNK oraz białka p38. Aktywują one czynnik transkrypcyjny AP1, regulujący ekspresję genów czynników wzrostowych. Pobudzenie TLR4 może wyzwać także szlak MyD88-niezależny prowadząc do fosforylacji i aktywacji czynnika IRF3 [18, 19].

W obrębie wątroby receptory TLR występują na powierzchni komórek Kupffera (TLR2, 3, 4, 9), hepatocytów (TLR2, 3, 4, 5), komórek gwiaździstych (TLR4 i 9), na nabłonku dróg żółciowych oraz śródbłonku sinusoid (TLR 2, 3, 4, 5) [12, 19].

Wykazano, że zakażeniom HBV i HCV towarzyszy zwiększona ekspresja receptorów TLR2 i TLR4 na powierzchni hepatocytów, komórek Kupffera i obwodowych monocytów. Ponadto, białka NS3 i białka rdzenia wirusa HCV aktywują receptory TLR2/TLR6 na monocytach, co skutkuje nadprodukcją cytokin o profilu prozapalnym. W badaniach na transgenicznym myszom o fenotypie NS5A+ (białko HCV) 30% myszy zmarło wskutek podania LPS, co wskazuje, że wirusowe białka mają wpływ na aktywację receptorów TLR i zwiększają ich wrażliwość na zewnątrzkomórkowe ligandy [12, 19, 20].

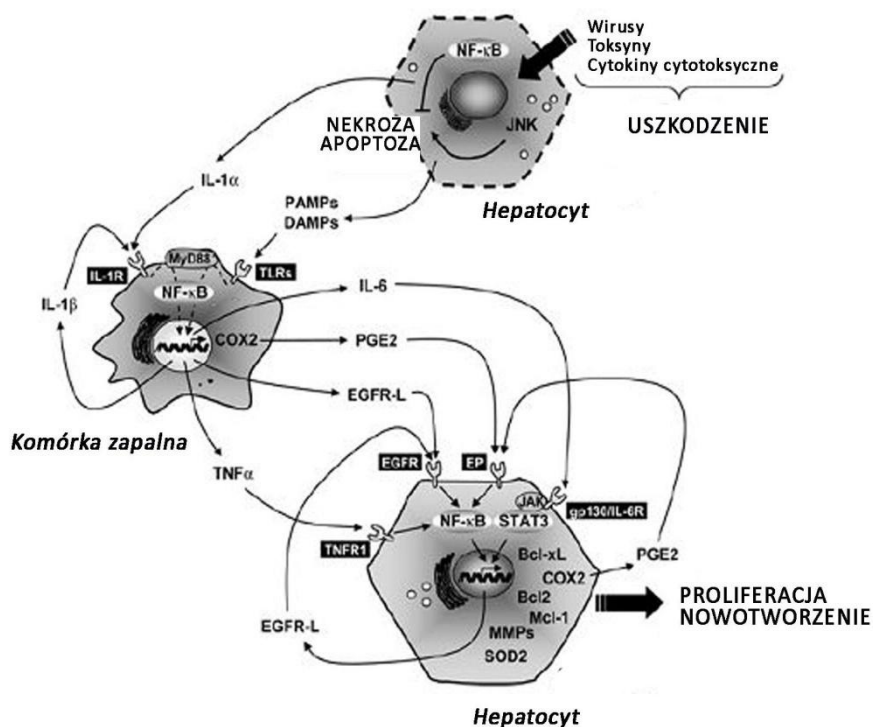
W alkoholowej chorobie wątroby obserwowana jest aktywacja receptorów TLR4. Przewlekłe spożywanie alkoholu prowadzi do rozwinięcia stanu hiperwrażliwości na LPS, co silnie stymuluje wątrobowe komórki do produkcji IL-6. Marskość i chroniczny stan zapalny będący wynikiem aktywacji receptorów TLR promują rozwój HCC [12, 19, 20].

Podczas badań nad macierzystymi komórkami nowotworowymi, naukowcy wykazali ważną rolę receptorów TLR4 w aktywacji tych komórek. Wydaje się, że kluczowym czynnikiem, który bierze udział w tym procesie jest białko Nanog. Aktywacja TLR4 rozpoczyna kaskadę sygnałową, w wyniku czego dochodzi do indukcji czynnika transkrypcyjnego E2F1, pobudzającego czynnik Nanog. Okazało się jednak, że sama aktywacja Nanog nie jest wystarczająca do aktywacji macierzystych/progenitorowych komórek nowotworowych. Badania na transgenicznym myszom wskazują, że do nadekspresji Nanog i rozwoju HCC wymagany jest jeszcze defekt szlaku TGF- β , który jest inhibitorem czynnika Nanog [19, 21].

4. Stan zapalny a HCC

W większości przypadków przewlekły stan zapalny wątroby prowadzi do jej włóknienia i marskości, uważanej za fazę preneoplastyczną. W konsekwencji przedłużającej się aktywności mechanizmów naprawczych podczas procesu włóknienia (regeneracja kompensacyjna), dochodzi do rozwoju HCC [5, 7].

W początkowym stadium (Rys. 2) stymulacja hepatocytów prowadzi do blokowania szlaku NF κ B, przy jednoczesnej stymulacji szlaku kinaz JNK (kinaza SAPK, aktywowana stresem). Skutkuje to promowaniem procesów apoptozy i nekrozy, w wyniku czego uwalniane są makromolekuły (np. IL-1), działające jako ligandy dla szlaku TLR-MyD88-NF κ B. Czynniki transkrypcyjny NF κ B stymuluje ekspresję cząsteczek o charakterze prozapalnym oraz czynników wzrostowych promujących transformację nowotworową [12, 22].



Rys. 2. Schemat łączący stan zapalny z rakiem wątrobowokomórkowym. Apoptoza i nekroza hepatocytów stymuluje inne komórki do produkcji pozapalnych cytokin. Aktywowane zostają geny stymulujące proliferację i nowotworzenie [modyfikacja wg 12]

W fazie późniejszej, na powierzchni błon hepatocytów, obserwowana jest nadekspresja receptorów dla IL-6. IL-6 aktywuje błonową kinazę JAK (kinaza janusowa), która fosforyluje łączące się w dimery białka STAT3. Aktywne dimery wędrują do jądra komórkowego, gdzie po przyłączeniu do odpowiednich sekwencji

DNA wywierają pozytywny wpływ na procesy nowotworzenia i proliferacji. Uwalniane czynniki wzrostu (EGF, TGF- α), TNF- α oraz prostaglandyny aktywują odpowiednie receptory na powierzchni hepatocytów i poprzez szlak NF κ B zwiększają proliferację tych komórek. Jednocześnie stymulowane są także geny kodujące antyapoptotyczne białka Bcl-2 i Bcl-xL [12, 23].

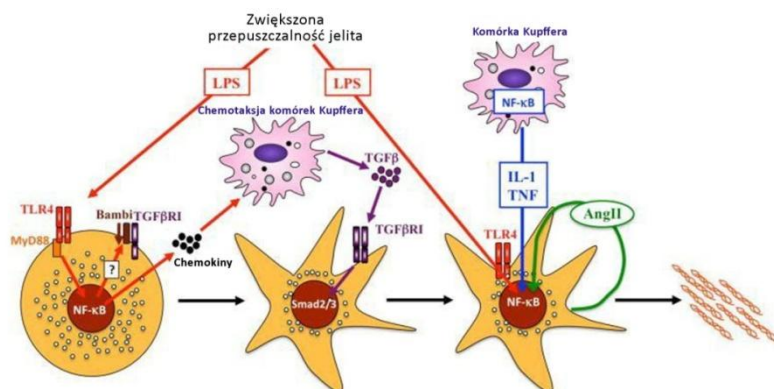
5. Czynniki nieinfekcyjne

5.1. Włóknienie wątroby

Za proces włóknienia wątroby odpowiedzialne są komórki gwiazdziste (HSC). Mniejszy udział w patogenezie marskości posiadają miofibroblasty, fibroblasty śródmiąższowe oraz komórki nabłonka dróg żółciowych. HSC w stanie nieaktywnym zlokalizowane są w przestrzeni Disseo a ich główną funkcją jest metabolizowanie i magazynowanie witaminy A [24, 26, 29].

Pod wpływem różnych bodźców, komórki gwiazdziste ulegają transformacji do komórek przypominających miofibroblasty. Aktywowane HSC tracą zapasy witaminy A. We wnętrzu komórek pojawia się α SMA (α aktyna mięśni gładkich), zwiększa się też ilość szorstkiego retikulum endoplazmatycznego. HSC zaczynają produkować duże ilości kolagenu I i III, co jest bezpośrednią przyczyną włóknienia miąższu wątroby. W aktywacji komórek gwiazdzistych wyróżnia się dwa etapy. W fazie pierwszej dochodzi do zmian w ekspresji genów. Obok nadprodukcji włókien kolagenowych obserwuje się również zwiększenie ilości białka HSP47 (białko wiążące kolagen), PDGF (płytkopochodny czynnik wzrostu), TGF- β (transformujący czynnik wzrostu), ICAM-1 (molekuła adhezyjna), MMP 2 i 9 (żelatynazy) oraz TIMP 1 (inhibitor kolagenazy) (Rys 3). W drugiej fazie indukowane są geny odpowiadające za proliferację HSC [24, 26, 27, 29].

Leptyna, wydzielana głównie przez adipocyty, jest białkiem aktywującym komórki gwiazdziste w niealkoholowym stłuszczeniowym zapaleniu wątroby (NASH). Stymulacja aktywnej formy receptora dla leptyny (ObRL) na powierzchni HSC skutkuje uruchomieniem szlaku kinaz JAK. Następnie, fosforylacja czynników STAT prowadzi do ich dimeryzacji. Aktywne dimery wędrują do jądra, gdzie wywierają wpływ na ekspresję odpowiednich genów. Poprzez regulację receptora dla PDGF, leptyna wpływa również na zwiększenie proliferacji komórek oraz ich nowotworzenie [24, 28, 29].



Rys. 3. Aktywacja komórek gwiaździstych. HSC wydzielają chemokiny oddziałujące na komórki Kupferra. Produkują one czynnik TGF- β , który wraz z innymi cytokinami stymuluje HSC do produkcji włókien kolagenowych [modyfikacja wg 27]

Nadmierne spożywanie alkoholu prowadzi do występowania stresu oksydacyjnego. Podczas rozkładu etanolu powstają ROS – reaktywne formy tlenu. Stymulują one komórki Kupferra do produkcji prozapalnych i profibrogennych cytokin. Według niektórych naukowców, powstający podczas metabolizowania etanolu aldehyd octowy, poprzez interakcję z czynnikiem BTEB, wywiera bezpośredni wpływ na ekspresję genów kolagenowych. Stymulacja przez ROS i inne czynniki wywołujące stres komórkowy skutkuje nadprodukcją cytokin, które poprzez kinazy aktywowane mitogenami (JNK, Erk, p38) regulują ekspresję genów i zwiększają proliferację HSC [24, 25, 29, 30].

Jedną z najbardziej aktywnych, profibrogennych cytokin jest TGF- β . Czynnik ten współpracuje z wewnątrzkomórkowym białkiem Smad. Aktywacja receptora dla TGF- β skutkuje fosforylacją białek Smad2 i Smad3. Ulegają one następnie asocjacji a utworzony kompleks Smad4 przemieszcza się do jądra, gdzie reguluje ekspresję genów kolagenowych [24, 25, 29, 30].

Płytkopochodny czynnik wzrostu PDGF wywiera silny wpływ na proliferację aktywowanych HSC. Po przyłączeniu do receptora, przy współpracy białka Ras (białko G), aktywowany zostaje szlak kinaz FAK, PI3-K, Akt, mTOR. Kończącym czynnikiem kaskady sygnału jest kinaza p70^{S6} – aktywuje ona geny stymulujące proliferację komórek gwiaździstych [24, 29, 30].

Możliwe jest zahamowania, a nawet częściowe odwrócenie skutków tego procesu. Wyeliminowanie czynników wywołujących aktywację komórek gwiaździstych, odpowiednia terapia prowadząca do uruchomienia metaloproteinaz macierzy (kolagenaz) oraz szlaków prowadzących do apoptozy aktywowanych HSC pozwalają na zahamowanie włóknienia, co wskazuje na ważną rolę wczesnego diagnozowania w profilaktyce HCC [24, 31].

5.2. Marskość wątroby

Marskość jest końcowym stadium procesu włóknienia wątroby. W obrazie morfologicznym narządu widoczne są liczne guzki regeneracyjne, które z czasem ulegają przekształceniu w guzki dysplastyczne. Wśród najczęstszych objawów towarzyszących marskości wymienia się wodobrzusze, żółtaczkę oraz żylaki przełyku. Proces włóknienia wątroby rozwija się najczęściej w wyniku zakażeń wirusami HBV i HCV oraz w wyniku nadmiernego spożycia alkoholu. Wśród innych czynników mogących doprowadzić do marskości wątroby wymienia się zaburzenia autoimmunologiczne, zatrucia lekami, infekcje pasożytnicze, nadmiar jonów żelaza i miedzi, niedrożność dróg żółciowych oraz NAFLD [2, 7, 24, 25].

W wyniku procesu włóknienia dochodzi do zwiększonego odkładania się białek macierzy zewnątrzkomórkowej, tzw. matrix. Zaburza to naturalną architekturę narządu, w wyniku czego komórki wchodzące w jego skład nie mogą spełniać swoich funkcji. Uruchamiane w tym czasie procesy regeneracyjne (regeneracja kompensacyjna) ulegają rozregulowaniu, co prowadzi do stopniowego rozwoju raka wątrobowokomórkowego [24, 25].

6. Podsumowanie

Rak wątrobowokomórkowy to jeden z najczęstszych, złośliwych nowotworów współczesnego świata. Wykrycie HCC w stadium objawowym rokuje źle i zwykle prowadzi do zgonu. Najczęstszymi czynnikami etiologicznym, wywołującym HCC, są wirusy HBV i HCV. Nie należy jednak zapominać, że również zła dieta i nałogi w znacznym stopniu zwiększają ryzyko raka. Czynniki te skutkują rozwinięciem marskości wątroby, uznawanej za fazę preneoplastyczną. Szczegółowe poznanie mechanizmów leżących u podstaw procesów zaburzających funkcjonowanie wątroby rodzi nadzieje na opracowanie nowych strategii terapeutycznych, które sprawią, że walka z HCC będzie coraz bardziej skuteczna.

Literatura

1. Dhanasekaran R., Limaye A., Cabrera R., *Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis and therapeutics*, Hepatic Medicine: Evidence and Research, 2012, vol. 4, s. 19-37
2. Bruix J., Sherman M., *Management of hepatocellular carcinoma: An update*, Hepatology, 2011 vol. 53, s. 1020-1022
3. Lu T., Seto W.K., Zhu R.X., Lai C.L., Yuen M.F., *Prevention of hepatocellular carcinoma in chronic viral hepatitis B and C infection*, World Journal of Gastroenterology, 2013, 19(47), s. 8887-8894
4. Barashi N., Weiss I., Wald. O., *Inflammation-induced hepatocellular carcinoma is dependent on CCR5 in mice*, Hepatology, 2013, vol. 58, s. 1021-1030
5. Cabibbo B., Craxi A., *Epidemiology, risk factors and surveillance of hepatocellular carcinoma*, European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2010, 14, s. 352-355
6. Lin H., Ahmed A., Ayoub W., *Both HCV and HBV are Major Causes of Liver Cancer in Southeast Asians*, Journal of Immigrant and Minority Health, 2013, vol. 15, s. 1023-1029
7. Krzakowski M., Zieniewicz K., Habior A., Horban A., *Rak wątrobowokomórkowy – rozpoznanie i leczenie*, Onkologia w Praktyce Klinicznej, 2009, vol. 5, s. 125-140
8. Uchino K., Tateishi R., Shiina S., Kanda M., *Hepatocellular carcinoma with extrahepatic metastasis*, Cancer, 2011, vol. 117, s. 4475-4483
9. Farrel G., *Insulin resistance, obesity and liver cancer*, Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2014, 12, s. 117-119
10. Bartosh B., *Hepatitis B and C viruses and hepatocellular carcinoma*, Viruses, 2010, 2, s. 1504-1509
11. Kew M., *Aflatoxins as a cause of hepatocellular carcinoma*, Journal of Gastrointestinal & Liver Diseases, 2013, vol. 22, s. 305-310
12. Berasain C., Castillo J., Perugoria M.J., Latasa M.U., Prieto J., Avila M.A., *Inflammation and liver cancer*, Steroid Enzymes and Cancer, 2009, s. 206-221
13. Hong E.J., Levasseur M.P., Dufour C.R., Perry M.C., Giguere V., *Loss of estrogen-related receptors a receptors promotes hepatocarcinogenesis development via metabolic and inflammatory disturbances*, Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, vol. 110, s. 17975-17980
14. Sarid R., Gao S.J., *Viruses and human cancer: From detection to causality*, Oncology letter, 2011, vol. 305, s. 218-227
15. Polk D.B., Peek R.M., *Helicobacter pylori: gastric cancer and beyond*, Nature Reviews Cancer, 2010, 10, s. 403-414
16. Yamashita T., Wang X.W., *Cancer stem cells in the development of liver cancer*, The Journal of Clinic Investigation, 2013, vol. 123, s. 1911-1918
17. Kędziora S., Słotwiński R., *Molekularne mechanizmy towarzyszące rozpoznawaniu patogenu przez receptory wrodzonej odporności*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2009, 63, s. 30-38
18. Kawai T., Akira S., *TLR Signaling*, Cell Death and Differentiation, 2006, 13, s. 816-825
19. French S.M., Olivia J., French A.B., Bardag-Gorce F., *Alcohol, nutrition, and liver cancer: Role of Toll-like receptor signaling*, World Journal of Gastroenterology, 2010, 16(11), s. 1344-1348

20. Wang L., Zhu R., Huang Z., Zhu. H., Li H., *Lipopolysaccharide-induced Toll-like receptors 4 signaling in cancer cells promotes cell survival and proliferation in hepatocellular carcinoma*, Digestive Diseases and Sciences, 2013, vol. 58, s. 2223-2236
21. Wang X.Q., Ming X., Zhang W., Chen L., Pang R., *Epigenetic regulation of pluripotent genes mediates stem cell features in human hepatocellular carcinoma and cancer cell lines*, [W:] PLOS ONE [online], 2013 [dostęp 7 lutego 2014].
Dostępny w WORLD WIDE WEB:
www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0072435#pone-0072435-g005
22. Das M., Garlick D.S., Greiner D.L., *The role of JNK in the development of hepatocellular carcinoma*, Genes and development, 2011, 25, s. 634-645
23. He G., Karin M., *NF- κ B and STAT3 – key players in liver inflammation and cancer*, Cell Research, 2011, 21, s. 159-168
24. Tsukada S., Parsons Ch.J., Rippe R.A., *Mechanisms of liver fibrosis*, Clinica Chimica Acta, 2006, s. 33-60
25. Hernandez-Gea V., Friedman S.L., *Pathogenesis of liver fibrosis*, Pathology: Mechanisms of Disease, 2011, vol. 6, s. 425-456
26. Coulouarn C., Corlu A., Glaire D., Guanion I., Clement B., *Hepatocyte-stellate cell cross-talk in the liver engenders a permissive inflammatory microenvironment that driver progression in hepatocellular carcinoma*, Cancer Research, 2012, 72, s. 2533-2542
27. Luedde T., Schwabe R.F., *NF- κ B in the liver--linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma*, Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2011, 8, s. 108-118
28. Starley B.Q., Calcagno Ch.J., Harrison S.A., *Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: A weighty connection*, Hepatology, 2010, vol. 51, s. 1820-1832
29. Plewka K., Szuster-Ciesielska A., Kandefer-Szerszeń M., *Rola komórek gwiazdzistych w procesie alkoholowego włóknienia wątroby*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2009, 63, s. 303-317
30. Troeger J.S., Schwabe R.F., *Neuropilin and liver fibrosis: Hitting three birds with one stone?*, Hepatology, 2011, vol. 54, s. 1091-1093
31. Pellicoro A., Ramachandran P., Iredale J.P., *Reversibility of liver fibrosis*, Fibrogenesis and tissue repair, 2012, 5, s. 2-6

Czynniki ryzyka rozwoju raka wątrobowokomórkowego

Streszczenie

Rak wątrobowokomórkowy (HCC – *hepatocellular carcinoma*) jest jednym z najpowszechniej występujących nowotworów na świecie. Ośrodki zajmujące się monitorowaniem zachorowalności na choroby nowotworowe, co roku odnotowują około 700 tysięcy nowych przypadków HCC. Rak wątrobowokomórkowy jest nowotworem złośliwym, który każdego roku powoduje blisko 600 tysięcy zgonów. Diagnoza w stadium objawowym, uniemożliwiającym resekcję, rokuje źle i zwykle prowadzi do zgonu. Rak wątrobowokomórkowy prawie zawsze rozwija się w wątrobie marskiej, uważanej za stadium preneoplastyczne. Czynniki ryzyka, takie jak zakażenia wirusami HBV i HCV, nadmierne spożycie alkoholu, palenie papierosów, otyłość i cukrzyca prowadzące do niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby, aflatoksyny oraz hemochromatozy żelaza i miedzi skutkują rozwinięciem stanu zapalnego wątroby. Czynniki te aktywują receptory TLR. Uruchamia to kaskadę sygnału jądrowego czynnika NFκB, który promuje wzrost, proliferację i nowotworzenie. Z drugiej strony, aktywowane komórki gwiaździste produkują duże ilości kolagenu prowadząc do postępującego włóknienia miększu i marskości wątroby. Szczegółowe poznanie mechanizmów leżących u podstaw procesów zaburzających pracę komórek wątroby rodzi nadzieję na opracowanie nowych, skutecznych strategii terapeutycznych.

Słowa kluczowe: HCC, TLR, NFκB, stan zapalny, marskość

Infectious and noninfectious risk factors of hepatocellular carcinoma

Abstract

HCC – hepatocellular carcinoma – is one of the most common malignancies in the world. Research centers monitoring the incidence of cancer note approximately 700,000 new cases each year. Hepatocellular carcinoma is a malignant tumor, which each year causes nearly 600,000 deaths. The diagnosis of symptomatic stage does not allow the liver resection and usually leads to death. Hepatocellular carcinoma almost always develops in cirrhosis liver, which is considered as a preneoplastic stage. Risk factors, such as HBV and HCV infections, excessive alcohol consumption, smoking, obesity and diabetes leading to nonalcoholic fatty liver disease, aflatoxins and iron or copper hemochromatosis result in development of liver inflammation. These factors activate TLRs and signaling pathway of NFκB that promotes growth, proliferation and survival of hepatocytes. On the other hand, activated stellate cells produce large amounts of collagen leading to parenchymal fibrosis and cirrhosis. Detailed knowledge of the mechanisms that disrupt the function of liver cells raises hopes for the development of new, effective therapeutic strategies.

Keywords: HCC, TLR, NFκB, inflammation, cirrhosis

HIPOKSJA I EFEKT WARBURGA W KOMÓRKACH RAKA – PRZYCZYNY I SKUTKI

1. Wprowadzenie

Ocenia się, że w około 90% wszystkich nowotworów dochodzi do zmian fenotypu metabolicznego polegającego na wzroście aktywności glikolizy, co zostało wykorzystane w diagnostyce za pomocą pozytonowej emisyjnej tomografii – PET. Zmiana fenotypu polega w tym wypadku na wzroście pobierania glukozy – substratu dla glikolizy oraz zwiększonego wydalenia mleczanu – końcowego produktu tego szlaku przemian. Zmiany te mogą przebiegać zarówno w hipoksji (efekt Pasteura) jak i w normoksji (efekt Warburga). Ponadto hipoksja w guzie aktywuje proces angiogenezy, zmienia odpowiedź komórek nowotworowych na apoptozę oraz prowadzi do zmian równowagi pH. W prezentowanym artykule podjęto próbę wyjaśnienia mechanizmów odpowiedzialnych za kierunek tych zmian w komórce nowotworowej oraz możliwe konsekwencje obydwu efektów.

2. Rola hipoksji w procesie nowotworowym

W skutek dysproporcji w dynamice proliferacji komórek guza nowotworowego oraz komórek śródbłonna naczyń krwionośnych (angiogenezy) dochodzi do zaburzeń utlenowania komórek nowotworowych położonych w dalszej odległości od naczyń. Odległość przekraczająca 100 µm od najbliższego naczynia ogranicza dyfuzję tlenu [1].

Spadek stężenia tlenu w komórce nowotworowej aktywuje liczne procesy, w tym adaptacyjne. Dochodzi do ekspresji wielu genów umożliwiających przystosowanie komórek do zmieniających się warunków. Bardzo ważną rolę w tej adaptacji odgrywa czynnik transkrypcyjny indukowany hipoksją HIF (*hypoxia-inducible factor*). Ekspresja mRNA HIF jest regulowana w wyniku interakcji białka HIF z produktem białkowym genu supresorowego von Hippel-Lindau (VHL). W warunkach normoksji białko VHL kieruje czynnik transkrypcyjny HIF na drogę ubiquitynacji i degradacji, natomiast niedotlenienie warunkuje jego akumulację i aktywację jako czynnik transkrypcyjny [2, 3, 4]. Jako czynnik transkrypcyjny HIF bierze udział w regulacji wielu procesów zachodzących w komórce nowotworowej, które przyczyniają się do rozwoju nowotworu, wzrostu jego złośliwości, w tym zdolności do tworzenia przerzutów oraz oporności na leczenie. Należą do nich m.in.: angiogeneza, apoptoza i metabolizm komórkowy.

¹ natalia.fraczek@umlub.pl, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski, Samodzielna Pracownia Biologii Medycznej

Rozwój nowych naczyń w obrębie guza nowotworowego jest zjawiskiem bardzo niekorzystnym, ponieważ umożliwia migrację komórek nowotworowych do krwiobiegu, a w konsekwencji powstanie przerzutów w odległych tkankach. [5, 6] Komórki nowotworowe guzów litych cechuje zachwiana równowaga pomiędzy czynnikami pro- i anty- angiogennymi na korzyść czynników stymulujących [7]. Jest to wynikiem selekcji klonów komórkowych wykazujących fenotyp proangiogeny, do której dochodzi w guzach nowotworowych narażonych na hipoksję [1]. Ważną rolę w tym zjawisku odgrywa czynnik HIF, który reguluje ekspresję wielu genów kodujących angiogenne czynniki wzrostu. Należą do nich m.in.: łóżyskowy czynnik wzrostu (PGF), płytkowo pochodny czynnik wzrostu B (PDGFB), czynnik pochodzenia stromalnego-1 (SDF-1), angiopoetyna 1 i 2 (ANGPT1 i ANGPT2) oraz naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) – kluczowy regulator angiogenezy [6, 8, 9].

Istotną funkcję czynnika HIF w aktywacji angiogenezy potwierdzają badania Lee i wsp., w których podawano myszom chemoterapeutyki z grupy antracyklin: deoksorubicynę oraz daunorubicynę, które stanowią silne inhibitory czynnika indukowanego hipoksją - HIF. W rezultacie u osobników leczonych tymi chemoterapeutykami zanotowano znaczny spadek unaczynienia guza [10]. Poza wymienionymi czynnikami, HIF indukuje także ekspresję syntazy tlenu azotu eNOS (*endothelial nitric oxide synthase*) produkującej NO, który dodatkowo stymuluje syntezę VEGF oraz rozszerza naczynia krwionośne [7].

Kolejnym procesem, który może być regulowany przez hipoksję w komórkach nowotworowych jest apoptoza. Dokładna rola hipoksji i czynnika transkrypcyjnego HIF w regulacji apoptozy jest bardzo złożona. Istnieją sprzeczne doniesienia na ten temat. W wyniku aktywności HIF dochodzi do zahamowania ekspresji kaspaz: CASP3, CASP8, CASP10 oraz proapoptotycznych białek mitochondrialnych.[8] Zostało to wykazane m.in. w badaniach Erler i wsp. [11], które zostały przeprowadzone na trzech liniach raka jelita grubego: HCT116, HT29 i SW480. W każdej z linii zaobserwowano spadek ekspresji białek proapoptotycznych – Bid, Bad oraz Bax w warunkach hipoksji. Identyczne zależności zanotowano w linii komórkowej fibroblastów płuc chomika chińskiego (V79) oraz w linii mysiego raka wątroby typu dzikiego (HEPA-1wt), co potwierdziło, że efekt ten nie ogranicza się jedynie do komórek raka jelita grubego [11]. Ponadto niedotlenienie powoduje również wzrost ekspresji białek o charakterze antyapoptotycznym np. BCL-2. Teza ta została potwierdzona m.in. badaniami Park i wsp. [12]. Wykazali oni, że w warunkach hipoksji doszło do zwiększenia ekspresji antyapoptotycznych białek (Bcl-2 i Bcl-XL) w linii komórkowej ludzkiego raka płuca (A549), która była dodatkowo traktowana białkiem indukującym apoptozę – TRAIL [12].

Niezwykle istotnym procesem, który ulega diametralnym zmianom pod wpływem niedotlenienia jest metabolizm komórek nowotworowych. Zdolność komórek nowotworowych do konwersji glukozy do mleczanu w warunkach beztlenowych znane jest jako efekt Pasteura [19]. Do aktywacja glikolizy

dochodzi do tego pośrednictwem czynnika transkrypcyjnego HIF. Hipoksja wpływa również na intensyfikację glikolizy w wyniku aktywacji transkrypcji genów *SLC2A1* i *SLC2A3*, które kodują transportery glukozy GLUT1 i GLUT3.

Hipoksja może również indukować proces oddychania beztlenowego w wyniku zwiększenia ekspresji enzymów glikolitycznych, należą do nich m.in. heksokinaza 1 i 2 (HK1, HK2), fosfofruktokinaza 1 (PFK), dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH), kinaza fosfoglicerynianowa (PGK), enolaza, kinaza pirogronianowa (PK), czy też dehydrogenaza mleczanowa, katalizująca konwersję pirogronianu do mleczanu. Izoforma II heksokinazy (HK II) odgrywa istotną rolę w inicjowaniu i utrzymaniu wysokiego tempa katabolizmu glukozy w szybko rosnących guzach nowotworowych. [15] Kolejnym enzymem na szlaku przemian glikolitycznych jest fosfofruktokinaza, jednak jej rola w transformacji nowotworowej nie została dokładnie poznana. Z procesem nowotworowym powiązana może być natomiast aldolaza. [15, 16]. Nadekspresję tego enzymu wykazano m.in. w płaskonabłonkowym raku płuca [17]. Nasiloną glikolizę prowadzi do powstania zwiększonych ilości pirogronianu, który za pośrednictwem dehydrogenazy mleczanowej przekształca się w mleczan – końcowy produkt przemian w tym szlaku [18].

Zarówno nasiloną transkrypcja enzymów glikolitycznych jak i białek transportujących glukozę przyczynia się do nasilenia procesu glikolizy, a zatem zwiększenia produkcji ATP oraz metabolicznych prekursorów niezbędnych do przeżycia i proliferacji komórek nowotworowych w warunkach niedotlenienia [20].

3. Efekt Warburga

Interesującym zjawiskiem jest zwiększone zużycie glukozy oraz związanej z tym nadmiernej produkcji mleczanu nawet w warunkach prawidłowego utlenowania. Zjawisko to znane jest jako efekt Warburga i stanowi fundamentalną zmianę metaboliczną towarzyszącą transformacji nowotworowej [21]. Po raz pierwszy zjawisko to zaobserwował niemiecki biochemik Otto Warburg, który już w latach 30 ubiegłego wieku zasugerował, że komórki nowotworowe pozyskują energię głównie na szlaku glikolizy. Doszedł on również do wniosku, że glikoliza w komórkach nowotworowych zachodzi również w warunkach tlenowych. Postawił hipotezę, iż może to wynikać z zaburzeń procesu oddychania komórkowego w mitochondriach [21]. Okazuje się, że niektóre guzy nie wykazują tego typu zaburzeń, jednak bardzo szerokie spektrum nowotworów podlega takiej zależności [22]. Późniejsze doniesienia Sotiga i jego zespołu [23] również skłaniają się ku teorii, że komórki nowotworowe wchodzi na szlak glikolizy tlenowej wytwarzając mleczan, natomiast wydajność cyklu kwasu cytrynowego i fosforylacji oksydacyjnej jest zmniejszona [23]. Zmiany metabolizmu komórkowego, wynikające ze zwiększonego zapotrzebowania na glukozę i wzmożonej glikolizy, zazwyczaj wpływają na wzrost inwazyjności i agresywności nowotworu. [24]. Nasiloną glikolizę możliwa jest dzięki

zwiększonej ekspresji transporterów glukozy GLUT w komórkach nowotworowych. Przekłada się to na zwiększone pobieranie glukozy ze środowiska zewnętrznego. Podwyższony poziom ekspresji transporterów GLUT został zaobserwowany w wielu rodzajach nowotworów. W nowotworach jelita grubego, piersi oraz w płaskonabłonkowym raku jamy ustnej nadekspresja GLUT 1 i GLUT-3 wiązała się z wyższym stopniem zaawansowania choroby i gorszym rokowaniem dla pacjentów. [13]. Natomiast w przypadku raka żołądka korelowała ona także ze zwiększoną zdolnością do angiogenezy i metastazy [14]. Efekt Warburga odgrywa istotną rolę w rozwoju guza ponieważ zmienia metabolizm komórki nowotworowej umożliwiając jej przetrwanie w niekorzystnych dla niej warunkach. Przyczynia się zatem do progresji nowotworowej i jest rozważany jako obiecujący cel terapeutyczny.

Podłoże biochemiczne oraz mechanizmy molekularne wywołujące efekt Warburga mogą być bardzo zróżnicowane. Wyróżnia się kilka teorii tłumaczących charakterystyczny metabolizm komórek nowotworowych. Pierwsza z nich dotyczy defektu mitochondriów, w których w zdrowych komórkach zachodzi fosforylacja oksydacyjna. Podłoże molekularne tego procesu nadal nie zostało wyjaśnione, zaproponowano jednak teorię tłumaczącą to zjawisko dużą ilością mutacji mitochondrialnego DNA w komórkach nowotworowych [15]. Mitochondria spełniają w komórce bardzo wiele funkcji m.in. uczestniczą w metabolizmie kwasów tłuszczowych, aminokwasów, nukleotydów, syntezie hemu, metylacji oraz naprawie DNA. Z tego względu ich uszkodzenie może sprzyjać rozwojowi choroby nowotworowej [25]. Liczne badania sugerują, że do podstawowych przyczyn nieodwracalnego zaburzenia fosforylacji oksydacyjnej należy zmniejszona ilość mitochondrialnego DNA, istniejące w nim mutacje oraz mutacje w genach jądrowych kodujących podjednostki łańcucha oddechowego biorące udział w fosforylacji oksydacyjnej. Nieprawidłowości w funkcjonowaniu łańcucha oddechowego sprawiają, że komórki pozyskują energię na drodze glikolizy tlenowej. Zmniejszenie ilości mtDNA zostało potwierdzone m.in. w nowotworach piersi [26] żołądka [27], nerek oraz prostaty [27]. Zmniejszenie zawartości mtDNA jest proporcjonalne do zmniejszenia wydajności oddychania komórkowego w tych guzach [28] jak również wpływa na oporność na apoptozę oraz zwiększony potencjał przerzutowy guza [25]. Istnieją argumenty dowodzące, że powstanie nowych zdrowych mitochondriów może wykazywać tłumiące działanie względem aktywności guza. Dochodzi do tego w wyniku indukcji oddychania komórkowego, ograniczenia reaktywnych form tlenu, czy stabilizacji HIF. W związku z powyższym, to czy biogeneza mitochondrialna będzie sprzyjać lub ograniczać rozwój nowotworu może być uzależnione od rodzaju tkanki, czynników pochodzących z mikrośrodowiska jak również od stopnia zaawansowania guza [30]. Druga z teorii zakłada zdolność przystosowania się komórek nowotworowych do warunków mikrośrodowiska, czyli niedotlenienia w obrębie guza [31]. Gatenby i Gillies zasugerowali, że trwały metabolizm

glukozy do mleczanu nawet w warunkach tlenowych jest wynikiem adaptacji do tymczasowej hipoksji i skutkuje wytworzeniem fenotypu, który przystosowuje komórki do glikolizy nawet po zapewnieniu prawidłowego utlenowania w wyniku angiogenezy warunków tlenowych.

Wśród doniesień literaturowych pojawiła się bardzo ciekawa teoria próbująca częściowo wyjaśnić mechanizm regulujący metabolizm energetyczny komórek nowotworowych z efektem Warburga. Dotyczy ona udziału onkogenów i genów supresorowych. Wstępne badania na komórkach zwierzęcych wykazały, że transfekcja onkogenów takich jak *ras* czy *src* doprowadziła do znacznego zwiększenia wychwytu glukozy z towarzyszącym mu zwiększeniem ekspresji transporterów glukozy [15]. Okazuje się również, że gen *H-ras* wykazuje zdolność stymulacji glikolizy oraz hamowania zużycia tlenu przez komórki [32]. Dodatkowo udział tego genu w glikolizie komórkowej zostało potwierdzone przez niezależne badania [33]. Wykazały one, że inhibicja *H-ras* skutkuje zahamowaniem glikolizy, a w efekcie doprowadza do śmierci komórki [33]. Kluczowe onkogeny oraz geny supresorowe guza regulują powstawanie nowych mitochondriów (biogenezę). Onkogen *c-Myc* wykazujący nadekspresję w ponad 70% ludzkich nowotworów powstawanie mitochondriów, co prowadzi do wzrostu ekspresji kluczowych mitochondrialnych białek [30]. Guzy indukowane obecnością *c-Myc* często bardzo szybko ulegają regresji w momencie zahamowania jego aktywności [34]. Gen *c-Myc* pełni w organizmie rolę wiodącego onkogenu wpływającego na aktywność innych onkogenów np. *K-ras*. *Myc* wpływa także na ekspresję kluczowych enzymów szlaku rozkładu glutaminy. Indukcja rozkładu glutaminy w mitochondriach jest istotnym czynnikiem wyjaśniającym jak guzy stają się zależne od *Myc*, ponieważ ograniczenie dostępności glutaminy powoduje apoptozę w komórkach guzów wywołanych *Myc*. *Myc* podobnie jak HIF reguluje metabolizm glukozy w normoksji. Promuje glikolizę w wyniku indukcji enzymów glikolitycznych. HIF z kolei wykazuje degradujące działanie na *c-Myc* przez co hamuje biogenezę mitochondriów. Rola HIF zarówno promująca mitofagię oraz pośrednicząca w tłumieniu biogenezy, tłumaczy częściowo redukcję masy mitochondriów podczas hipoksji [30].

Kolejnym genem o prawdopodobnym udziale w efekcie Warburga jest gen *P-53*. Jest on genem supresorowym bardzo często ulegającym mutacjom, co powoduje utratę jego transkrypcyjnych właściwości. Udowodniono także jego udział w promowaniu apoptozy. Stwierdzono obecność tego białka w macierzy mitochondriów, oraz wykazano, że jego wychwyt przez mitochondria uzależniony jest od ich potencjału błonowego. W związku z czym *p53* spełnia funkcję nie tylko strażnika genomu, ale również strażnika integralności i funkcji mitochondriów. Podobnie jak *p53*, białko *pRB*, będące produktem genu supresorowego *RB* może uczestniczyć w modulowaniu metabolizmu oraz homeostazy mitochondriów, a w interakcji z białkiem *Bax* przyczynia się do indukcji apoptozy. Wraz z *p53* zostało ono wykryte w mitochondriach [30]. Podsumowując, powstawanie mitochondriów jest pozytywnie regulowane przez onkogen *c-Myc*, natomiast tłumione przez supresor jakim jest *p-53*.

Najczęściej występującym onkogenem w guzach nowotworowych takich narządów jak trzustka, płuca czy jelito cienkie jest aktywowany *Kras* [35]. Jego aktywność związana jest z przeprogramowaniem metabolizmu guza ze szlaku oksydacyjnego na glikolizę, która skutkuje zwiększeniem produkcji mleczanu [36]. Wyniki badań wykazują, że guzy posiadające mutacje w genie *Kras* uniezależniły się od metabolizmu mitochondrialnego i wykazują zdolność do przeprowadzania glikolizy w cytozolu. Ponadto komórki te charakteryzują się niewydolnością oddechową związaną ze zmniejszoną aktywnością komponent kompleksu 1 łańcucha oddechowego [37].

4. Konsekwencje

Effekt Pasteura i Warburga indukowane są różnymi mechanizmami, lecz oba prowadzą do aktywacji glikolizy w komórkach nowotworowych. W każdym z nich zachodzi ona jednak w innych warunkach tlenowych. Konsekwencją intensyfikacji glikolizy w obu przypadkach jest zwiększona produkcja mleczanu oraz zakwaszenie środowiska guza. Zmiany pH silnie oddziałują na komórki nowotworowe. Zakwaszenie w obrębie guza promuje progresję nowotworu oraz koreluje ze wzrostem jego złośliwości [39]. Wzrost pH stanowi sygnał do proliferacji komórek, a także sprzyja zwiększonej przeżywalności komórek w wyniku ograniczenia apoptozy [40]. Niezwykle groźny jest fakt, że obniżone pH w guzie może wpływać na inwazyjność komórek. Wzrost zdolności do przerzutowania prawdopodobnie jest związany ze wzrostem aktywności zewnątrzkomórkowych proteaz degradujących składniki macierzy [41, 42]. Zakwaszenie komórek nowotworowych wiąże się z rozwojem oporności na leczenie. W warunkach *in vitro* silnie wpływa na aktywność glikoproteiny-p, odpowiedzialnej za rozwój oporności wielolekowej w komórkach.

Zmiany pH w środowisku guza mogą modulować działanie niektórych leków. Obniżenie pH sprawia, że komórki te stają się relatywnie odporne na wysokie dawki lekko zasadowych leków chemioterapeutycznych [42]. W przypadku glejaków łagodne zakwaszenie środowiska skutkuje hamowaniem wzrostu komórkowego, jednocześnie chroniąc komórki przed cytotoksycznym działaniem leków przeciwnowotworowych [43].

Niezwykle istotna jest możliwość wykorzystania deregulacji szlaków metabolicznych w komórkach nowotworowych w diagnostyce onkologicznej [4]. Badaniem takim jest pozytonowa tomografia emisyjna (PET). Zasada działania tej metody opiera się na założeniu, że komórki nowotworowe prowadzą zintensyfikowany proces glikolizy, a w związku z tym zwiększony wychwyt glukozy w porównaniu do komórek zdrowych. W badaniu PET wykorzystuje się radioizotopowo znakowany analog glukozy – 18-F-fluoro-2-dezoksy-d-glukozę (FDG), który za pomocą przez błonowych transporterów glukozy – GLUT, ulegających nadekspresji w komórkach nowotworowych, akumuluje się w komórkach. Przydatność badania FDG-PET została potwierdzona w diagnostyce wielu nowotworów.

5. Podsumowanie

Zmiana metabolizmu komórek jest cechą charakterystyczną większości nowotworów. Opiera się ona na aktywacji glikolizy, a w konsekwencji wzmożonej produkcji mleczanu. Zjawisko glikolizy może zachodzić zarówno w warunkach hipoksji jak i normoksji. Wieloletnie badania dotyczące tego zagadnienia przyniosły liczne teorie i hipotezy, które wyjaśniają drogę prowadzącą do przeprogramowania metabolicznego. Konsekwencją tych zmian jest powstawanie fenotypu nowotworu o zwiększonej agresywności. W zjawisk tym uczestniczą zmiany m.in. w procesie angiogenezy oraz zmiany zachodzące w podścielisku – w tym angiogeneza. Dokładne poznanie mechanizmów sterujących metabolizmem komórki nowotworowej może przyczynić się do opracowanie nowych strategii terapeutycznych.

Literatura:

1. Cameriet P., Jain R.K., *Angiogenesis in cancer and other diseases*, Nature 2000, 407:249-257
2. Łuczak M.W., Drzewiecka H., Jagodziński P., *Czynnik indukowany hipoksją – HIF*, Nowiny Lekarskie 2009, 78, 3-4: 237-248
3. Krszyna K., Stokłosa T., *Czynnik indukowany przez hipoksję (HIF-1)-budowa, regulacja ekspresji, funkcja oraz rola w progresji nowotworów*, Postępy Biologii Komórki 2005, 32,4: 707-728
4. Rohwer N., Cramer T., *Hypoxia- Mediated drug resistance: Novel insights on the functional interaction of HIFs and cell Heath pathways*, Drug Resistance Updates 2011, 14:191-201
5. Sadłecki P., Walentowicz-Sadłecka M., Grabiec M., *Rola angiogenezy w rozwoju nowotworów*, Przegląd Menopauzalny 2010, 1:28-31
6. Świdzińska E., Naumnik W., Chyczewska E., *Angiogeneza i neoangiogeneza- znaczenie w raku płuca i innych nowotworach*, Pneumonologia i Alergologia Polska 2006, 74:414-420
7. Sacewicz I., Wiktorska M., Wysocki T., Niewiarowska J., *Mechanizmy angiogenezy nowotworowej*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2009, 63:158-168
8. Semenza G. L., *Hypoxia-inducible factors: mediators of cancer progression and targets for cancer therapy*, Trends in Pharmacological Sciences 2012, 33, 4: 207-214
9. Mizia-Malarz A., Sobol G., Woś H., *Angiogeneza w przewlekłych schorzeniach zapalnych i nowotworowych*, Polski Merkucjusz Lekarski 2008 24: 185-189
10. Lee K., Qian D., Rey S., Wej H., Liu J. O., Semenza G. L., *Anthracycline chemotherapy inhibits HIF-1 transcriptional activity and tumor-induced mobilization of circulating angiogenic cells*, Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America 2009, 106, 7: 2353-2358
11. Erler J.T., Cawthorne Ch. J., Williams K.J., Kortzinsky M., Wouters B.G., Wilson C., Miller C., Demonacos C., Stratford I.J., Dive C., *Hypoxia-Mediated Down-Regulation of Bid and Bax in Tumors Occurs via Hypoxia-Inducible Factor 1-*

- Dependent and -Independent Mechanisms and Contributes to Drug Resistance*, Molecular and Cellular Biology 2014, 34,5: 2875-2889
12. Park S.Y., Billiar T.R., Seol D.W., *Hypoxia Inhibition of Apoptosis Induced by Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis Including Ligand (TRAIL)*, Biochemical and Biophysical Research Communications 2002, 291,1: 150-153
 13. Kocdor M.A., Kocdor H., Pereira J.S., Vanegas J.E., Russo I.H., Russo J, *Progressive increase of glucose transporter-3 (GLUT-3) expression in estrogen-induced breast carcinogenesis*, Clinical and Translational Oncology 2013, 15,1: 55-64
 14. Kawamura T., Kusakabe T, Sugino T, Watanabe K, Fukuda T, Nashimoto A, Honma K, Suzuki T., *Expression of glucose transporter-1 in human gastric carcinoma: association with tumor aggressiveness, metastasis, and patient survival*, Cancer 2001, 92,3: 634-641
 15. Pelicano H., Martin D.S., Xu R.H., Huang P., *Glycolysis inhibition for anticancer treatment*, Oncogene 2006, 25: 4633-4646
 16. Shirato K., Kazuaki O., Korekane H., Takamatsu S., Gao C., Angata T., Ohtsubo K., Taniguchi N., *Hypoxic regulation of glycosylation via the N-acetylglucosamine cycle*, Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 2011, 48, 1:20-25
 17. Li C., Xiao Z., Chen Z., Zhang X., Li J., Wu X., Li X., Yi H., Li M., Zhu G., Liang S., *Proteome analysis of human lung squamous carcinoma*, Proteomics 2006, 6,2: 547-558
 18. Semenza G.L. *HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism*, Current Opinion in Genetics and Development 2010, 20:51-56
 19. Kankova K., Hrstká R., *Cancer as a Metabolic Disease and Diabetes as a Cancer Risk*, Klinická Onkologie 2012, 25 (suppl 2): 2S26-2S31
 20. Błaszczak-Świątkiewicz K., Olszewska P., Mikiciuk-Olasik E., *Wpływ hipoksji na zmiany metabolizmu komórek nowotworowych*, Nowotwory Journal of Oncology 2012, 62,4: 283-290
 21. Warburg O., Burk D., Schade AL. *On respiratory impairment in cancer cells*, Science 1956, 124: 267-272
 22. Bartrons R., Caro J. *Hypoxia, glucose metabolism and the Warburg's effect*, Journal of bioenergetics and biomembranes 2007, 39;3: 223-229
 23. Sotiga F., Martinez-Outschoorn U. et al. *understanding the Warburg effect and the prognostic value of stromal caveolin-1 as a marker of a lethal tumor microenvironment*, Breast Cancer Research 2011, 13:213
 24. Piętka G., Kukwa W., Bartnik E., Ścińska A. *Mutacje mitochondrialnego DNA w rozwoju nowotworów głowy i szyi*, Otolaryngologia Polska 2008, 2: 158-164
 25. Ayyasamy V, Owens KM, Desouki MM, Liang P, Bakin A, et al. *Cellular Model of Warburg Effect Identifies Tumor Promoting Function of UCP2 in Breast Cancer and Its Suppression by Genipin*, PLoS ONE 2011, 6(9): 24792.
 26. Tseng LM, Yin PH, Chi CW, Hsu CY, Wu CW, et al. *Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial DNA depletion in breast cancer*, Genes Chromosomes Cancer 2006, 45: 629-638.
 27. Modica-Napolitano JS, Singh KK. *Mitochondrial dysfunction in cancer*, Mitochondrion 2004, 4: 755-762
 28. Wu CW, Yin PH, Hung WY, Li AF, Li SH, et al. *Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial DNA depletion in gastric cancer*, Genes Chromosomes Cancer 2005, 44: 19-28.

29. Martinez-Outschoorn U. et al. *Understanding the metabolic basis of drug resistance. Therapeutic induction on the Warburg effect kills cancer cells*, Cell cycle 2011, 10:15, 2521-2528
30. Boland M., Chourasia A., Macleod F. *Mitochondrial dysfunction in cancer*, Frontiers in oncology 2013, 10:3389
31. Gatenby R., Gillies R. *Why do cancers have high aerobic glycolysis?* Nature Reviews Cancer 2004, 4: 891-899
32. Ramanathan A., Wang C., Schreiber SL. *Perturbational profiling of a cell-line model of tumorigenesis by using metabolic measurements*. PNAS 2005, 102;17 : 5992-5997
33. Blum R., Jacob-Hirsch J., Amariglio N., Rechavi G. *Ras inhibition in Glioblastoma down-regulates hypoxia-inducible factor-1 causing glycolysis shutdown and cell death*, Cancer Research 2005, 65;999
34. Soucek L., Whitfield J., Martins CP, Finch AJ, Murphy DJ, Sodir NM, et al. *Modelling Myc inhibition as a cancer therapy*. Nature 2008, 455:679-83.
35. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2011*. Available at: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@epidemiologysurveillance/documents/document/acspc-029771.pdf>
36. Ying H., Kimmelman AC, Lyssiotis CA, Hua S, Chu GC, Fletcher-Sananikone E, et al. *Oncogenic Kras maintains pancreatic tumors through regulation of anabolic glucose metabolism*. Cell (2012) 149:656-70.
37. Baracca A, Chiaradonna F, Sgarbi G, Solaini G, Alberghina L, Lenaz G. *Mitochondrial complex I decrease is responsible for bioenergetic dysfunction in K-ras transformed cells*. Biochim Biophys Acta 2010 1797:314-323
38. Webb B.A, Chimenti M., Jacobson M.P., Barber D.L., *Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression*, Nature Cancer 2011, 11: 671-677
39. Kaelin W.G., Thomson C.B., *Clues from cell metabolism*, Nature 2010, 465: 562-564
40. Raghunand N., Gatenby R.A., Gillies R.J., *Microenvironmental and cellular consequences of altered blood flow in tumours*, The British Journal of Radiology 2003, 76:11-22
41. Mitrus I., Szala S., *Chemioterapia – główne przyczyny niepowodzeń*, Nowotwory Journal of Oncology 2009, 59, 5, 368-376
42. McCarty, Mark F.; Whitaker, Julian, *Manipulating tumor acidification as a cancer treatment strategy*. Alternative medicine strategy 2010 (abstract)
43. Honasoge A., Sontheimer H., *Involvement of tumor acidification in brain cancer pathophysiology*. Frontiers in physiology 2013, 4: 316 (abstract).

Hipoksja i efekt Warburga w komórkach raka – przyczyny i skutki

Streszczenie

Komórki prawidłowe w optymalnych warunkach pozyskują ATP głównie z fosforylacji oksydacyjnej. W większości komórek nowotworowych zwiększa się udział glikolizy w pozyskiwaniu komórkowego ATP. Bardzo charakterystyczna dla komórek guza jest możliwość przeprowadzania glikolizy zarówno w warunkach beztlenowych (efekt Pasteura) jak również w obecności tlenu (efekt Warburga). Hipoksji w guzie nowotworowym towarzyszy aktywacja angiogenezy oraz zaburzenia apoptozy. W obydwu efektach Pasteura i Warburga obserwujemy zakwaszenie w obrębie guza, co sprzyja powstawaniu fenotypu o większej agresywności. W pracy przedstawiono przyczyny zwiększonego udziału glikolizy w pozyskiwaniu energii przez komórki nowotworowe oraz wpływ tych zmian na agresywność nowotworu.

Słowa kluczowe: hipoksja, efekt Warburga, komórki nowotworowe

Hypoxia and Warburg's effect in cancer cells – causes and consequences

Abstract

Normal cells in optimal conditions generally obtain their ATP from oxidative phosphorylation. In the majority of tumor cells increases the share of glycolysis in obtaining ATP. Characteristic feature of tumor cells is ability to carry out glycolysis in the hypoxia and also in the presence of oxygen (Warburg's effect). Hypoxia in tumor is accompanied by activation of angiogenesis and apoptosis disorders. In both Pasteur's and Warburg's effects we observe acidosis in tumor environment, that favours formation more aggressive phenotype. The paper presents the reasons for the increased participation of glycolysis in energy generation by tumor cells and the impact of these changes on the aggressiveness of the tumor.

Key words: hypoxia, Warburg's effect, cancer cells

BAKTERIE I WIRUSY W TERAPII NOWOTWORÓW

1. Wstęp

Nowotwory są jedną z najczęstszych przyczyn zgonów zarówno w Polsce jak i na świecie. Pomimo dokładnego poznania mechanizmu nowotworzenia oraz jego przyczyn, stosowane terapie często bywają zawodne i nie gwarantują eliminacji nawrotu choroby. Największą wadą szeroko stosowanych metod jest ich brak specyficzności w stosunku do zmienionych chorobowo tkanek. Z tego powodu poszukuje się nowych typów terapii, dzięki którym możliwe będzie osiągnięcie wysokiej swoistości a także uniknięcie remisji choroby. Dzięki badaniom nad cyklami komórkowymi oraz czynnikami zaangażowanymi w proces kancerogenezy a także dokładne poznanie biologii bakterii i wirusów możliwe stało się wprowadzanie terapii z zastosowaniem tych właśnie organizmów, które pozwalają na likwidowanie wyłącznie komórek nowotworowych.

2. Bakterie w terapii nowotworów

Dysponujemy obecnie wieloma metodami stosowanymi w leczeniu nowotworów. Są one ciągle doskonalone, jednak większość z nich, takich jak chemioterapia i radioterapia nie pozwalają na selektywne niszczenie komórek nowotworowych. Od lat prowadzone są badania nad zastosowaniem bakterii w walce z chorobą. Stosowane do tego celu bakterie nazywane są onkolytycznymi. W metodzie tej pokłada się duże nadzieje, gdyż dzięki niej możliwe jest zabicie wyłącznie komórek budujących guz.

Istnieje szereg badań potwierdzających różnice fizjologiczne pomiędzy tkankami zdrowymi a zmienionymi chorobowo. Jedną z nich jest układ naczyń krwionośnych, które w przypadku nowotworu są kręte i nieregularne, gdyż proliferacja zmutowanej tkanki wyprzedza angiogenezę. Cechują się także dużą przepuszczalnością [1]. W guzach obserwuje się obszary niedotlenione i nekrotyczne, w których istnieją warunki korzystne dla rozwoju bakterii beztlenowych. Mikroorganizmy te są wykorzystywane w dwojaki sposób. Wydzielane przez nie toksyny mogą zabijać komórki nowotworowe. Pewne bakterie są natomiast nośnikiem genów terapeutycznych, na przykład kodujących enzym odpowiedzialny za aktywację proleku do aktywnego leku mającego działanie przeciwnowotworowe lub genów kodujących sam lek. [2]

¹ magda.bartosiak1@gmail.com, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Biochemii, Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów "Mikron"

² kamila.bigoss@gmail.com, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Biochemii, Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów "Mikron"

Selektywny wzrost bakterii beztlenowych w nowotworach jest osiągnięty dzięki bogatemu w składniki odżywcze środowisku guza a także dzięki intensywniejszemu metabolizmowi komórek rakowych. Skuteczne są także mikroorganizmy posiadające rzęski, gdyż zapewnia im to możliwość przemieszczania się w obrębie nowotworu a tym samym możliwość dotarcia do większej ilości komórek[3].

By działanie terapeutyczne bakterii było efektywne, drobnoustroje muszą pokonać system odpornościowy organizmu, co jest możliwe dzięki kilku zjawiskom: kręta i nieregularna sieć naczyń krwionośnych nowotworu powoduje, że przeciwciała mają ograniczony dostęp do guza [3], beztlenowe środowisko powoduje zaburzenie funkcjonowania makrofagów, które w prawidłowych warunkach odpowiadają za fagocytozę komórek nowotworowych, w ścianie komórkowej bakterii znajdują się składniki cytotoksyczne, które mogą powodować apoptozę komórek układu odpornościowego- makrofagów i granulocytów [4], komórki nowotworowe mogą wydzielać transformujący czynnik wzrostu (TGF- β), który uniemożliwia infiltrację granulocytów.

2.1. Zastosowanie bakterii produkujących naturalne toksyny

Hipotezę dotyczącą przeciwnowotworowych właściwości bakterii wysunęli już ponad 150 lat temu dwaj niemieccy lekarze: W. Bush i F. Fehleisen, którzy zaobserwowali zmniejszanie się guzów u pacjentów zainfekowanych *Streptococcus pyogenes*. Pierwsze badania mające na celu potwierdzenie tej hipotezy prowadzono stosując bakterie z rodzaju *Clostridium* [5]. Są to obligatoryjne beztlenowce mające zdolność do lokalizacji oraz namnażania się w komórkach zmienionych nowotworowo, wytwarzają one także przetrwalniki. Właśnie one, ze względu na ich niewrażliwość na działanie tlenu oraz niezdolność do wywoływania reakcji odpornościowej, były podawane myszom. Stosowano szczepy *Clostridium histolyticum*, *Clostridium tetani* oraz *Clostridium butyricum*. Obserwowano wprowadzić liżę komórek nowotworowych, jednak zwierzęta w krótkim czasie umierały prawdopodobnie z powodu toksemii lub zbyt silnej reakcji immunologicznej. Właśnie z tego powodu zakończono badania z użyciem bakterii z tego rodzaju [6].

Kolejną bakterią badaną po kątem terapii nowotworowej była *Salmonella typhimurium*. Stosowany szczep został pozbawiony dwóch genów: pierwszy z nich był odpowiedzialny za wywoływanie szoku septycznego (zaburzona zostaje synteza lipopolisacharydu, który jest czynnikiem chorobotwórczym tych organizmów), natomiast drugi- za syntezę puryn niezbędnych do procesu replikacji materiału genetycznego. Zmodyfikowane w ten sposób mikroorganizmy były zdolne do namnażania się wyłącznie w komórkach zmienionych chorobowo, gdzie dostępne były puryny. Dodatkową zaletą tej bakterii jest jej zdolność do lokalizowania się w bardzo małych guzach o masie 0,1 g [7]. Po podaniu bakterii obserwowano zahamowanie wzrostu nowotworów takich jak

czerniak myszy. Liczba komórek bakteryjnych w obrębie guza była tysiącrotnie większa niż w prawidłowo funkcjonującej wątrobie – jest to dowodem specyficzności lokalizacji mikroorganizmów w tkankach rakowych [8]. Jednak podczas badań klinicznych prowadzonych na ludziach nie zaobserwowano takiej specyfiki lokalizacji bakterii w komórkach nowotworowych jak w przypadku myszy. Sposobem na ominięcie tego problemu okazało się zmodyfikowanie bakterii *Salmonella typhimurium* w taki sposób by produkowała ona fragment przeciwciała rozpoznający antygen na powierzchni komórek nowotworowych, dzięki czemu jest kierowana bezpośrednio do zmienionej chorobowo tkanki [9].

2.2. Zastosowanie bakterii z wklonowanym genem

W związku z przeszkodami jakie niesie wyżej opisane podejście zaczęto otrzymywać genetycznie modyfikowane mikroorganizmy niosące gen samobójczy kodujący enzym odpowiedzialny za przekształcenie proleku w aktywny lek. Dzięki temu toksyczny dla komórek lek kierowany i aktywowany bezpośrednio w komórkach nowotworowych. Tym samym zdrowe tkanki nie zostają narażone na śmierć w wyniku działania leku.

Do plazmidu niepatogenicznej bakterii *Clostridium acetobutylicum* będącej bezwzględnie beztlenowcem wklonowano gen *Escherichii coli* kodujący takie enzymy jak deaminaza cytozyny czy nitroreduktaza [10]. Po wstrzyknięciu tak zmodyfikowanych organizmów do krwioobiegu chorych zwierząt produkowały one nitroreduktazę, która aktywowała prolek 5-azyrydynylo-2,4-dinitrobenzamid do jego toksycznej formy 5-azyrydynylo-4-hydroksyamino-2-nitrobenzamid. Bakterie *Clostridium acetobutylicum* z wklonowanym genem dla deaminazy cytozyny powodowały produkcję enzymu, który odpowiada za przekształcenie nieaktywnego proleku o nazwie 5-fluorocytyzyna o jego aktywnej formy 5-fluorouracylu. Dodatkowo terapię przeciwnowotworową wzmacniano podając zwierzętom lek antyangiogeny – kombretastatynę A-4, dzięki czemu uzyskiwano zadowalający efekt.

W celu udoskonalenia metody samobójczy gen dla deaminazy cytozyny wklonowano do innej bakterii – *Clostridium sporogenes*. Liczba jednostek koloniotwórczych tego mikroorganizmu wynosiła $1-2 \times 10^8$ cfu/g tkanki, natomiast w przypadku *Clostridium acetobutylicum* liczba ta wynosiła 10^5-10^6 cfu/g tkanki. Dlatego też terapia przeciwnowotworowa z użyciem bakterii *Clostridium sporogenes* pozwalała osiągnąć lepsze efekty [11].

Inną grupą mikroorganizmów wykorzystywanych w leczeniu nowotworów są bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* – niepatogenne Gram- dodatnie pałeczki, które występują w cienkim oraz grubym jelicie ssaków, w tym człowieka. Są one obligatoryjnie beztlenowe. Specyficznie lokalizują się w zmienionej tkance dzięki czemu są stosowane jako nośniki genów terapeutycznych [12].

Terapia przeciwnowotworowa z użyciem bakterii onkolitycznych jest zupełnie nową strategią terapeutyczną, dzięki której możliwe stanie się wysoce

specyficzne eliminowanie komórek nowotworowych. Nowoczesne metody inżynierii genetycznej pozwalają na uzyskiwanie mikroorganizmów, za pomocą których niszczone są jedynie komórki zmienione chorobowo, dzięki czemu ten typ terapii może cechować się mniejszą ilością skutków ubocznych niż w przypadku leczenia przy użyciu chemioterapii czy radioterapii. Połączenie tych metod może okazać się skuteczną metodą w walce z guzami nowotworowymi oraz przerzutami.

3. Wirusy onkolityczne w terapii nowotworowej

Wzmoczone badania w dziedzinie genetyki, biologii nowotworów i biotechnologii umożliwiły lepsze poznanie procesu kancerogenezy, a co za tym idzie, opracowanie nowych, lepszych i skuteczniejszych metod leczenia chorób nowotworowych. Jedną z nich jest terapia z zastosowaniem wirusów onkolitycznych. Według National Cancer Institute, wirus onkolityczny to taki typ wirusa, który bez uszkodzenia zdrowych komórek, selektywnie infekuje i lizuje komórki nowotworowe [13, 14]. Wirusy te mogą destruować komórki choro-bowo zmienione bezpośrednio w wyniku dynamicznego namnażania lub mogą pełnić rolę wektorów dostarczających do nich chemioterapeutyki [16-19].

Ważnym aspektem jest bezpieczeństwo innowacyjnego leczenia. Warunkiem koniecznym do osiągnięcia tego bezpieczeństwa jest zastosowanie wirusów o wysokiej specyficzności względem zmienionych strukturalnie i funkcjonalnie komórek nowotworowych (gospodarza [13, 19]. Ponadto wektory wirusowe mogą być stosowane jako przekaźnik różnych czynników, np. białek, zwiększających wrażliwość komórek rakowych na radio- czy chemioterapię bądź odpowiedzialnych za śmierć komórki [15-18]. Sama relacja wirus-gospodarz jest wysoce swoista. Komórki posiadają zazwyczaj jednego rodzaju receptory, które są wykorzystywane przez wirusy pochodzące z jednej rodziny, tak więc przed wnikiem do komórki wirus musi przyłączyć się do odpowiedniego receptora na jej powierzchni [15, 16, 20, 21].

Istotnym aspektem jest także zakres działania wirusa w terapii nowotworowej. Stosowanie wektorów wirusowych, które nie ulegają procesowi replikacji w komórkach gospodarza znacząco ogranicza zasięg działania leczenia. W przeciwieństwie do niereplikujących się wektorów wirusowych, wektory wirusowe, które ulegają replikacji w komórce docelowej stanowią bardzo obiecującą metodę. Umożliwiają one bowiem rozprzestrzenienie się efektu terapeutycznego na inne komórki. Do tworzenia takich wektorów naukowcy wykorzystują adenowirusy, wirusy opryszczki, rabdowirusy i reowirusy [15].

W celu zniszczenia nowotworu przy użyciu onkolitycznego wirusa stosuje się różne strategie. Pierwsza z nich to ukierunkowanie transdukcyjne polegające na wybiórczym rozpoznawaniu przez cząsteczki adaptorowe, które znajdują się na powierzchni wirusa, konkretnych epitopów komórek guza. Dzięki wysokiej

swoistości tej strategii, zachowane zostaje bezpieczeństwo a wirusy przyczyniają się do zniszczenia tylko komórek nowotworowych [13, 21]. Druga metoda to ukierunkowanie transkrypcyjne, gdzie wirusy poddawane są różnym zabiegom inżynierii genetycznej. Modyfikacje genetyczne polegające na wprowadzeniu w genom wirusa promotora charakterystycznego dla danego nowotworu, powodują, że transkrypcja genów wirusa możliwa jest wyłącznie w komórkach zmienionych chorobowo. Wstawiony promotor kontroluje ekspresję genów istotnych dla replikacji wirusa [15]. Innym, rzadziej stosowanym mechanizmem jest inicjowanie specyficznej i niespecyficznej przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej. Komórki nowotworowe są mało immunogenne, ponieważ wykazują niski poziom antygenów kompleksu zgodności tkankowej, które aktywują lokalną odpowiedź immunologiczną. Indukcja specyficznej odpowiedzi immunologicznej może przyczynić się do długotrwałej obrony przed nawrotem nowotworu [25].

Wiele wirusów onkolitycznych było i jest analizowanych pod kątem możliwości wykorzystania w leczeniu raka, a niektóre z nich do dnia dzisiejszego są jeszcze w fazie badań klinicznych. Poza wymienionymi plusami stosowania wirusoterapii, warto jeszcze wspomnieć o możliwości połączenia jej z konwencjonalnymi lekami przeciwnowotworowymi [13, 20].

3.1. Adenowirusy

Pośród wszystkich wektorów wirusowych, wektory na bazie adenowirusów są najbardziej efektywnymi nośnikami [26]. Ich zaletą jest łatwość wnikania do większości tkanek, dotyczy to wszystkich typów komórek, zarówno dzielących się, jak i niedzielących umożliwiając silną ekspresję transgenu, a ich skuteczność *in vitro* często osiąga 100%. W warunkach naturalnych adenowirusy infekują komórki nabłonkowe układu oddechowego i pokarmowego, to samo powinowactwo wykazują wektory na bazie adenowirusów, a podane do krwioobiegu wprowadzają geny głównie do hepatocytów i komórek śródbłonna wątroby [27]. Wprowadzony przez nie DNA nie wbudowuje się do chromosomów gospodarza, lecz pozostaje w jądrze w formie episomalnej [26]. Wektory te są stosunkowo pojemne i można do nich wbudować DNA o długości 7-9 kb (w przypadku wektorów typu gutless (adenowirusy pozbawione kodujących sekwencji DNA [27]) nawet do 37 kb), co umożliwia wprowadzenie trans genu z pełną kasetą ekspresyjną, a także dołączenie dodatkowych elementów regulatorowych [26, 28, 29]. Nośniki te można namnażać do wysokich mian, a proces produkcji jest stosunkowo tani. Niestety ogromną wadą wektorów adenowirusowych jest ich immunogenność, a w wysokich dawkach również toksyczne [26, 28, 30]. Replikacja tej grupy wirusów zachodzi tylko wtedy, gdy gen adenowirusowy E1B-55 kDA ulegnie ekspresji. Produkt ekspresji tego genu skutecznie inaktywuje białko p53. Białko E1A inaktywuje z kolei komórkowe białko pRB i uwalnia zawarty w nim czynnik transkrypcyjny

E2F. Tym sposobem wprowadza komórkę w fazę S cyklu komórkowego. Działanie tych dwóch białek zapewnia maksymalną wydajność replikacji wirusa w komórce. Infekcja wirusami z nieaktywnym genem E1B-55 kDa powoduje wzrost poziomu p53 i tym samym prowadzi do apoptozy komórki. Warto zaznaczyć, że ponad połowa ludzkich nowotworów ma zmutowaną formę białka p53, która jest niefunkcjonalna [15,17].

Opisane wyżej właściwości zarówno adenowirusów, jak i komórek nowotworowych były impulsem dla naukowców do konstrukcji wektora ONYX-015, którego genom w stosunku do genomu wirusowego pozbawiony jest genu kodującego białko E1B. Taki wektor ulega procesowi replikacji tylko w komórkach z niefunkcjonalnym białkiem p53, a intensywna jego replikacja prowadzi do lizy komórek nowotworowych. Zaletą stosowania tego wektora jest fakt, iż uwolnione w wyniku lizy komórek cząstki wirusa infekują otaczające komórki niszcząc je. Wadą wektora ONYX-015 jest niemożność powielania się w komórkach nowotworowych z aktywnym p53. Innym możliwym ograniczeniem jest zahamowanie w wyniku działania temperatury 39,5°C ekspresji adenowirusowego genu E1A w komórkach nietransformowanych, czego nie obserwuje się w przypadku komórek nowotworowych. Ograniczenie stosowania adenowirusów tylko do terapii leczenia nowotworów ze zmutowanym białkiem p53 oraz fakt, iż w większości przypadków, mutacje w komórkach nowotworowych zachodzą zarówno w genie p53, jak i w pRB było przyczyną produkcji nowego wektora, jakim jest wektor AxdAdB-3. Wektor ten jest znacznie mniej toksyczny niż ONYX-015, a jego konstrukcja opiera się na wprowadzenia do genomu wirusa mutacji w regionie kodującym CR2 E1A i do genu E1B – 55 kDa [15, 17, 31, 32].

W celu tworzenia wektorów adenowirusowych możliwe jest wykorzystanie, kontrolujących ekspresję genów wirusowych i wyrażających intensywniejszą transkrypcję w komórkach rakowych, odpowiednich promotorów. Przykładem mogą być wektory Ar6pAE2fF i Ar6pAE2fE3F, w których promotor wirusa został zastąpiony sekwencją 270 pz promotora ludzkiego. Taka modyfikacja umożliwia replikację wektora w docelowych komórkach nowotworowych [19]. Ponadto, takie modyfikacje genetyczne umożliwiły otrzymanie wektorów adenowirusowych takich jak CV787 (promotor wirusowy został zastąpiony promotorem specyficznego antygenu prostaty PSA) i TRAD (promotor wirusowy został zastąpiony promotorem odwrotnej transkryptazy ludzkiej telomerazy) [15].

Działanie przeciwnowotworowe opisanych wyżej wektorów sprowadza się do lizy komórek chorobowo zmienionych w wyniku ich wzmożonej replikacji. Aby zwiększyć aktywność wektorów adenowirusowych i poprawić wydajność efektu terapeutycznego, wprowadzono metodę z zastosowaniem dwóch zrekombinowanych wektorów, gdzie jeden jest nośnikiem proleku, który ulega przekształceniu w środek cytotoksyczny w komórkach nowotworowych, a drugi pełni funkcje „pomocnika” w replikacji obu wektorów w komórkach

docelowych. Obecność „pomocnika” jest konieczna ze względu na niezdolność pierwszego wektora do replikacji. Przykładem tego systemu jest niezdolny do replikacji wektor Adeno-P450 w połączeniu z wektorem pomocnikiem ONYX-017. Problemem w stosowaniu takich wektorów w leczeniu raka może okazać się skoordynowanie pracy dwóch wektorów w jednej komórce docelowej [36].

3.2. Wirusy Herpes (HSV)

Genom wirusa opryszki (HSV) stanowi dwuniciowy DNA i jest zdecydowanie większy niż genom adenowirusów. Ważną cechą wektorów herpeswirusowych jest możliwość replikacji w komórkach docelowych, pozwala to na długotrwałą ekspresję wprowadzonego genu, mimo że nie integruje się z genomem. Można w nich umieścić insert, czyli dowolne trans geny lub promotory, które mają zastosowanie terapeutyczne, o długości 30-40 kb. Wektory HSV w większości przypadków stosowane są do transdukcji neuronów [15].

Podczas konstrukcji wektora HSV inaktywacji ulega gen, którego produkty umożliwiają wydajną replikację HSV w komórkach zdrowych. W ten sposób, w wyniku delekcji genu kodującego m.in. kinazę tymidynową replikacja wirusa zostaje ograniczona jedynie do komórek nowotworowych. Ponadto wektory na bazie HSV zdolne są do tworzenia połączeń międzykomórkowych w wyniku czego formowane jest syncytium, mogące powstać jedynie w komórkach dzielących się [15,17]. Przykładem może być wektor Synco-2D. Mechanizm działania wektora polega na tworzeniu syncytium przez fuzję błon. Pozwala to na efektywne onkolityczne działanie wirusa w komórkach nowotworowych. Zdolność fuzogenną otrzymano poprzez włączenie do genomu wirusów onkolitycznych fuzogennej glikoproteiny błonowej wyizolowanej z małego wirusa białaczki (GALVfus) [34,35]. Co więcej, wektory oparte na HSV, tak samo jak adenowirusy mogą pełnić funkcję nośników proleków, np. wektor rRp250, w którym to została wprowadzona delekcja genu UL39 i insercja transgenu szczurzego CYP2B1 [15].

3.3. Rabdowirusy

Do rabdowirusów należy wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (VSV), którego genom stanowi jednociowy RNA oraz zawiera 5 genów kodujących. VSV charakteryzują się wrodzoną wrażliwością na interferon (IFN). Właśnie ta cecha stała się podstawą do stosowania wektorów opartych na VSV w terapii przeciwnowotworowej. W komórkach zdrowych z funkcjonalnym IFN replikacja VSV jest zahamowana, natomiast w komórkach nowotworowych dochodzi do wzmożonej replikacji wirusa i prowadzi do lizy komórek. Wirus wykazuje zdolności onkolityczne w komórkach rakowych z zaburzeniami szlaków sygnalizacyjnych z udziałem białek takich jak c-RAS czy p53, które występują w 90% nowotworów. Ponadto zdolności te zaobserwować można w komórkach nowotworowych z aberracjami

chromosomowymi. Dzięki temu możliwe jest szerokie wykorzystanie VSV do wielu typów raka. Dużą efektywnością i skutecznością w walce z nowotworem charakteryzują się wirusy zmodyfikowane różnymi metodami, np. poprzez wprowadzenie do genomu VSV genu kinazy tymidynowej wirusa herpes (VSV-TK, która aktywuje przez fosforylację ancyklowir, który powoduje śmierć komórki przez terminację replikacji) lub interkulinę 4 (VSV-IL-4) [15].

4. Zakończenie

Od ponad dziesięciolecia nieustannie rejestrowany jest stały wzrost zachorowań na raka, który w dużej mierze wynika z faktu, iż ludzka populacja starzeje się. Mimo wielu badań naukowych dotyczących powstawania, mechanizmów działania oraz metod walki z chorobami nowotworowymi, stosowane obecnie sposoby leczenia nie zawsze są skuteczne, a konwencjonalna chemioterapia powoduje wiele skutków ubocznych. Wzmoczone badania w dziedzinie genetyki, biologii nowotworów i biotechnologii umożliwiły zastosowanie bakterii i wirusów w terapii przeciwnowotworowej. Te onkologiczne mikroorganizmy pozwalają na selektywne niszczenie chorych komórek. Zarówno bakterie jak i wirusy stale poddawane są licznym modyfikacjom, które mają na celu zwiększenie ich aktywności onkologicznych oraz osłabienie lub wyeliminowanie reakcji niepożądanych. Współcześni badacze próbują wprowadzić takie modyfikacje, które pozwolą na wprowadzenie znaczników, np. fluorescencyjnych umożliwiających śledzenie m.in. przerzutów komórek rakowych [13, 15].

Literatura:

1. Mountain A. *Gene therapy: the first decade*. Trends Biotechnol, 2001, vol. 18, s. 119-128
2. Jazowiecka J., Szala S., *Bakterie onkologiczne w terapii nowotworów*, Współczesna onkologia, 2002, vol. 6, s. 264-271
3. Luo X, Li Z, Lin S, et al. *Antitumor effect of VNP20009, an attenuated Salmonella, in murine tumor models*. Oncol Res 2001, vol. 12, s. 501-508
4. Sznol M, Lin SL, Bermudes D, Zheng LM, King I. *Use of preferentially replicating bacteria for the treatment of cancer*. J Clin Invest, 2000, vol. 105, s. 1027-1030
5. Jain RK, Forbes NS., *Can engineered bacteria help control cancer?* PNAS, 2001, vol. 18, s. 14748-14750
6. Brown JM, Giaccia AJ. *The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy*. Cancer Res, 1998, vol. 58, s. 1408-1416
7. <http://hylostet.pl/igm/article/78/>
8. Tjuvajev J, Blasberg R, Luo X, Zheng LM, King I, Bermudes D. *Salmonella- based tumor-targeted cancer therapy: tumor amplified protein expression therapy (TAPET) for diagnostic imaging*. J Control Release, 2001, vol. 74, s. 313-315
9. Bereta J., *Bakterie przeciw nowotworom*. ALMA MATER, 2010, vol. 128, s. 18-19
10. Fox ME, Lemmon MJ, Mauchline ML, Davis TO, Giaccia AJ, Minton NP, Brown JM. *Anaerobic bacteria as a deliver system for cancer gene therapy: in vitro*

- activation of 5- fluorocytosine by genetically engineered clostridia*. Gene Ther, 1996, vol. 3, s. 173-178
11. Liu SC, Minton N, Giaccia A, Brown J. *Anticancer efficacy of systemically delivered anaerobic bacteria as gene therapy vectors targeting tumor hypoxia/necrosis*. Gene Ther, 2002, vol. 9, s. 291-296
12. Yazawa K, Fujimori M, Nakamura T, Sasaki T, Amano J, Kano Y, Taniguchi S. *Bifidobacterium longum as a delivery system for gene therapy of chemically induced rat mammary tumors*. BreastCancer Res Treat, 2001, vol. 66, s. 165-70
13. Augustyniak J., Sawicki K., Skrzypczak M., Kapka-Skrzypczak L., *Zastosowanie wirusów onkolitycznych w terapii przeciwnowotworowej*, Probl. Hig. Epidemiol, 2012, vol. 93, s. 654-662
14. <http://cancer.gov/dictionary/?print=1&cfrid=615577>
15. Błażejewska P., Goździcka-Józefiak A., *Wirusowa terapia przeciwnowotworowa*, Współczesna Onkologia, 2005, vol.9, s. 279-283
16. Jin-Hui W, Xin-Yuan L., *Targeting Strategies in Cancer Gene Therapy*, ActaBiochimBiophys Sin 2003, vol. 35 (9), s. 311-316
17. Mullen J.T., Tanabe K.K., *Viral oncolysis*, Oncologist, 2002, vol. 7, s. 106-119
18. Ring C.J., *Cytolytic viruses as potential anti-cancer agents*, J Gen Virol 2002, vol. 83, s. 491-502
19. Ottolino-Perry K., Diallo J.S., Lichty B.D., Bell J.C., McCart J.A., *Intelligent design: combination therapy with oncolytic viruses*, MolTher 2010, vol. 18, s.251-263
20. Balachandran S., Porosnicu M., Barber G.N., *Oncolytic activity of vesicular stomatitis virus is effective against tumors exhibiting aberrant p53, Ras, or myc function and involves the induction of apoptosis*, J Virol, 2001, vol. 75, s. 3474-3479
21. Kawashima T., Kagawa S., Kobayashi N., *Telomerase-specific replication-selective virotherapy for human cancer*, Clin Cancer Res, 2004, vol. 10, s. 285-292
22. Wennier S., Li S., McFadden G., *Oncolytic virotherapy for pancreatic cancer*, Expert Rev Mol Med, 2011, vol.13, s. 18
23. Prestwich R.J., Errington F., Harrington K.J., Pandha H.S., Selby P., Melcher A., *Oncolytic viruses: do they have a role in anti-cancer therapy?*, Clin Med. Oncol, 2008, vol. 2, s. 83-96
24. Zeyaulah M., Patro M., Ahmad I., Ibraheem K., Sultan P., Nehal M. i wsp., *Oncolytic viruses in the treatment of cancer: a review of current strategies*, PatholOncol Res, 2012, vol. 18(4), s. 771-81
25. Tollefson A.E., Ryerse J.S., Scaria A., Hermiston T.W., Wold W.S., *The E3-11.6-kDa adenovirus heath protein (ADP) is required for efficient cell death: characterization of cells infected with adp mutants*, Virology 1996, vol. 220(1), s. 152-162
26. Stopa M., Dulak J., Józkowicz A., *Najważniejsze cechy wektorów adenowirusowych*, Biotechnologia, 2007, vol. 78, s. 22-32
27. <http://www.utw.uj.edu.pl/documents/6082181/0db6e6a7-716b-47d1-93cd-56db98a8c9b5>
28. Amalfitano A., Parks R. J., *Separating fact from fiction: assessing the potential of modified adenovirus vectors for use in human gene therapy*, Curr Gene Ther, 2002, vol. 2, s. 111-133
29. Volpers C., Kochanek S., J. Gene Med., *Adenoviral vectors for gene transfer and therapy*, 2004, vol. 6, s. 164-S171

30. Benihoud K., Yeh P., Perricaudet M., *Adenovirus vectors for gene delivery*, Curr. Opin. Biotechnol., 1990, vol. 10, s. 440-447
31. Doronin K., Kuppuswamy M., Toth K., *Tissue-specific, tumor-selective, replication-competent adenovirus vector for cancer gene therapy*, J Virol, 2001, vol. 75 (7), s. 3314-3324
32. Fukuda K., Abei M., Ugai H., *E1A, E1B double-restricted adenovirus for oncolytic gene therapy of gallbladder cancer*, Cancer Res, 2003, vol. 63, s. 4434-4440
33. Jakubczak J.L., Ryan P., Gorziglia M., *An oncolytic adenovirus selective for retinoblastoma tumor suppressor protein pathway-defective tumors: dependence on E1A, the E2F-1 promoter, and viral replication for selectivity and efficacy*, Cancer Res, 2003, vol. 63, s. 1490-1499
34. Nakamori M., Fu X., Meng F., *Effective therapy of metastatic ovarian cancer with an oncolytic herpes simplex virus incorporating two membrane fusion mechanisms*, Clin Cancer Res, 2003, vol. 9, s. 2727-2733
35. Nakamori M., Fu X., Pettaway C.A., Zhang X., *Potent antitumor activity after systemic delivery of a doubly fusogenic oncolytic herpes simplex virus against metastatic prostate cancer*, Prostate, 2004, vol. 60 (1), s. 53-60
36. Jounaidi Y., Waxman D. J., *Use of replication-conditional adenovirus as a helper system to enhance delivery of P450 prodrug-activation genes for cancer therapy*, Cancer Res, 2004, vol. 64, s. 292-303

Bakterie i wirusy w terapii nowotworów

Streszczenie

Wykorzystanie bakterii i wirusów onkolitycznych w terapii przeciwnowotworowej znajduje coraz większe zastosowanie w leczeniu raka. Użycie zmodyfikowanych mikroorganizmów jest alternatywą w stosunku do konwencjonalnych metod terapeutycznych, które niejednokrotnie zawodzą. Innowacyjne metody leczenia opierają się na wykorzystaniu specyficzności wirusów i bakterii onkolitycznych w stosunku do chorobowo zmienionej tkanki. Leki dostarczane są selektywnie tylko do komórek nowotworowych i doprowadzają do ich lizy, oszczędzając komórki zdrowe. Mikroorganizmy pełnią w tym przypadku rolę wektorów, czyli są nośnikami genów terapeutycznych, na przykład kodujących enzym odpowiedzialny za aktywację proleku do aktywnego leku mającego działanie przeciwnowotworowe lub genów kodujących sam lek. Wśród wirusów wykorzystywanych do tego celu są m.in. adenowirusy czy rabdowirusy, natomiast w przypadku bakterii pomocne okazują się bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* i *Clostridium*. Ponadto, bakterie onkolityczne mogą wydzielać toksyny, które zabijają zabijają komórki nowotworowe.

Słowa kluczowe: terapia nowotworowa, wirusy onkolityczne, bakterie onkolityczne

Bacteria and viruses in cancer therapy

Abstract

The use of oncolytic bacteria and viruses in anticancer therapy has become more and more applicable to the treatment of cancer. The use of modified microorganisms is an alternative to unconventional therapeutic methods that often fail. The innovative methods of treatment are based on the use of specificity of oncolytic viruses and bacteria in relation to impaired tissue. Drugs are provided to cancer cells exclusively and lead to their lysis at the same time saving healthy cells. In this case, microorganisms play the role of vectors – they are the carriers of therapeutic genes, for example those which code the enzyme responsible for the activation of a prodrug to an active drug having the anticancer effect or genes coding the drug itself. Among the viruses used for this purpose are adenoviruses and rhabdoviruses, whereas in case of bacteria, *Bifidobacterium* and *Clostridium* bacteria prove to be very helpful. Moreover, oncolytic bacteria may release toxins that kill cancer cells.

Key terms: cancer therapy, oncolytic viruses, oncolytic bacteria

Paweł Binko¹, Katarzyna Kumięga², Monika Pilecka³, Karolina Gasińska⁴,
Michał Dzik⁵, Maryla Kuczyńska⁶

KACHEKSJA NOWOTWOROWA – PRZYCZYNY, MECHANIZMY, ROLA CYTOKIN

1. Wstęp

W zaawansowanej chorobie nowotworowej dochodzi u pacjentów do rozwoju zespołu wyniszczenia nowotworowego zwanego „kacheksją”. Jest to zespół objawów powstający w wyniku procesu rozrostu guza nowotworowego z towarzyszącymi zaburzeniami metabolicznymi, hormonalnymi oraz psychologicznymi. Typowymi symptomami występującymi w kacheksji są zmniejszająca się ilość pokarmu przyjmowana przez pacjenta oraz postępujący spadek masy ciała [1, 2, 3, 4]. Spadek masy ciała jest efektem utraty zarówno tkanki mięśniowej jak i tkanki tłuszczowej [1, 2, 3]. Kacheksji towarzyszą niedokrwistość, limfopenia, hypoalbuminemia, podwyższenie enzymów wątrobowych oraz hipoglikemia [1, 3]. Ponadto u pacjentów obserwuje się znaczące pogorszenie jakości życia. Została zauważona u nich dodatnia korelacja pomiędzy wyniszczeniem nowotworowym a depresją oraz nasileniem odczuwania lęku [2, 3]. Kliniczna definicja kacheksji to 5-10% ubytek masy ciała w stosunku do wartości początkowej w okresie 3-6 miesięcy [1]. Do jej rozwoju dochodzi u 55-70% chorujących na nowotwór. Nie wykazano jednak aby częstość występowania wyniszczenia nowotworowego była zależna od typu histopatologicznego nowotworu. Wykazano natomiast związek z lokalizacją nowotworu (kacheksja najczęściej występuje przy nowotworach głowy, szyi a także górnego odcinka przewodu pokarmowego) [2, 3]. Niedożywienie w chorobie nowotworowej wpływa ujemnie na przeżywalność, a aż u 20-30% pacjentów staje się ono przyczyną zgonu [1, 2]. Biochemicznymi wskaźnikami wyniszczenia nowotworowego są spadek stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i HDL, spadek poziomu albumin oraz transferryny. Wzrasta natomiast poziom wolnych kwasów tłuszczowych oraz cytokin prozapalnych [2]. Istotne jest więc poznanie przyczyn oraz mechanizmów prowadzących do rozwoju wyniszczenia nowotworowego.

¹ pawele90@gmail.com, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, I Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Immunologii Klinicznej

² kasia.kumiega@gmail.com, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Immunologii Klinicznej

³ monikapilecka88@gmail.com, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, I Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Immunologii Klinicznej

⁴ karolina.gasinska@onet.eu, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, I Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Immunologii Klinicznej

⁵ michaldzik@poczta.wp Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej

⁶ maryla.kuczynska@gmail.com, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych

2. Mechanizmy kacheksji

Mechanizmów prowadzących do rozwoju kacheksji jest kilka. Należą do nich zarówno zaburzenia procesów przyjmowania i przyswajania substancji odżywczych jak też nasilenie procesów katabolicznych organizmu na skutek zaburzeń hormonalnych [1].

2.1. Zaburzenia przyjmowania i przyswajania pokarmów

Zaburzenia przyjmowania pokarmów mogą być spowodowane trzema czynnikami. Pierwszym z nich jest mechaniczne utrudnienie tego procesu. Rosnący guz może miejscowo oddziaływać na sąsiednie struktury. Na skutek tego może dojść do ucisku w obrębie gardła lub przełyku co utrudnia połykanie. Natomiast guz zlokalizowany w jamie brzusznej może dawać wrażenie szybkiego nasycenia w trakcie posiłku. Naciekając zaś ścianę jelita może doprowadzić do niedrożności mechanicznej, biegunek oraz zaburzeń wchłaniania [1, 4].

Drugim czynnikiem jest utrata apetytu, która ma najprawdopodobniej podłoże neurohormonalne. Udział w tym procesie mają: neuropeptyd Y (NPY), leptyna oraz grelina [1, 2, 4]. Neuropeptyd Y, zwany również czynnikiem oreksygenicznym jest neurotransmiterem pobudzającym łaknienie. Produkowany jest on przez jądro łukowate podwzgórza między innymi w następstwie głodzenia, wysiłku fizycznego czy laktacji. Następnie łącząc się z receptorem Y-5 stymuluje łaknienie. Jego produkcja hamowana jest w warunkach prawidłowych przez hiperglikemię i hiperinsulinemię występującą po posiłku [1, 2, 4]. Wykazano, że u chorych na nowotwory pomimo nasilenia katabolizmu i wynikającego z tego zwiększonego zapotrzebowania energetycznego poziom neuropeptydu Y nie rośnie, a wręcz przeciwnie do oczekiwań maleje. Wynika to z blokowania ośrodkowego działania tego hormonu przez cytokiny [2, 5]. Kolejnym czynnikiem mogącym brać udział w utracie apetytu jest grelina. Produkowana jest ona w ośrodkowym układzie nerwowym i w żołądku oraz podobnie jak neuropeptyd Y jest czynnikiem pobudzającym łaknienie [1, 6]. Badania odnośnie jej roli w wyniszczeniu nie są jednoznaczne. Wykazywano podwyższony poziom greliny u kachektyków oraz wzrost apetytu po wlewie dożylnym tego hormonu. Stwierdzano również brak zależności pomiędzy stężeniem greliny a nasileniem łaknienia. Świadczy to prawdopodobnie o zwiększonej oporności tkanek na jej działanie [1, 6]. W innych badaniach wykazywano natomiast obniżony poziom greliny u pacjentów [7]. Hormonem biorącym również udział w regulowaniu apetytu jest leptyna. Syntetyzowana jest ona głównie przez komórki tłuszczowe, a dostając się do mózgu pobudza ośrodek sytości w podwzgórzu. Skutkuje to hamowaniem łaknienia i zmniejszoną ilością przyjmowanego pokarmu. Natomiast jej stężenie oznaczane we krwi należy do czynników prognostycznych odżywienia

u chorych na nowotwory [1, 2, 8]. Jednakże prowadzone badania mające wykazać związek pomiędzy jej stężeniem w surowicy a procesem wyniszczenia nowotworowego nie są jednoznaczne [2, 8]. Aleman i wsp. oraz Weryńska i wsp. wykazywali obniżone stężenie leptyny u pacjentów z nowotworami płuc [8, 9]. Natomiast Kemik i wsp. stwierdzili podwyższony poziom leptyny u pacjentów z rakiem okrężnicy [7].

Kolejnym nie mniej istotnym czynnikiem powodującym problemy w przyjmowaniu i przyswajaniu pokarmów jest leczenie onkologiczne. Bywa, że pacjenci są celowo głodzeni w celu przygotowania do licznych badań, a także zabiegów operacyjnych. Dodatkowo zabiegi te mogą skutkować fizycznym utrudnieniem przyjmowania pokarmów. Natomiast objawami niepożądanymi chemio- i radioterapii są nudności, wymioty, zaburzenia smaku oraz węchu, stany zapalne błon śluzowych przewodu pokarmowego, zespoły złego wchłaniania a także biegunki [3, 4].

2.2. Zaburzenia hormonalne i metaboliczne

W procesie kacheksji nowotworowej dochodzi do zaburzeń w funkcjonowaniu układu dokrewnego. Następuje wzrost produkcji hormonów katabolicznych (adrenalina, noradrenalina, glukagon, kortyzol) oraz zmniejszenie produkcji hormonów anabolicznych (testosteronu, insuliny, somatotropiny). W surowicy stwierdza się również podwyższony poziom czynnika wywołującego proteolizę (PIF), dodatkowo komórki nowotworowe produkują czynnik mobilizujący białka (PMF) oraz czynnik mobilizujący lipidy (LMF). Te trzy związki także mają działanie kataboliczne. Zaburzenia układu hormonalnego prowadzą w efekcie do zaburzeń w metabolizmie węglowodanów, lipidów oraz białek [1, 2, 3, 4].

2.2.1. Zaburzenia metabolizmu węglowodanów

U chorych z czynnym procesem nowotworowym zapotrzebowanie energetyczne organizmu ulega znacznemu zwiększeniu. Jest to spowodowane głównie zwiększonym zapotrzebowaniem rosnącego guza nowotworowego na energię. Z racji tego że większość guzów litych jest słabo unaczyniona, glikoliza w nich odbywa się głównie w warunkach beztlenowych. Ten sposób czerpania energii prowadzi do powstania mleczanów, które dodatkowo prowadzą o utraty apetytu, nudności, wymiotów a także objawów lękowych [1, 2, 3, 4]. Dzieliące się komórki nowotworowe mogą zużyć nawet kilkaset gramów glukozy w ciągu doby. Skutkuje to tym, że ilość glukozy dostarczana z pożywieniem jest niewystarczająca i dochodzi do uruchomienia procesów glukoneogenezy w wątrobie. Glukoza odtwarzana jest z uwolnionych z tkanki mięśniowej aminokwasów, a także z będących w podwyższonym stężeniu mleczanów. Odtwarzanie glukozy z mleczanów nazywane jest cyklem Corich i jest ono procesem niezwykle kosztownym energetycznie. W trackie jego przebiegu

zużywane jest 3 razy więcej energii niż powstaje w wyniku utleniania glukozy z niego otrzymanej [1, 2, 3, 4]. Ponadto u kachektyków dochodzi do zwiększenia metabolizmu glikogenu w wątrobie i uwalniania z niego glukozy. U chorych obserwuje się również obniżone stężenie insuliny oraz zwiększoną oporność tkanek obwodowych na jej działanie [1, 2, 4].

2.2.2. Zaburzenia metabolizmu lipidów

Wraz ze zwiększonym metabolizmem węglowodanów mobilizacji ulega również tkanka tłuszczowa. Przy spadku poziomu insuliny a wzroście poziomu glukagonu oraz adrenaliny dochodzi do aktywacji cyklicznego monofosforanu adenozy (cAMP). Prowadzi to w efekcie do aktywacji hormonozależnej lipazy. Innym czynnikiem odpowiedzialnym za zaburzenia metabolizmu lipidów jest czynnik mobilizujący lipidy (LMF), który jest uwalniany przez komórki nowotworowe. Wykazuje on aktywność identyczną jak alfa-2-glikoproteina cynkowa (ZAG). Czynniki te aktywują lipolizę bezpośrednio poprzez aktywację cyklazy adenylationowej znajdującej się w komórkach tłuszczowych. Wynikiem tych procesów jest uwalnianie przez adipocyty glicerolu oraz wolnych kwasów tłuszczowych do krwi [2, 4]. Spadkowi ulega natomiast synteza jak i aktywność lipazy lipoproteinowej (LPL). Powoduje to zmniejszenie produkcji tłuszczu [4]. Efektem końcowym nasilonego katabolizmu oraz zmniejszonego anabolizmu tkanki tłuszczowej jest wzrost stężenia wolnych kwasów tłuszczowych oraz glicerolu, a także spadek stężenia triglicerydów i cholesterolu w surowicy krwi [2]. Jednakże poziom wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy nie rośnie znacząco. Są one najprawdopodobniej, podobnie jak frakcja LDL cholesterolu, głównie zużywane przez komórki nowotworowe [4]. Potwierdzają to badania prowadzone przez Vinci i wsp., którzy badali pacjentów z nowotworem płuc. Wykazali oni, że stężenie cholesterolu jest niższe u pacjentów z wyniszczeniem nowotworowym niż u pacjentów bez kacheksji, także grupy kontrolnej. Stężenie cholesterolu wynosiło odpowiednio u osób z kacheksją 168,4 mg/dl, u pacjentów bez kacheksji 191 mg/dl, a w grupie kontrolnej 187,7 mg/dl. Wykazali oni także, że stężenie triglicerydów u kachektyków jest niższe niż u osób bez objawów wyniszczenia [10].

2.2.3. Zaburzenia metabolizmu białek

W wyniszczeniu nowotworowym dochodzi również do zaburzeń metabolizmu białek. W wyniku nasilonego katabolizmu oraz obniżonej syntezy białek mięśni dochodzi do utraty masy mięśniowej [1, 2, 3, 4]. Za czynnik odpowiedzialny za ten proces uważa się czynnik indukujący proteolizę (PIF), którego stężenie wzrasta w zespole wyniszczenia. Wyizolowano go z moczu chorych z kacheksją nowotworową, nie stwierdzono go natomiast w moczu chorych na nowotwór ale bez wyniszczenia. Wykazywano również, że stężenie

obniżało się po radykalnym leczeniu, a rosło ponownie przy wznowie procesu nowotworowego [1, 2, 4]. Mechanizm działania czynnika indukującego proteolizę polega na nasileniu procesów katabolicznych w mięśniach, w skutek nadmiernej ekspresji czynników biorących udział w regulacji szlaku ubikwityna-proteasom. Powoduje to przejściowe zmniejszenie syntezy białek mięśni o 50%, a także zwiększenie ich degradacji również o 50%. Proces ten dotyczy przede wszystkim białek mięśni poprzecznie prążkowanych [2, 4]. Występowanie czynnika PIF w przebiegu procesu nowotworowego zostało potwierdzone podczas badań doświadczalnych na myszach, którym zostały wszczepione komórki nowotworowe MAC16, a u których obserwowano spadek masy ciała [2, 4]. W przebiegu procesu nowotworowego dochodzi również do spektrum białek produkowanych w wątrobie. Spadkowi ulega synteza albumin oraz transferyny, wzrasta natomiast synteza białek ostrej fazy, takich jak fibrynogen oraz białko C-reaktywne (CRP) [1, 3]. W badaniach klinicznych wykazano spadek stężenia albumin i transferyny w surowicy krwi chorych oraz korelację pomiędzy stopniem rozwoju kacheksji a stężeniem tych białek [2, 7]. Kemik i wsp. w swoich badaniach wykazali również wzrost stężenia białka C-reaktywnego u chorych wyniszczonych [7].

3. Rola cytokin w kacheksji nowotworowej

Utrata łaknienia, zaburzenia przyjmowania pokarmów czy też zaburzenia w funkcjonowaniu układu dokrewnego i związane z nimi zmiany w gospodarce węglowodanowej, lipidowej oraz białkowej nie są jednak pierwotnymi przyczynami wystąpienia wyniszczenia w przebiegu choroby nowotworowej. Najprawdopodobniej pierwotnym czynnikiem indukującym powyższe procesy jest układ cytokin [1, 2, 3]. Cytokiny są to białka lub peptydy wydzielane głównie przez komórki układu odpornościowego w następstwie kontaktu tych komórek z antygenem. Cytokiny modyfikują wzrost, aktywność, różnicowanie komórek oraz regulują ich wzajemne oddziaływanie [11]. U pacjentów z zespołem wyniszczenia nowotworowego wykazywano wzrost stężenia niektórych z nich w surowicy krwi [1, 2, 7, 12, 13, 14]. Natomiast potwierdzenie ich wpływu na proces wyniszczenia nowotworowego wykazano w przypadku czynnika martwicy nowotworów (TNF), interleukiny 1 (IL-1), interleukiny 6 (IL-6), interferonu alfa (IFN- α) oraz interferonu gamma (IFN- γ) [1, 2, 3, 4].

Z zespołem wyniszczenia nowotworowego najwcześniej został powiązany czynnik martwicy nowotworów, nazywany również kachektyną [1, 2, 3, 4]. W badaniach prowadzonych na zwierzętach stwierdzono, że podawanie im TNF prowadzi do wystąpienia u nich zespołu wyniszczenia [1, 3]. Wyniki te potwierdzono także w przypadku ludzi, obserwując dodatkowo korelację pomiędzy stopniem zaawansowania wyniszczenia a stężeniem czynnika martwicy nowotworów w surowicy [1]. Natomiast u zwierząt ze wszczepionym

guzem nowotworowym stwierdzano zwiększenie stężenia TNF w surowicy [2]. Kachektyna oddziałuje kompleksowo na metabolizm organizmu. Hamuje ona syntezę lipazy lipoproteinowej, co powoduje zmniejszenie produkcji lipidów. Jednocześnie przyspiesza ona metabolizm białek, nasilając głównie degradację mięśni szkieletowych i ich wykorzystanie w procesie glukoneogenezy. TNF jest również czynnikiem, który prowadzi do zmiany spektrum białek produkowanych w wątrobie z albumin na korzyść białek ostrej fazy [1, 3, 4]. Dodatkowo wraz z IL-1 i IL-6 naśladuje on działanie leptyny, hamując łaknienie oraz stymulując wzrost zużycia energii [1, 3].

W wielu pracach potwierdzono również podwyższony poziom interleukiny 6 u chorych na nowotwory złośliwe [1, 2, 3, 4]. Jest to cytokina prozapalna uwalniana przez makrofagi oraz komórki nowotworowe guza i gromadząca się w jego otoczeniu. Receptory dla tego przekaźnika znajdują się we wszystkich komórkach ludzkiego organizmu za wyjątkiem erytrocytów. Skutkuje to szerokim zakresem oddziaływania, co ma niemałe znaczenie w rozwoju wyniszczenia nowotworowego [3]. Wraz z innymi mediatorami powoduje ona wzrost zużycia energii oraz nasila katabolizm białek mięśni i zużycia ich w procesie glukoneogenezy [1, 3]. Interleukina 6 wpływa również na gospodarkę lipidową. Hamuje ona działanie lipazy lipoproteinowej co powoduje zahamowanie wytwarzania tłuszczów. Jest ona również czynnikiem, który powoduje wzrost produkcji białek ostrej fazy w wątrobie a spadek produkcji albumin oraz transferryny, co przyczynia się do rozwoju nowotworu oraz powikłań z nim związanych [4]. Dodatkowo wykazuje ona działanie podobne do leptyny [1, 3].

Cytokina, której rola w procesie kacheksji jest nie do końca jasna to interleukina 1. Przypuszcza się, że głównym działaniem IL-1 w tym procesie jest ułatwianie wytwarzania IL-6 przez makrofagi i komórki nowotworowe oraz aktywowanie TNF [4]. Powoduje ona, poprzez oddziaływanie na komórki beta trzustki podwyższenie glikemii, przyspiesza przemianę białek ustrojowych i powoduje degradację białek mięśni [1, 4]. Przyczynia się również do zmiany spektrum białek produkowanych w wątrobie z albumin na rzecz białek ostrej fazy. Jej działanie jest tu podobne do TNF oraz IL-6. Podobnie jak one IL-1 naśladuje działanie leptyny hamując łaknienie a także stymulując wzrost zużycia energii [1, 3].

Interferon alfa i interferon gamma również biorą udział w powstawaniu kacheksji nowotworowej wzmagając efekt kataboliczny. Działają one hamująco na aktywność lipazy lipoproteinowej, powodują zmniejszenie syntezy białek oraz zwiększają rozkład tłuszczów w tkankach i prowadzą do hipertriglicydemii [4].

4. Podsumowanie

W przewlekłym procesie nowotworowym dochodzi do rozwoju zespołu wyniszczenia nowotworowego. Rozwijający się guz wpływa na funkcjonowanie organizmu oddziałując zarówno miejscowo jak i ogólnoustrojowo. Efektem tego są zaburzenia przyjmowania pokarmów oraz zaburzenia gospodarki hormonalnej. Dochodzi do zwiększenia produkcji hormonów katabolicznych, spada natomiast synteza hormonów anabolicznych. Prowadzi to do zwiększenia zużycia energii oraz zaburzeń metabolizmu węglowodanów, lipidów oraz białek. Efektem tego jest wyczerpanie zasobów energetycznych organizmu, degradacja białek mięśni oraz spadek masy ciała. Najprawdopodobniej pierwotną przyczyną tych zaburzeń są cytokiny. Wykazano, że proces nowotworowy prowadzi do wzrostu stężenia niektórych z w surowicy, tj. czynnika martwicy nowotworów, interleukiny 1, interleukiny 6, interferonu alfa oraz interferonu gamma. Wydaje się, że cytokiny te odpowiadają zarówno bezpośrednio jak i pośrednio na zmiany prowadzące do rozwoju kacheksji nowotworowej.

Literatura

1. Parnicka A, Gryglewska B, *Wyniszczenie nowotworowe a starcza sarkopenia*, Gerontologia Polska 2006, 14, 113-118
2. Zabłocka K, Biernat J, *Wskaźniki biochemiczne zaburzeń stanu odżywienia w chorobach nowotworowych*, Medycyna Paliatywna w Praktyce 2008, 2, 20-25
3. Misiak M, *Wyniszczenie nowotworowe*, Współczesna Onkologia 2003; 7: 381-388
4. Rucińska N, Wojtukiewicz M.Z, *Zespół wyniszczenia nowotworowego*, Nowotwory 1999; 49: 53-62
5. Meguid M.M., Ramos E.J.B., Laviano A., Varma M., Sato T., *Tumor anorexia: effects on neuropeptide Y and monoamines in paraventricular nucleus*, Peptides, 2004, 25, 261-266
6. Garcia i wsp. *Ghrelin Level in Cancer – Induced Cachexia*, J. Clin. Endocrinol. Metab., 2005, 90 (5), 2920-2926
7. Kemik i wsp. *The relationship among acute-phase response proteins, cytokines and hormones in cachectic patients with colon cancer*, World Journal of Surgical Oncology 2010; 8: 85
8. Weryńska B., Kosacka M., golecki M., Jankowska R., *Stężenie leptyny w surowicy krwi wyniszczonych i niewyniszczonych chorych na raka płuc*, Pneumonologia i Alergologia Polska 2009, 77, 500-506
9. Aleman M.R., Santolaria F., Batista N., de la Vega M.J., *Leptin role in advanced lung cancer: a mediator of the acute phase response or a marker of the status of nutrition*, Cytokine, 2002, 19, 21-26
10. Vinci E., Rampello E., Zanolli L., Oreste G., Pistone G., Malaguamera M., *Serum carnitine levels in patients with tumoral cachexia*, Eur. J. of Intern. Med., 2005, 16, 419-423
11. Guzek J.W. *Patofizjologia człowieka w zarysie*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2008; 129-130
12. Kamińska J i wsp. *Cytokiny jako niezależne czynniki prognostyczne u chorych na nowotwory złośliwe*, Współczesna Onkologia 2006; 10: 259-262
13. Kamińska J. i wsp., *Przydatność oznaczania stężeń cytokin w monitorowaniu leczenia chorych na mięsaki tkanek miękkich*, Nowotwory, 2006, 56 (5), 551-554
14. Ebrahimi B., Tucker S.L., Li D., Abbruzzese J.L., Kurzrock R., *Cancer*, 2004, 101 (12), 2727-2736

Kacheksja nowotworowa – przyczyny, mechanizmy, rola cytokin

Streszczenie

W zaawansowanej chorobie nowotworowej u 55-70% pacjentów dochodzi do zespołu wyniszczenia nowotworowego zwanego „kacheksją”. Jest to zespół objawów powstający w wyniku procesu rozrostu guza nowotworowego z towarzyszącymi zaburzeniami metabolicznymi, hormonalnymi oraz psychologicznymi. Typowymi objawami tego procesu są zmniejszająca się ilość przyjmowanych pokarmów oraz spadek masy ciała, który wpływa ujemnie na przeżywalność, stając się przyczyną zgonu u 20-30% pacjentów. Istotne jest więc poznanie przyczyn oraz mechanizmów prowadzących do rozwoju wyniszczenia nowotworowego. Do rozwoju kacheksji prowadzą zaburzenia przyjmowania pokarmów oraz przyswajania substancji odżywczych a także nasilenie procesów katabolicznych. Zaburzenia przyjmowania i przyswajania pokarmów mogą być spowodowane przez rosnący guz, który oddziałując miejscowo może mechanicznie utrudniać ten proces. Drugim czynnikiem jest utrata apetytu, który ma najprawdopodobniej podłoże neurohormonalne. Również samo leczenie onkologiczne może powodować powyższe zaburzenia. W trakcie procesu nowotworowego dochodzi do wzrostu produkcji hormonów katabolicznych, a spadku syntezy hormonów anabolicznych. W wyniku tego dochodzi do zaburzeń metabolizmu węglowodanów, lipidów oraz białek. Wydaje się jednak, że pierwotną przyczyną zaburzeń prowadzących do kacheksji jest układ cytokin. Wykazywano wzrost ich stężenia w surowicy krwi. Natomiast z wyniszczeniem nowotworowym powiązano IL-1, IL-6, TNF, IFN- α oraz IFN- γ . Ich działanie polega m.in. na nasileniu katabolizmu, hamowaniu lipazy lipoproteinowej, hamowaniu łąknienia, wzrostu zużycia energii oraz zwiększeniu syntezy białek ostrej fazy.

Słowa kluczowe: kacheksja, nowotwory, cytokiny

Cancer cachexia – causes, patomechanism, role of cytokines

Abstract

In advanced cancer about 55-70 % of patients develop cachexia syndrome called "cachexia". This syndrome results from the process of tumor growth which is associated with metabolic, hormonal and psychological disorders. Typical symptoms of this process are: decreasing the amount of food intake and weight loss, which negatively affects on survival and cause death in 20-30 % of cases. It is therefore important to know the reasons and the mechanisms leading to the development of cancer cachexia. Eating disorders and assimilation of nutrients as well as intensification of catabolic processes lead to the development of cachexia. Disorders in reception and food assimilation may be caused by the growing tumor which can mechanically impede this process. The second factor is the loss of appetite, which is probably neurohormonal substrate. Moreover, the same cancer treatment can cause these disorders. During the cancerogenesis a catabolic hormone production increases and the synthesis of anabolic hormones decreases. This results in disorders of carbohydrates, lipids and proteins metabolism. It seems, however, that the primary cause of disorders leading to cachexia is cytokine system. Increase in their concentration in blood serum was proved. Cancer cachexia is linked with IL-1, IL-6, TNF, IFN- α and IFN- γ . This cytokines cause among others, stimulatino of catabolism, inhibition of lipoprotein lipase, inhibition of appetite, increased energy consumption and increase level of acute phase protein synthesis.

Keywords: cachexia, cancer, cytokines

Karolina Okła¹, Artur Anisiewicz¹, Olga Słabczyńska¹, Justyna Semenik¹, Anna Wawruszak^{1,2}, Sylwia Katarzyna Król²

NIEALKOHOLOWA STŁUSZCZENIOWA CHOROBA WĄTROBY – CHARAKTERYSTYKA I STRATEGIE TERAPEUTYCZNE

1. Wprowadzenie

Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (ang. *nonalcoholic fatty liver disease* – NAFLD) jest najczęstszą postacią przewlekłego schorzenia wątroby występującą w krajach zachodnich (dotyka ona 30% całej populacji osób dorosłych). NAFLD jest ogólnym terminem obejmującym NAFL (ang. *nonalcoholic fatty liver*), NASH (ang. *nonalcoholic steatohepatitis*) i marskość NASH (ang. *NASH cirrhosis*) (Tab. 1.). Rosnąca epidemia otyłości i cukrzycy sprawia, że NAFLD staje się nowym globalnym problemem zdrowotnym. U większości pacjentów z NAFLD obserwuje się niepostępujące łagodne stłuszczenie wątroby, jednakże u około 20% może się ono rozwinąć w niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby, co w konsekwencji może prowadzić do marskości wątroby i rozwoju raka wątrobowokomórkowego (ang. *hepatocellular carcinoma*, HCC). W odróżnieniu od alkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby (ang. *alcoholic fatty liver disease* – AFLD), NAFLD nie jest spowodowane nadmiernym spożywaniem alkoholu (poniżej 30 g alkoholu/ dzień dla mężczyzn i 20 g alkoholu/ dzień dla kobiet) [1, 2].

Mimo licznych badań, etiopatogeneza niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby nie jest do końca poznana. Na uwagę zasługuje hipoteza dwóch uderzeń Day'a, w której zaproponowano dwuetapowy model rozwoju NAFLD. Cechą histologiczną NAFLD jest nadmierna akumulacja triacylogliceroli i diacylogliceroli w hepatocytach. Główne czynniki prowadzące do występowania zmian stłuszczeniowych w wątrobie takie jak otyłość i insulinooporność prowadzą do zwiększonej akumulacji wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) w wątrobie, co stanowi idealne środowisko dla rozwoju NAFLD. Generowanie przez uszkodzoną wątrobę toksycznych reaktywnych rodników tlenowych (ROS) w następstwie utleniania FFA, może ostatecznie prowadzić do inicjacji i progresji procesu zwłóknienia wątroby [3, 4].

¹ lolikik@o2.pl, a.anisiewicz@gmail.com, olgaslabczynska@gmail.com, semenikjustyna0804@gmail.com, Uniwersytet Marii Curie- Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii

² anna_wawruszak@interia.pl, sylwia_krol15@wp.pl, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Angiojęzycznym, Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej

Pomimo obiecujących wyników kilku badań pilotażowych, małych i średnich badań z randomizacją, obecnie nie ma środka farmakologicznego, który byłby idealny w leczeniu NAFLD. Jak do tej pory istnieją dwa główne rodzaje terapii tj. zmiana stylu życia (zmniejszenie masy ciała, odpowiednia dieta i aktywność fizyczna), która jest podstawą leczenia wszystkich pacjentów oraz terapie z zastosowaniem środków farmaceutycznych, dostosowanych do indywidualnych potrzeb każdego pacjenta. Leki zmniejszające masę ciała, obniżające poziom lipidów, zmniejszające insulinooporność, antyoksydanty, probiotyki, leki cytoochronne i inne wykazały obiecujące wyniki. Na szczególną uwagę zasługują również substancje pochodzenia naturalnego jak i microRNA jako nowy cel terapeutyczny w leczeniu NAFLD [1, 4, 5, 6, 7].

Na podstawie aktualnego stanu wiedzy, w niniejszym artykule, zostały omówione informacje z zakresu epidemiologii, czynników ryzyka i etiopatogenezy niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby, a następnie skupiono się na metodach leczenia stosowanych w NAFLD.

Tab. 1. Definicje jednostek chorobowych powiązanych z NAFLD [modyfikacja wg 1]

Termin	Definicja
Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (NAFLD)	Ogólny termin obejmujący różne choroby wątroby, w tym NAFL, NASH i marskość NASH. Nagromadzenie się tłuszczu powyżej 5% masy biopsji wątroby definiuje się jako infiltracja tłuszczu.
Niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NAFL)	Naciekanie tkanki tłuszczowej w wątrobie bez zwyrodnienia balonowego lub zwłóknienia.
Niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (NASH)	Naciekanie tłuszczu w wątrobie z objawami zapalenia związanego ze zwyrodnieniem balonowym; może pojawić się włóknienie.
Marskość NASH	Marskość wątroby, związana z histologicznymi cechami występującymi w NAFL/ NASH lub marskość wątroby występującą u pacjentów ze zdiagnozowanym wcześniej NAFL i NASH.

2. Epidemiologia

NAFLD jest jedną z najczęściej występujących przewlekłych chorób wątroby zarówno w krajach rozwiniętych jak i rozwijających się. NAFLD i NASH odnotowuje się we wszystkich grupach etnicznych, we wszystkich regionach świata, w każdym wieku i u obu płci. W badaniach nad częstością występowania NAFLD u osób dorosłych, w oparciu o aspekty histologiczne, stłuszczenie wątroby zaobserwowano u ~70% osób otyłych i ~35% osób szczupłych. Z kolei NASH stwierdzono u ~18,5% osób otyłych i ~2,7% szczupłych. W krajach zachodnich, NAFLD dotyka 20-35% osób dorosłych i 5-17% dzieci. Epidemia otyłości i cukrzycy doprowadziła do znacznego wzrostu częstości występowania NAFLD [6, 8, 9].

Pochodzenie etniczne stanowi istotny czynnik wpływający na częstość występowania NAFLD. Największe ryzyko zachorowania obserwuje się wśród Latynosów (45%), następnie wśród rasy kaukaskiej (33%) i u Afroamerykanów (24%). Różnice te mogą wynikać ze zróżnicowanej częstości występowania otyłości czy cukrzycy w danych grupach etnicznych, które stanowią główne czynniki ryzyka rozwoju NAFLD [10].

Kolejnym czynnikiem mającym znaczący wpływ na częstość występowania NAFLD jest płeć. Większość badań epidemiologicznych potwierdza prawie dwukrotnie większe ryzyko występowania NAFLD u mężczyzn niż u kobiet. W badaniach kontrolnych przeprowadzonych w Chinach z udziałem 26527 osób, badanie USG jamy brzusznej wykazało występowanie NAFLD u 31% mężczyzn i 16% kobiet. Podobne badania przeprowadzone wśród populacji indyjskiej potwierdziły zwiększone ryzyko zachorowania na NAFLD wśród mężczyzn (25%) w porównaniu z kobietami (14%). Badanie przeprowadzone w Dallas Heart Study wykazało występowanie NAFLD u 42% białych mężczyzn i 24 % białych kobiet. Badanie to, wykazało również, że płeć nie wpływa na częstości występowania NAFLD w grupie etnicznej Latynosów i Afroamerykanów. U pacjentów ze zdiagnozowanym NASH częstość występowania raka wątrobowokomórkowego, była również wyższa wśród mężczyzn (~62%) w porównaniu z kobietami (~38%). Zróżnicowanie w częstości występowania NAFLD w zależności od płci może być spowodowane estrogenami, które mogą zmniejszać ryzyko rozwoju NAFLD, odmienną dystrybucją tłuszczu, czy różnicami w stylu życia (wyższy współczynnik palenia papierosów wśród mężczyzn niż u kobiet) [10, 11].

NAFLD obserwuje się we wszystkich grupach wiekowych. Szczyt zachorowań u mężczyzn przypada na czwartą dekadę życia, natomiast u kobiet zazwyczaj jest to szósta dekada życia. Nieprawidłowa dieta, a w konsekwencji coraz częstsze występowanie epidemii otyłości wśród dzieci i młodzieży, sprawiło że NAFLD stała się również istotnym problemem pediatrycznym [10].

3. Czynniki ryzyka

Wysokie ryzyko występowania NAFLD związane jest ze stanami patologicznymi związanymi z insulinopornością, takimi jak otyłość, cukrzyca typu 2 czy zespół metaboliczny, a także z dodatnim bilansem energetycznym. Dostępne dane wskazują, że częstość występowania NAFLD prawdopodobnie przekroczy 65% w populacji chorych na cukrzycę typu 2 i będzie większa niż 90% w populacji osób chorobliwie otyłych. Cukrzyca typu 2 jest nie tylko czynnikiem ryzyka dla rozwoju NAFLD, ale również dla rozwoju marskości wątroby i raka wątrobowokomórkowego. Jednocześnie w badaniach przeprowadzonych w Korei Południowej wykazano, że NAFLD stanowi niezależny czynnik ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2. Częstość występowania cukrzycy typu 2 w grupie osób

z NAFLD wynosiła 9,9% w porównaniu z 3,7% w grupie osób zdrowych, co sugeruje, że NAFLD stanowi niezależny i addytywny czynnik rozwoju cukrzycy typu 2 u osób z insulinopornością [10, 12].

Na wystąpienie niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby mogą mieć wpływ także inne czynniki, jak wiek, płeć czy pochodzenie etniczne (Tab. 2.). W badaniach wykazano również związek między paleniem papierosów a zwiększonym ryzykiem występowania i przyspieszoną progresją NAFLD, a także powstawaniem zaawansowanego zwłóknienia wątroby [13, 14].

Coraz więcej uwagi poświęca się wpływowi czynników środowiskowych na choroby wątroby, w tym NAFLD. Badania sugerują, że zanieczyszczenie powietrza może nasilać negatywne skutki otyłości, insulinoporności oraz zespołu metabolicznego, a tym samym może mieć wpływ na rozwój NAFLD [13].

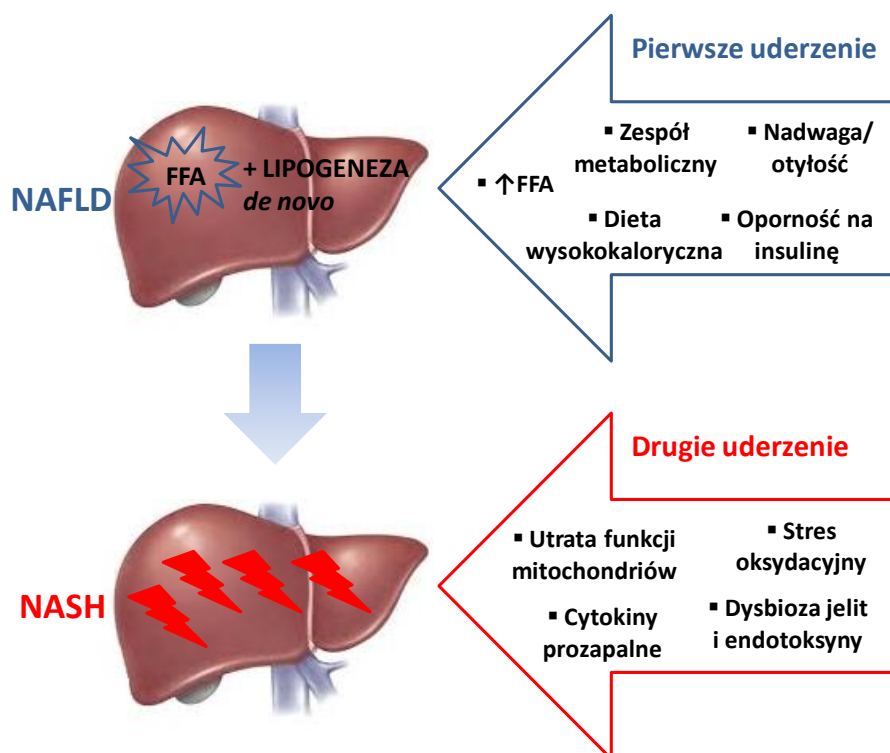
Tab. 2. Czynniki ryzyka związane z występowaniem NAFLD [modyfikacja wg 14]

Kliniczne czynniki ryzyka
• Otyłość
• Insulinoporność
• Cukrzyca typu 2
• Zespół metaboliczny (↑otyłość centralna, dyslipidemia, hipertriglicerydemia, nadciśnienie, stężenie glukozy na czczo)
• Choroby układu krążenia
• Choroby endokrynne (zespół policystycznych jajników, hipotyroidyzm, niedoczynność tarczycy, niedoczynność przysadki, hipogonadyzm)
• Choroby pęcherzyka żółciowego
• Resekcja dwunastnicy i trzustki
• Obturacyjny bezdech senny
• Głód/ niedożywienie
• Predyspozycje genetyczne
• Czynniki ryzyka związane ze stylem życia
• Demograficzne (↑wiek, pokrewieństwo pierwszego stopnia z osobami z otyłością i cukrzycą, płeć, pochodzenie etniczne)
• Kraje zachodnie
• Dieta (↑kalorie, ↑tłuszcze nasycone, ↑tłuszcze trans, ↓spożywanie kw. tłuszczowych n-3, witaminy D, owoców i warzyw)

4. Etiopatogeneza

Pomimo licznych badań etiopatogeneza NAFLD nie jest do końca poznana. Na szczególną uwagę zasługuje hipoteza dwóch uderzeń według Day'a (Rys. 1.). Pierwsze uderzenie związane jest z obwodową opornością na insulinę, co prowadzi do akumulacji tłuszczu w hepatocytach oraz zwiększoną peroksydację lipidów. Towarzysząca otyłości hiperinsulinemia wraz z insulinopornością, mogą prowadzić do stłuszczenia wątroby poprzez zwiększenie wychwytu całkowitych wolnych kwasów tłuszczowych (FFA),

estryfikację wątrobowych FFAs do triglicerydów (TG), syntezę FFA z substratów cytoplazmatycznych oraz obniżenie syntezy apolipoproteiny B-100 (ApoB-100). W kolejnym etapie, następuje zmniejszenie eksportu FFA oraz TGA, natomiast zwiększa się β -oksydacja długich łańcuchów kwasów tłuszczowych. Funkcjonalna niewydolność mitochondrialnego systemu β -oksydacji prowadzi do lipogenezy *de novo*, a w konsekwencji do stresu oksydacyjnego. Drugie uderzenie, wywołane przez stres oksydacyjny zdaje się wyjaśniać inicjację i progresję NAFLD w kierunku zwłóknienia wątroby. Reaktywne formy tlenu (ROS) mogą wywoływać uszkodzenia komórek wątroby przez hamowanie mitochondrialnego łańcucha oddechowego, inaktywację dehydrogenazy gliceraldehydo-3-fosforanowej oraz inaktywację błonowych kanałów sodowych. Ponadto ROS powodują peroksydację lipidów, wytwarzanie cytokin oraz indukują ligand Fas, co przyczynia się do uszkodzenia wątroby i jej zwłóknienia [15-17].



Rys. 1. Hipoteza dwóch rzutów [modyfikacja wg 15]

Powszechnie uważa się, że kluczową rolę w patogenezie NAFLD odgrywa trzewna tkanka tłuszczowa, ponieważ bierze ona udział w produkcji większości adipokin (rezystyna, leptyna, adiponektyna, apelina, waspina, wisfatyna), cytokin (czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- α), IL-1 β , -6, -8, -18) oraz inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1). Ponadto, angiotensynogen może również odgrywać rolę w patogenezie NASH [15, 17].

Główną funkcją leptyny, nazywanej hormonem sytości jest regulowanie apetytu oraz metabolizmu. Najbardziej otyli ludzie wykazują wysoki poziom leptyny, co wiąże się z leptynoopornością. Z kolei adiponektyna, wykazuje specyficzne działanie przeciwzapalne oraz właściwości zmniejszające insulinooporność. Badania wykazały odwrotną zależność między stężeniem adiponektyny w osoczu a otyłością, opornością na insulinę oraz odkładaniem się tłuszczu w wątrobie. Inna z adipokin rezystyna hamuje działanie insuliny, powodując nietolerancję glukozy. Niedobór rezystyny u zwierząt stanowi czynnik ochronny przed otyłością, podczas gdy jej podwyższona wartość związana jest z insulinoopornością. Zarówno TNF- α jak i IL-6 wykazują pozytywną korelację z otyłością, insulinoopornością oraz chorobami sercowo-naczyniowymi (CVD). Pośrednio uczestniczą również w lipolizie i zwiększeniu syntezy kwasów tłuszczowych w wątrobie. Rozregulowanie działania adipokin i cytokin powoduje rozwój insulinooporności, stłuszczenia wątroby oraz progresję w kierunku NASH [16, 18, 19].

4.1. Predyspozycje genetyczne

Specyficzne zmiany genetyczne odgrywają ważną rolę w patogenezie NAFLD i mogą one wyjaśniać zależność między chorobą a pochodzeniem etnicznym, wpływem środowiska czy innymi czynnikami predysponującymi do rozwoju NAFLD. Szacuje się, że czynniki genetyczne wpływają na rozwój NAFLD u 26-35 % pacjentów z tą chorobą. Schwimmer i wsp. udokumentowali rodzinne występowanie NAFLD [9]. W dodatkowych badaniach oszacowano, że czynnik dziedziczenia dla NAFLD wynosi 0,27. Romeo i wsp. zidentyfikowali jedną z najbardziej znaczących mutacji genetycznych dla NAFLD. Mutacja zmiany sensu rs738409 C/G polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP), powoduje zamianę aminokwasu izoleucyny (I) na metioninę (M) w pozycji 148 (I148 M) genu adiponutryny [20]. Sookoian i Pirola udokumentowali, że allel rs738409 CG jest najczęstszym wariantem genu obecnym u osób z NASH. Częstość występowania NASH była znacznie zwiększona u homozygot GG w porównaniu do osób z normalnym genotypem CC. Allel G związany jest ze zwiększonym ryzykiem akumulacji triglicerydów w wątrobie oraz z powstawaniem NAFLD. Homozygoty GG wykazują 73% większą zawartość lipidów w wątrobie w porównaniu do osób posiadających dziką wersję genotypu CC [20-22].

Allel G jest bardziej rozpowszechniony w populacji latynoskiej (49%), w porównaniu z innymi grupami etnicznymi, co może wyjaśniać, dlaczego właśnie w tej grupy etnicznej częstość występowania NAFLD jest najwyższa. Znacznie niższą częstość występowania allelu G obserwuje się u osób rasy kaukaskiej (23%) i u Afroamerykanów (17%). Inny wariant tego samego genu, PNPLA3 – S453I, który jest najczęściej obserwowany wśród Afroamerykanów (10,4%), natomiast rzadko w innych populacjach, wiąże się ze znacznie mniejszą zawartością tłuszczu w wątrobie i może być czynnikiem ochronnym rozwoju NAFLD w tej grupie etnicznej [22].

Inne czynniki genetyczne, potencjalnie zaangażowane w patogenezę NAFLD i jej progresję to m.in. HNF4A, gen związany z cukrzycą typu 2, powiązany z utlenianiem lipidów oraz liczne warianty genetyczne CYP4F2, które stanowią czynnik predykcyjny w odpowiedzi na różne metody leczenia pacjentów z NAFLD [23].

4.2. Mikroflora jelitowa

Ostatnie wyniki badań wskazują, że otyłość i NAFLD/ NASH mogą być związane ze szczególną odmianą mikroflory jelitowej (ang. *intestinal microbiota*- IM). Wykazano różnice w składzie flory bakteryjnej jelit między osobami szczupłymi a otyłymi. Badania te sugerują, że specyficzne bakterie jelitowe mogą przyczyniać się do patogenezы otyłości i w rezultacie wiązać się z rozwojem NAFLD. Mouzaki i wsp. wykazali unikalność IM pacjentów z NASH. W badaniach potwierdzono znacznie wyższą liczbę bakterii *Escherichia coli* i *Staphylococcus* w próbkach kału od pacjentów z encefalopatią i marskością wątroby w porównaniu z grupą kontrolną [24].

Bilion mikroorganizmów zamieszkujących ludzkie jelita i stanowiące mikroflorę jelitową mogą wykazywać dwojaki wpływ na czynność wątroby. Produkty fermentacji, takie jak etanol, amoniak i aldehyd octowy wytwarzane przez mikroflorę jelitową metabolizowane są w wątrobie. Ponadto lipopolisacharyd (LPS), uwalniany po śmierci z bakterii Gram- ujemnych jako endotoksyna bakteryjna i transportowany przez TLR4 (ang. *toll- like receptor 4*), indukuje powstawanie oraz wydzielanie cytokin z wątroby. Sugeruje się, że uszkodzenie wątroby i zwłóknienie może być częściowo spowodowane ekspozycją na produkty bakteryjne, takie jak LPS. Komórki gwiaździste, które posiadają TLR4, w odpowiedzi na LPS wytwarzają cytokiny prozapalne i chemokiny, a także pobudzają proces zwłóknienia. Ponadto wykazano, że niedobór MD-2 (ang. *myeloid differentiation factor-2*), koreceptora TLR4, wpływającego na jego ekspresję, może łagodzić stany zapalne i zwłóknienie wątroby u myszy z NASH [25].

4.3. miRNAs

Badania przeprowadzone na modelach *in vitro* jak i *in vivo* wykazały, że miRNA (mikro RNA) zaangażowane jest nie tylko w regulację wzrostu komórek i ich różnicowanie, lecz także w kontrolę energii i metabolizmu wątroby. Ponadto, są one zaangażowane w stres retikulum endoplazmatycznego, stres oksydacyjny, stan zapalny i apoptozę. Odmienne profile ekspresji miRNA stwierdzono w wielu schorzeniach związanych z zaburzeniami metabolicznymi, takimi jak otyłość, miażdżycza czy cukrzyca. Ostatnie badania sugerują, że różnica w ekspresji różnych miRNAs może wpływać na deregulację fizjologicznych szlaków metabolicznych związanych z insulinopornością oraz metabolizmem lipidów i glukozy, mających wpływ na patogenezę i rozwój NAFLD [7, 26, 27].

Cheung i wsp. analizowali profile ekspresji miRNA w wątrobie u pacjentów z zespołem metabolicznym, u osób zdrowych oraz osób z NASH. Wyniki badań, wykazały, że 46 z 474 ludzkich miRNA posiadają różną ekspresję u pacjentów z NASH. Spośród nich, miR- 34a i miR- 146b wykazywały znacznie zwiększoną ekspresję w wątrobie, podczas gdy u 63 % tych samych pacjentów ekspresja miR-122 była znacznie zmniejszona (Tab. 3). W badaniach wykazano, że miR-34a zaangażowany jest w regulację fosforylacji reduktazy HMGCoA (reduktaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A). Mechanizm działania miR-34a, polega na hamowaniu sirtuiny 1 (SIRT-1), co prowadzi do defosforylacji kinazy białkowej aktywowanej monofosforanem adenozy (AMPK), a w konsekwencji do zmniejszenia fosforylacji reduktazy HMGCoA. Zarówno defosforylacja jak i zwiększona ekspresja reduktazy HMGCoA powoduje rozregulowanie metabolizmu i syntezy cholesterolu, co wpływa na przebieg i ciężkość NAFLD/ NASH [7].

Tab. 3. Ekspresja różnych miRNAs w NAFLD/ NASH [modyfikacja wg 7]

	Model ludzki		Model myszy/ szczurzy	
	Zwiększenie ekspresji miRs	Zmniejszenie ekspresji miRs	Zwiększenie ekspresji miRs	Zmniejszenie ekspresji miRs
NAFLD/ NASH	10b, 16, 29c, 33, 34a, 122 (w obiegu), 146b	99b, 122 (wątroba), 132, 150, 511a	Myszy: 34a, 155, 200b, 214-5p, 221 Szczury: 16, 10b, 29c, 33, 34a, 122, 200a/b, 429	Myszy: 29c, 122, 192, 203, 467b, 216, 302a Szczury: 27, 29b, 122, 203, 451

MiR-34a okazał się jednym z najważniejszych miRNAs, wpływającym na specyficzne cechy patomorfologiczne i ich nasilenie w NAFLD. Aktywacja szlaku miR-34a/SIRT1/p53 wykazuje pozytywną korelację ze stopniem rozwoju choroby od prostego stłuszczenia wątroby do surowszego w przebiegu NASH.

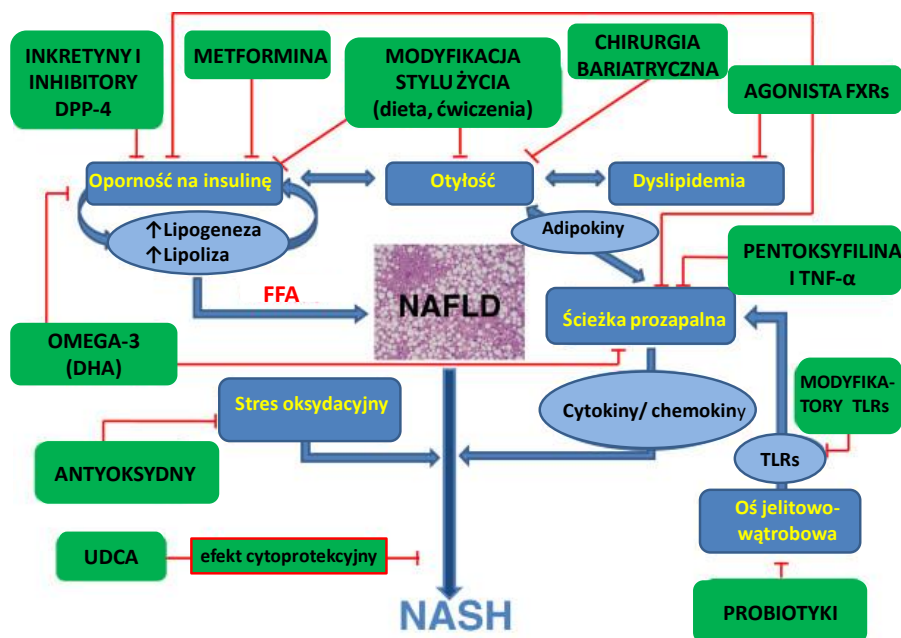
MiR-34a, hamując SIRT-1, prowadzi do wzrostu acetylacji p53 i transkrypcji, prowadząc do ekspresji genów proapoptotycznych, a następnie do apoptozy. Badania sugerują, że miR-34a może stanowić regulator apoptozy hepatocytów, jak i nowy cel terapeutyczny w leczeniu NAFLD [28].

W wielu badaniach przeprowadzonych na modelach zwierzęcych wielokrotnie potwierdzono korelację pomiędzy profilem ekspresji różnych miRNA a konkretnym stadium choroby NAFLD [7].

5. Strategie terapeutyczne

W ostatnich latach przedstawiono wiele różnych strategii terapeutycznych, z których żadna, jak dotychczas, nie okazała się w pełni skuteczna. Pierwszym krokiem w terapii NAFLD jest zmiana stylu życia polegająca na zastosowaniu odpowiedniej diety oraz ćwiczeń fizycznych zmniejszających otyłość. Skuteczność takiego postępowania nie jest zadowalająca, dlatego też konieczne stało się leczenie farmakologiczne. Leki zmniejszające masę ciała, obniżające poziom lipidów, zmniejszające insulinooporność, antyoksydanty, probiotyki, leki hepatoprotective i inne wykazały obiecujące wyniki (Rys. 2).

Na szczególną uwagę zasługują również substancje pochodzenia naturalnego oraz microRNA jako nowy cel terapeutyczny w leczeniu NAFLD.



Rys. 2. Strategie terapeutyczne stosowane w leczeniu NAFLD/ NASH [modyfikacja wg 29]

5.1. Zmiana stylu życia: zmniejszenie masy ciała, dieta, aktywność fizyczna

Pierwszym krokiem w leczeniu NAFLD jest modyfikacja stylu życia, oparta przede wszystkim na redukcji masy ciała, zwiększeniu aktywności fizycznej i zastosowaniu odpowiedniej diety. Wykazano, że stopniowy spadek masy ciała (5% -10%), ograniczenie kalorii w diecie i regularne ćwiczenia fizyczne mogą prowadzić do poprawy profilu enzymów wątrobowych i zmniejszenia stłuszczenia. W szczególności, zmniejszenie masy ciała >5% wiązało się ze zmniejszeniem stłuszczenia wątroby i sercowo-metabolicznych czynników ryzyka, natomiast redukcja >7% może wpływać na poprawę stanu zapalno-martwiczego wątroby. Przeciwnie, bardzo szybki spadek masy ciała (większy niż 1,6 kg/tydzień) nie wpływa korzystnie, ponieważ sprzyja to ogromnej mobilizacji tłuszczu trzewnego, który dostaje się bezpośrednio do wątroby przez żyłę wrotną. Ekstremalne diety odchudzające mogą prowadzić do wystąpienia poważnych zaburzeń metabolicznych i dodatkowo promować uszkodzenia wątroby [1, 2, 4, 10, 30].

Stała aktywność fizyczna wpływa korzystnie na zaburzenia metaboliczne związane z NAFLD. Zmniejszenie stłuszczenia wątroby spowodowane jest aktywacją AMPK. Wyśilek fizyczny (aerobik), zwiększa wrażliwość na insulinę a także poprawia wykorzystanie substratów w mięśniach. Zgodnie z zaleceniami AHA (ang. *American Heart Association*) optymalna dieta powinna składać się w 40%-50% z węglowodanów, 15%-20% z białka oraz od 25% do 40% z kwasów tłuszczowych, przede wszystkim nienasyconych. Inna kompozycja składników odżywczych w diecie może jednak zapewnić dodatkowe korzyści. Ostatnie badania wykazały rolę cholesterolu, nasyconych kwasów tłuszczowych oraz nadmiaru fruktozy w patogenezie NAFLD. W przeciwieństwie do glukozy, spożywanie fruktozy nie powoduje wydzielania leptyny, a co za tym idzie odczuwania uczucia sytości. Ponadto fruktoza zwiększa lipogenezę *de novo*, dlatego też należy unikać wysoko-fruktozowych syropów kukurydzianych, a także słodkich napojów zawierających fruktozę [1, 17].

Należy również podkreślić, że nie tylko ilość ale również jakość spożywanej żywności ma znaczenie. Ponieważ pacjenci z NAFLD często wykazują zwiększony poziom trójglicerydów w osoczu, hiperglikemię oraz hiperinsulinemię, powinni oni przestrzegać diety niskowęglowodanowej z wyłączeniem cukrów prostych. Podobnie u pacjentów z hipercholesterolemią, zaleca się dietę hipolipidową z wyłączeniem tłuszczów nasyconych. Zachęca się do spożywania warzyw i owoców, natomiast odradza się spożywanie napojów alkoholowych. Należy również unikać palenia tytoniu, aby zmniejszyć ryzyko choroby naczyń wieńcowych związanej z NAFLD. Zarówno utrata wagi, jak i ćwiczenia fizyczne przyczyniają się do wzrostu poziomu adiponektyny i zmniejszenia poziomu leptyny, poprawiając tym samym wrażliwość na insulinę u osób otyłych [1, 3].

Orlistat i sibutramina należą do medykamentów zatwierdzonych przez FDA (ang. *Food and Drug Administration*), stosowanych w leczeniu zmniejszenia masy ciała. Orlistat, odwracalny inhibitor lipazy żołądkowej i trzustkowej, zapobiega wchłanianiu triglicerydów z diety, co przyczynia się do utraty wagi. Niestety jego stosowanie jest utrudnione ze względu na wiele skutków ubocznych ze strony przewodu pokarmowego [2].

W diecie osób z NASH zidentyfikowano niski stosunek wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) n-3/n-6. Dieta z dodatkiem PUFA okazała się mieć korzystny wpływ zarówno na lipogenezę, jak i na stłuszczenie wątroby. Zwiększenie spożywania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 prowadzi do polepszenia metabolizmu lipidów w wątrobie zmniejszając jej stłuszczenie [3].

Niestety, u wielu pacjentów modyfikacja stylu życia nie jest w pełni skuteczną metodą leczenia, a utrzymanie jej w perspektywie długoterminowej często staje się dużym wyzwaniem, dlatego też niezbędne jest poszukiwanie nowych strategii terapeutycznych. Ciekawym rozwiązaniem może być tzw. "platforma e-zdrowia" (ang. "*e-health platforms*"). Ma ona na celu poprawę przestrzegania leczenia, a także promowanie mechanizmów samokontroli pacjentów, w celu utrzymania uzyskanego spadku wagi, jak i zapobiegania nawrotom choroby poprzez nabycie zdrowych nawyków w stylu życia [29].

5.2. Leki zmniejszające insulinooporność

Metformina należy do biguanidyn i jest lekiem pierwszego rzutu stosowanym u pacjentów z cukrzycą typu 2. Wykazuje ona korzystny wpływ na metabolizm glukozy i lipidów. Na poziomie cząsteczkowym, metformina hamuje mitochondrialny łańcuch oddechowy, powodując przejściowe zmniejszenie stanu energetycznego komórek, a w konsekwencji aktywację AMPK, kluczowego regulatora metabolizmu glukozy i lipidów. Wynikiem aktywacji AMPK, jest hamowanie glukoneogenezy, lipogenezy, zwiększenie wychwytu glukozy w mięśniach oraz zwiększone utlenianie kwasów tłuszczowych w wątrobie i tkance tłuszczowej. Metformina hamuje także lipolizę i moduluje syntezę i/ lub wydzielanie adipokin w tkance tłuszczowej [1, 4, 10].

Tiazolidynodiony (TZD), doustne leki cukrzycowe, obejmują troglitazon, rozyglitazon i pioglitazon. Pierwsze dwa TZD zostały wycofane z rynku ze względu na ich znaczące skutki uboczne, podczas gdy pioglitazon jest obecnie dostępny do stosowania klinicznego u ludzi. TZDs działają jako agoniści receptora aktywowanego proliferatorami peroksosomów (PPAR γ). PPAR γ należą do nadrodziny receptorów jądrowych i są czynnikami transkrypcyjnymi aktywowanymi ligandem, wykazującymi wysoką ekspresję w komórkach tłuszczowych. Głównym zadaniem TZD jest zwiększenie wrażliwości na

insulinę we wszystkich komórkach ciała, chroniąc tkanki przed nadmierną ilością lipidów oraz utrzymując równowagę w wydzielaniu adipocytokin. Ponadto TZD aktywuje AMPK i osłabia lipolizę, poprzez zahamowanie translokacji lipazy wrażliwej na hormony (HSL) do kropli lipidowych [1].

Do nowszych leków w tej klasie należą agoniści receptora GLP-1 oraz inhibitory DPP-4. Glukagonopodobny peptyd- 1 oraz glukonozależny peptyd insulinotropowy (GIP) należą do inkretyn, które uwalniane są w przewodzie pokarmowym w odpowiedzi na składniki odżywcze, a zwłaszcza glukozę. Główną rolą inkretyn jest zwiększenie wydzielania insuliny w sposób zależny od glukozy. Hamują one również wydzielanie glukagonu, co z kolei przyczynia się do obniżenia wytwarzania glukozy w wątrobie. Ponadto GLP-1 spowalnia opróżnianie żołądka i zmniejsza apetyt, prowadząc ostatecznie do utraty wagi. Co ważne, hamuje on również lipogenezę w wątrobie przez aktywację szlaku AMPK oraz gromadzenie się w wątrobie, tłuszczu i składników odżywczych, wywołujących reakcje prozapalne. GLP-1 ma krótki okres półtrwania (1-2 min), ze względu na szybki rozkład przez enzymy DPP-4. Dwa mimetyki inkretyny: eksenatyd i liraglutyd, są obecnie stosowane w terapii cukrzycy typu 2. Leki te są analogami GLP-1, wykazującymi oporność na degradację przez DPP-4 i mają dłuższym okresie półtrwania [12].

Inhibitory DPP-4, stosuje się do leczenia cukrzycy typu 2 ze względu na ich zdolność do zwiększania okresu półtrwania GLP-1. Kilka inhibitorów DPP-4, takich jak alogliptyny, saksagliptyna, sitagliptyny i wildagliptyny są dostępne klinicznie. DPP-4 należy do wszechobecnych enzymów. Ulega ekspresji we wszystkich narządach, w tym w jelicie cienkim, drogach żółciowych, trzustce, śledzionie czy mózgu. Ta powszechna dystrybucja wielonarządowa wskazuje na wiele działań biologicznych DPP-4, w tym na metabolizm glukozy, motorykę przewodu pokarmowego, regulowanie apetytu i stanu zapalnego, a także funkcjonowanie układu odpornościowego i nerwowego. Wątroba wyraża wysoki poziom ekspresji DPP-4, która jest znacznie zwiększona u pacjentów z NAFLD, w porównaniu z osobami zdrowymi [12, 30]

5.3. Antyoksydanty

Stres oksydacyjny jest uważany za jeden z najważniejszych czynników przyczyniających się do progresji choroby od prostego stłuszczenia do NASH. Alfa- tokoferol (witamina E) jest najintensywniej badanym przeciwutleniaczem w NAFLD. Witamina E hamuje stres oksydacyjny, działając zarówno jako zmiatacz wolnych rodników, jak i zmniejszając profibrotyczną aktywność wątroby. Badania potwierdziły obniżenie aktywności aminotransferaz w surowicy krwi, zmniejszenie stłuszczenia i zapalenia wątroby w NASH [2, 3, 30].

Kilka innych przeciwutleniaczy, takich jak N-acetylocysteina (prekursor glutationu), betaina, probukol (środek antyhiperlipidemiczny), viusid, czy sylibinina było badanych u osób z NASH, natomiast trudno jest ustalić ich potencjalne korzyści terapeutyczne [1].

6. Leki hepatoprotekcyjne

Kwas ursodeoksycholowy (UDCA) należy do hepatoprotekcyjnych farmaceutyków szeroko stosowanych w praktyce klinicznej w leczeniu ostrych i przewlekłych chorób wątroby. UDCA, naturalny hydrofilowy kwas żółciowy, znany jest z właściwości przeciwzapalnych, anty-apoptotycznych, a także immunomodulacyjnych, zapobiegając w ten sposób progresji NAFLD. Połączenie UDCA i witaminy E spowodowało normalizację poziomu aminotransferazy asparaginianowej (AST) i aminotransferazy alaninowej (ALT), a także znaczną poprawę wyglądu histologicznego wątroby. Niezbędne są jednak dalsze badania, na dużą skalę, aby ocenić skuteczność zastosowania terapii skojarzonej (UDCA/witamina E) w leczeniu NAFLD/NASH [1].

6.1. Probiotyki i prebiotyki

Coraz więcej badań wskazuje, że mikroflora jelitowa kontroluje otyłość brzuszną oraz odkładanie się tłuszczu w tkankach. Zespół przerostu flory bakteryjnej jelita cienkiego (ang. *small intestinal bacterial overgrowth syndrom* – SIBO) (charakteryzujący się wzrostem ilości i/lub nietypowym rodzajem bakterii w jelicie cienkim, występujący często u osób otyłych) może przyczyniać się do progresji NAFLD w NASH poprzez zwiększanie przepuszczalności jelitowej oraz nasilenie absorpcji endotoksyn o działaniu prozapalnym i profibrogennym dla wątroby [25].

Probiotyki to żywe mikroorganizmy, które po spożyciu w odpowiedniej ilości, mają korzystny wpływ na zdrowie gospodarza. Loguercio i wsp. wykazali, że probiotyki mogą zmniejszać uszkodzenia wątroby spowodowane NAFLD, a także poprawiać wyniki prób wątrobowych. Wykazano, że leczenie z zastosowaniem 500 milionów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermofiles*/ dobę u dorosłych z NAFLD powoduje zmniejszenie poziomu transaminaz wątrobowych [25, 29].

Prebiotyki to nie podlegające trawieniu substancje, które korzystnie wpływają na zdrowie gospodarza poprzez stymulację wzrostu i/lub modyfikację aktywności metabolicznej wybranych bakterii jelitowych. Dzięki zmniejszeniu ryzyka otyłości oraz zmianie składu flory bakteryjnej w jelitach, stosowanie prebiotyków może być korzystne w leczeniu NAFLD. Badania na otyłych szczurach wykazały, że włókna prebiotyczne poprawiały lub normalizowały dysbiozę zwiększając liczbę bakterii *Firmicutes* i zmniejszając *Bacteroidetes phylae*. Modulowanie mikroflory jelitowej wpływa na metabolizm glukozy, insuliny, hormonów sytości, cholesterolu w wątrobie, a także akumulację triglicerydów [29].

6.2. Chirurgia bariatryczna

Chirurgia bariatryczna jest skuteczna w redukcji masy ciała (48-70%) dla osób, u których modyfikacja stylu życia oraz leczenie farmakologiczne są nieskuteczne. Wykazano znaczną poprawę lub całkowite ustąpienie stłuszczenia w 92% pacjentów po zabiegu; 82% pacjentów wykazało poprawę histologicznych cech charakterystycznych dla NASH, z kolei u 66% zaobserwowano regresję włóknienia wątroby. Przy ocenie tych korzystnych zmian po zastosowaniu chirurgii bariatrycznej, należy również podkreślić, że w niektórych przypadkach, nastąpiła progresja zwłóknienia, a w rzadkich przypadkach (w pierwszym roku po operacji), pojawiała się również stłuszczenie, spowodowane prawdopodobnie nadmierną utratą wagi po operacji [1, 3].

Niezbędne są dalsze badania dotyczące bezpieczeństwa i długoterminowej skuteczności chirurgii bariatrycznej, a także wyeliminowania ewentualnych przeciwwskazań w leczeniu NAFLD/NASH.

6.3. Antagoniści szlaku TNF- α

TNF- α oraz inne adipocytokiny produkowane przez tkankę tłuszczową zaangażowane są w progresję NAFLD. Pentoksyfilina, inhibitor fosfodiesterazy posiada modulujące właściwości poprzez antagonistyczne działanie na szlak TNF- α . Pentoksyfilina zapobiega uszkodzeniu wątroby spowodowanym przez utlenione produkty lipidowe, na drodze spowolnienia utleniania tłuszczów. U dorosłych z NASH, leczenie pentoksyfiliną było dobrze tolerowane i powodowało zmniejszenie poziomu ALT i AST w surowicy, poprawę cech histologicznych wątroby a także zmniejszenie insulinooporności [31].

6.4. Agoniści receptora farnesoidowego X (FXR)

Jądrowy farnesoidowy receptor X (FXR) ulega silnej ekspresji w jelicie i wątrobie. Prawdopodobnie zaangażowany jest on w patogenezę NAFLD, poprzez pośredniczenie w kontroli homeostazy glukozy i lipidów oraz kontrolowanie rozwoju flory bakteryjnej [32].

Kwas obeticholowy (OCA), półsyntetyczna pochodna kwasu chenodeoksycholowego, jest naturalnym agonistą receptora farnesoidowego. W badaniach na zwierzętach wykazano, że OCA zmniejsza insulinooporność oraz poziom markerów stanu zapalnego i zwłóknienia wątroby u pacjentów z cukrzycą typu 2 i NAFLD. Opracowanie nowych agonistów FXR może wyznaczać nowy kierunek terapii NAFLD/NASH [33].

6.5. Modyfikatory TLRs

Receptory TLR są wrażliwe na składniki mikrobiologiczne mikroflory jelit. Zespół przerostu flory bakteryjnej jelita cienkiego (SIBO) i zwiększona

przepuszczalność jelit może mieć wpływ na patogenezę NAFLD poprzez zwiększoną ekspozycję lipopolisacharydu i innych cząsteczek związanych z patogenami. Ponadto stymulacja TLR powoduje dalszą aktywację odpowiedzi zapalnej oraz wytwarzanie cytokin i chemokin zaangażowanych w powstawanie kolejno prostego stłuszczenia, stanu zapalnego i włóknisto-marskości wątroby.

Blokowanie sygnalizacji TLR oraz kontrola ligandów dla tego receptora, może stać się potencjalnym celem w leczeniu NAFLD/NASH [34].

6.6. Kawa

Kawa jest złożoną mieszaniną ponad 1000 związków, a jej głównymi składnikami są: kofeina, kafestol i kahweol oraz kwasy chlorogenowe. Liczne badania wykazały, że picie kawy wykazuje korzystny wpływ na NAFLD. Ochronne właściwości kawy wynikają z faktu, że kofeina modyfikuje szlak sygnałowy TGF- β , poprzez zwiększenie poziomu białka Smad, co z kolei hamuje transkrypcję czynnika wzrostu tkanki łącznej (ang. *connective tissue growth factor*- CTGF), należącego do ważnych stymulatorów zwłóknienia. Molloy i wsp. wykazali odwrotną zależność pomiędzy regularnym spożywaniem kawy zawierającej kofeinę a zwłóknieniem wątroby u pacjentów z NASH. Dodatkowe badania wykazały, że kawa indukuje UDP- glukuronylotransferazy, które mogą być odpowiedzialne za ochronne i antyoksydacyjne działanie kawy u osób z chorobą wątroby. Uznaje się, że regularne picie kawy stanowi niezależny ochronny czynnik przeciwko NASH, zmniejszając zapalenie i zwłóknienie wątroby u chorośliwie otyłych pacjentów z NAFLD lub NASH. W przeciwieństwie do zwykłej kawy, ten korzystny efekt nie był obserwowany w przypadku espresso. Podobne działanie ochronne kawy przed zapaleniem i zwłóknieniem wątroby wykazano u pacjentów z wirusowym zapaleniem wątroby typu C [3, 35].

6.7. Antagoniści receptora endokannabinoidowego

Szlak endokannabinoidowy odgrywa istotną rolę w regulacji apetytu i masy ciała, metabolizmie lipidów w wątrobie a także zwłóknieniu. Endokannabinoidowe receptory-1 (CB-1) ulegają nadekspresji w NASH, co sugeruje bezpośredni udział systemu endokannabinoidowego w regulacji metabolizmu hepatocytów. Rimonabant, bloker CB-1 zastosowany u otyłych szczurów z NASH doprowadził do poprawy profilu lipidowego oraz zmniejszenia stłuszczenia i zwłóknienia wątroby. Depresja i lęk były częstym skutkiem ubocznym stosowania tego leku, co doprowadziło do jego wycofania. Obecnie, obszarem intensywnych badań są antagoniści receptora CB-1 [4].

6.8. Leki obniżające poziom lipidów we krwi

Pochodne kwasu fibrynowego, takie jak kłofibrat, są stosowane do leczenia hipertriglicerydemii, hipercholesterolemii i hiperlipidemii mieszanej. Fibraty mogą regulować poziom aminotransferaz w surowicy, co może mieć pozytywny wpływ na NAFLD. Statyny są stosunkowo bezpiecznymi lekami, a ich działanie polega na normalizacji poziomu aminotransferaz w surowicy, a także korzystnym wpływie na stan zapalny i nekrozę. Z kolei PUFA poprawiają biochemiczne i ultrasonograficzne cechy stłuszczenia wątroby. Leczenie NAFLD za pomocą suplementacji olejem z ryb wzbogaconym kwasami tłuszczowymi omega-3, sugeruje, występowanie odwrotnej zależności między ilością spożywanego oleju z ryb a ryzykiem rozwoju NAFLD [1,17].

6.9. miRNA

Zaburzenia w ekspresji miRNA mogą wpływać na rozmaite aspekty szlaków metabolicznych, w szczególności w odniesieniu do metabolizmu lipidów i glukozy, stresu oksydacyjnego, zapalenia czy apoptozy. Ponadto, innym istotnym aspektem jest to, że obecność w surowicy pewnych specyficznych dla wątroby miRNA może być wykorzystywane w diagnostyce klinicznej NAFLD oraz określenia stopnia jej zaawansowania. Co więcej, niektóre miRNA mogą stać się potencjalnym celem w leczeniu NAFLD [7].

W szczególności, specyficzny dla hepatocytów miR-122, który stanowi około 70% całkowitego miRNA wątroby jest pierwszym, który został szeroko powiązany z kontrolą homeostazy metabolicznej w wątrobie, pełniąc rolę w metabolizmie lipidów, cholesterolu i modulując syntezę FA w wątrobie. W związku z tym pierwsze badania związane były z zastosowaniem techniki antysensownej regulacji (antagomiry lub oligonukleotydy antysensowne), obniżającej ekspresję miR-122. Zahamowanie ekspresji miR-122 u myszy, spowodowało wzrost utleniania FA (ang. *fatty acid*) w wątrobie oraz obniżenie poziomu cholesterolu w surowicy. Podobne wyniki badań *in vivo* zaobserwowano również u innych naczelnych, co daje nadzieję na opracowanie nowych, skuteczniejszych metod terapeutycznych. MiR-33a/b to intronowy miRNA zlokalizowany w obrębie genów dla steroli SREBP-2 i SREBP-1, uczestniczących w metabolizmie cholesterolu i FA. SREBP-2 kontroluje syntezę cholesterolu i jego pochłanianie, zaś SREBP-1 reguluje geny zaangażowane w biosyntezę FA. Zwiększona aktywność SREBP może spowodować akumulację cholesterolu i FA. Zahamowanie ekspresji miR-33 u zwierząt naczelnych spowodowało zwiększony poziom HDL w osoczu. Z kolei nadekspresja miR-33a/b wiąże się z redukcją utleniania FA, co powoduje akumulację triglicerydów w ludzkich komórkach wątroby. Nadekspresja miR-33 spowodowała również zmniejszenie szlaku sygnalizacji insuliny, a tym samym obniżenie aktywacji innych cząsteczek jak Akt i ER. Mając na uwadze kluczową rolę miRNA jako swoistych biosensorów homeostazy metabolizmu lipidów i sygnalizacji insuliny, możliwe jest, że miR-33, miR-122 i inne liczne miRs mogą stać się obiecującym narzędziem molekularnym w opracowaniu nowych strategii terapeutycznych [26, 27, 28].

6.10. Substancje pochodzenia naturalnego

W ostatnich latach szczególnym zainteresowaniem cieszą się substancje pochodzenia roślinnego, które mogą być wykorzystane w terapii NAFLD. Są one powszechnie dostępne na całym świecie, a ze względu na swoje naturalne pochodzenie wykazują niskie lub minimalne skutki uboczne [6].

Sylimaryna jest lipofilowym ekstraktem o właściwościach przeciwutleniających uzyskany z nasion rośliny o nazwie ostropest plamisty (łac. *Silybum marianum*). Stosowanie sylimaryny u pacjentów z chorobą wątroby jest popularne, ponieważ jest to substancja naturalna i jak do tej pory nie obserwowano skutków ubocznych jej działania. Terapia skojarzona z zastosowaniem sylibiny, witaminy E i fosfolipidów spowodowała zmniejszenie masy ciała, zwiększenie insulino-wrażliwości, obniżenie markerów procesu zapalnego w surowicy, a także poprawę obrazu histologicznego wątroby [36].

Betaina jest naturalnie występującym metabolitem choline. Wykazano, że zwiększa ona stężenia S-adenozylometioniny przywracając równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną. Doustne podawanie glukuronianu betainy pacjentom z NASH przez 8 tygodni, zmniejszyło stłuszczenie wątroby o 25% oraz znacznie obniżyło stężenie AST, ALT i glutamylotransferazy w surowicy. Wykazano również wyraźne zahamowanie stopnia stłuszczenia oraz zmian martwiczo-zapalnych. Song i wsp. wykazali, że betaina znacznie osłabia stłuszczenie wątroby wywołane dietą wysokosacharozową (model zwierzęcy), poprzez zwiększenie aktywacji wątrobowej AMPK oraz hamowanie lipogenezy [36].

Polisacharyd (LBP) z jagód goji (łac. *Lycium barbarum*) posiada szeroki zakres działania biologicznego, w tym antyoksydacyjne, immunoregulacyjne, neuroochronne, a ponadto kontroluje on metabolizm glukozy i wykazuje aktywność przeciwnowotworową. Po indukcji NAFLD u szczurów i podawaniu w diecie LBP (1 mg/kg, codziennie doustnie) zaobserwowano poprawę histologii wątroby, zmniejszenie akumulacji tłuszczu, zahamowanie zwłóknienia, stresu oksydacyjnego, zapalenia i apoptozy, częściowo w wyniku modulowania czynników transkrypcyjnych NF- κ B i aktywatora białka-1 (AP-1) [6].

Wykazano, że podawanie surowego homogenatu czosnku (łac. *Allium sativum*) szczurom karmionych fruktozą zmniejsza insulinooporność, stres oksydacyjny oraz wspomaga metabolizm lipidów. Pochodząca z czosnku S-allylmerkaptocysteina (SAMC) wykazywała silne właściwości hamujące stłuszczenie, zwłóknienie, stres oksydacyjny, a także zapalenie. Ponadto wykazano, że SAMC może również hamować apoptozę, a także promować makroautofagię w wątrobie, również w ten sposób przeciwdziałając przewlekłym uszkodzeniom wątroby [6].

Katechiny są głównymi polifenolami występującymi w zielonej herbacie i posiadającymi właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, a także hamują aktywność niektórych enzymów. W badaniach przeprowadzonych na myszach wykazano, że ekstrakt z zielonej herbaty (GTE) chroni przed stłuszczeniem

wątroby i jej uszkodzeniem zmniejszając wchłanianie lipidów zawartych w diecie i lipogenicznych substratów, hamując lipolizę oraz zmniejszając lipogenezę. GTE wykazuje ponadto właściwości przeciwutleniające i przeciwzapalne, które mogą zapobiegać progresji prostego stłuszczenia wątroby w NASH poprzez zmiatanie reaktywnych form tlenu i azotu, zwiększanie transkrypcji genów związanych z ochroną antyoksydacyjną oraz bezpośrednie zahamowanie reakcji zapalnych [4, 6].

Resweratrol (RSV, 3,5,4'-trihydroksystylben) jest fitoaleksyna, ekstrahowaną z czerwonych winogron o silnych właściwościach antyoksydacyjnych i przeciwzapalnych. Wykazano bardzo obiecujące właściwości fitochemiczne RSV w leczeniu NAFLD. Podawanie RSV promuje fosforylację AMPK, co prowadzi do zahamowania genów lipogenicznych SREBP-1c (FAS). Ponadto resweratrol hamuje *in vivo* stres oksydacyjny i zapalenie, czyniąc go tym samym obiecującym kandydatem w zapobieganiu chorobom tłuszczeniowym wątroby [6].

Kwercetyna jest jednym z głównych flawonoidów, reprezentująca klasę naturalnie występujących związków polifenolowych. Występuje ona w owocach, głównie jabłkach i warzywach, zwłaszcza cebuli. Myszy karmione kwercetyną wykazywały zmniejszenie ilości tłuszczu w wątrobie, a także poprawę parametrów systemowych, związanych z zespołem metabolicznym. Kwercetyna działa poprzez zmniejszenie stresu oksydacyjnego oraz obniżenie ekspresji genów odpowiedzialnych za procesy stłuszczenia (jak PPAR α). Ciekawostką jest, że ekstrakt ze skórki cebuli zawierający w swoim składzie kwercetynę poprawiał wrażliwość na insulinę silniej niż sama kwercetyna [37].

Kurkumina jest polifenolem pochodzącym z kłącza kurkumy, wykazująca liczne, korzystne działanie farmakologiczne. W badaniach przeprowadzonych na szczurach, wykazano zdolność kurkuminy do poprawy histologii wątroby z NAFLD co objawiało się znaczną redukcją ALT i AST w surowicy, a także zmniejszeniem stopnia zwłóknienia wątroby. Korzystne działanie kurkuminy na NASH polega na redukcji transkrypcji genu TNF- α , NF-kappaB, oraz HMG-CoA. Ponadto kurkumina zmniejsza oporność na insulinę i leptynę u szczurów karmionych fruktozą i chroni je przed hipertriglicerydemią, stłuszczeniem wątroby, prawdopodobnie w wyniku hamowania białkowej fosfatazy tyrozynowej 1B (PTP1B) [38].

Najnowsze badania na modelu szczurzym wskazują, że należący do triterpenoidów kwas ursolowy (UA) skutecznie łagodzi stłuszczenie wątroby spowodowane wysoką zawartością tłuszczów w diecie. W mechanizm ten zaangażowany jest szlak PPAR- α . Obserwowano złagodzenie stanu zapalnego, zmniejszenie insulinooporności, stresu oksydacyjnego, dodatkowo wykazano też poprawę metabolizmu lipidów [39].

7. Podsumowanie

Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby jest najczęstszą przyczyną zaburzeń czynności wątroby w krajach rozwiniętych. Jej patogenezę związaną jest ściśle z innymi zaburzeniami chorobowymi, takimi jak otyłość, cukrzyca, insulinooporność czy hiperlipidemia. NAFLD może prowadzić do NASH, marskości, a w konsekwencji do rozwoju raka wątrobowokomórkowego.

W ostatnich latach przedstawiono wiele różnych strategii terapeutycznych. Leki zmniejszające masę ciała, obniżające poziom lipidów, zmniejszające insulinooporność, antyoksydanty, probiotyki, leki hepatoprotekcyjne, substancje pochodzenia naturalnego i inne wykazały obiecujące wyniki. Jednakże jak do tej pory, nie istnieje w pełni skuteczna metoda leczenia, dlatego też niezbędne staje się poszukiwanie nowych, innowacyjnych terapii, które będzie można w przyszłości z powodzeniem zastosować u pacjentów z NAFLD.

Literatura

1. The Korean Association for the Study of the Liver (KASL), *KASL clinical practice guidelines: Management of nonalcoholic fatty liver disease*, Clinical and Molecular Hepatology, 2013, 19(4): 325-348
2. Tsochatzis A. E., Papatheodoridis V., G., *Is there any progress in the treatment of non- alcoholic fatty liver disease?*, World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics, 2011, 2(1): 1-5
3. Attar M., B., Thiel Van H., D., *Current Concepts and Management Approaches in Nonalcoholic Fatty Liver Disease*, Scientific World Journal, 2013: 481893
4. Durazzo M., Belci P., Collo A., Grisoglio E., Bo S., *Focus on Therapeutic Strategies of Nonalcoholic Fatty Liver Disease*, International Journal of Hepatology, 2012, 464706
5. Kelishadi R., Farajian S., Mirlohi M., *Probiotics as a Novel Treatment for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; A Systematic Review on the Current Evidences*, Hepatitis Monthly. 13(4): E7233
6. Xiao J., So F., K., Liong C., E., Tipoe L. G., *Recent Advances in the Herbal Treatment of Non- Alcoholic Fatty Liver Disease*, Journal of Traditional and Complementary Medicine, 2013, 3(2): 88-94
7. Ceccarelli S., Panera N., Gnani D., Nobili V., *Dual Role of MicroRNAs in NAFLD*, International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(4): 8437-8455
8. Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, *Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity*, Hepatology, 2004, 40:1387-95.
9. Schwimmer JB, Deutsch R, Kahen T, Lavine JE, Stanley C, Behling C., *Prevalence of fatty liver in children and adolescents*. Pediatrics, 2006, 118:1388-93
10. Masuoka C., H., Chalasani N., *Nonalcoholic fatty liver disease: an emerging threat to obese and diabetic individuals*, Annals of the New York Academy of Sciences, 2013, 1281(1): 106-122

11. Weston SR, Leyden W, Murphy R, Bass NM, Bell BP, Manos MM., *Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease*, Hepatology, 2005, 41:372-9
12. Fruci B., Giuliano S., Mazza A., Malaguarnera R., Belfiore A., *Nonalcoholic Fatty Liver: A Possible New Target for Type 2 Diabetes Prevention and Treatment*, International Journal of Molecular Sciences, 2013, 14(11): 22933-22966
13. Kelishadi R., Poursafa P., *Obesity and Air Pollution: Global Risk Factors for Pediatric Non- alcoholic Fatty Liver Disease*, Hepatitis Monthly, 2011, 11(10): 794-802
14. Conlon AB, Beasley MJ, Aebersold K, Jhangiani SS, Wylie-Rosett J. *Nutritional management of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)*, Nutrients, 2013, 5, 4093-4114
15. Giorgio V., Prono F., Graziano F., Nobili V., *Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment target*, BMC Pediatrics, 2013, 13:40
16. Albayrak A, Uyanik MH, Cerrah S, Altas S, Dursun H, Demir M, Uslu H., *Is HMGB1 a new indirect marker for revealing fibrosis in chronic hepatitis and a new therapeutic target in treatment?*, Viral Immunology, 2010, 23(6):633-8
17. Lam B., *Treatment options for nonalcoholic fatty liver disease*, Therapeutic Advances in Gastroenterology, 2010, 3(2): 121-137
18. Balagopal P, Gidding SS, Buckloh LM, Yarandi HN, Sylvester JE, George DE, Funanage VL., *Changes in circulating satiety hormones in obese children: a randomized controlled physical activity-based intervention study.*, Obesity, 2010, 18:1747-1753.
19. Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin T, Hayden J, Reaven GM, Reaven PD., *Discrimination between obesity and insulin resistance in the relationship with adiponectin*, Diabetes , 2004, 53:585-590
20. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, et al. *Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease*, Nature Genetics, 2008, 40(12):1461-1465
21. Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, et al., *A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans*, Diabetologia, 2009, 52(6):1056-1060
22. Sookoian S, Pirola CJ., *Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease*, Hepatology, 2011, 53(6):1883-1894
23. Chen CH, Huang MH, Yang JC, *Prevalence and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population of Taiwan: metabolic significance of nonalcoholic fatty liver disease in nonobese adults.*, Journal of Clinical Gastroenterology, 2006
24. Mouzaki M, Arendt BM, Fischer SE, Comelli EM, Allard P., *Assessment of intestinal microbiota in non-alcoholic fatty liver disease*, Hepatology, 2012;56(4, supplement):p. 243A.
25. Kelishadi R., Farajian S., Mirlofi M., *Probiotics as a Novel Treatment for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; A Systematic Review on the Current Evidences*, Hepatitis Monthly, 2013, 13(4): E7233

26. Rottiers V., Näär A.M., *MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders*, Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2012, 13:239-250.
27. Brunt E.M., *Pathology of nonalcoholic fatty liver disease*, Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2010, 7:195-203.
28. Pogribny I.P., Starlard-Davenport A., Tryndyak V.P., Han T., Ross S.A., Rusyn I., Beland F.A., *Difference in expression of hepatic microRNAs miR-29c, miR-34a, miR-155, and miR-200b is associated with strain-specific susceptibility to dietary nonalcoholic steatohepatitis in mice*, Laboratory Investigation, 2010, 90:1437-1446
29. Vajro P., Lenta S., Pignata C., Salerno M., D' Aniello R., Micco D., I., Paoletta G., Parenti G., *Therapeutic options in pediatric non alcoholic fatty liver disease: current status and future directions*, Italian Journal of Pediatrics 2012, 38:55
30. Beaton D., M., *Current treatment options for nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis*, Canadian Journal of Gastroenterology, 2012, 26(6): 353-357
31. Li W, Zheng L, Sheng C, Cheng X, Qing L, Qu S., *Systematic review on the treatment of pentoxifylline in patients with non-alcoholic fatty liver disease*, Lipids in Health and Disease, 2011, 10:49
32. Fuchs M, *Non-alcoholic Fatty liver disease: the bile Acid-activated farnesoid x receptor as an emerging treatment target*, Journal of Lipids, 2012, 934396
33. Mudaliar S., Henry R., R., Sanyal J., A., Morrow L., Marschall H-U., Kipnes M., Adorini L., Sciacca I., C., Cloption P., Castelloe E., Dillon P., Pruzanski M., Shapiro D., *Efficacy and Safety of the Farnesoid X Receptor Agonist Obeticholic Acid in Patients With Type 2 Diabetes and Nonalcoholic Fatty Liver Disease*, Gastroenterology, 2013, 145(3): 574-582
34. Miura K, Seki E, Ohnishi H, Brenner DA., *Role of toll-like receptors and their downstream molecule in the development of nonalcoholic fatty liver disease*, Gastroenterology Research and Practice, 2010, 362847
35. Molloy JW, Calcagno CJ, Williams CD, Jones FJ, Torres DM, Harrison SA., *Association of coffee and caffeine consumption with fatty liver disease, nonalcoholic steatohepatitis, and degree of hepatic fibrosis*, Hepatology, 2012, 55(2):429-436
36. Prete D., A., Scalera A., Iadevaia D., M., Miranda A., Zulli C., Gaeta L., Tuccillo C., Federico A., Loguercio C., *Herbal Products: Benefits, Limits, and Applications in Chronic Liver Disease*, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Volume 2012 (2012)
37. M. Kobori, S. Masumoto, Y. Akimoto, and H. Oike, *Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice*, Molecular Nutrition and Food Research, vol. 55, no. 4, pp. 530-540, 2011.
38. C. H. Zeng, P. Zeng, Y. H. Deng., *The effects of curcumin derivative on experimental steatohepatitis*, Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi, vol. 19, no. 6, ss. 454-459, 2011.
39. Li S., Meng F., Liao X., Wang Y., Sun Z., Guo F., Li X., Meng M., Li Y, Sun C., *Therapeutic Role of Ursolic Acid on Ameliorating Hepatic Steatosis and Improving Metabolic Disorders in High- Fat Diet- Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Rats*, PLoS One, 2014, 9(1)

Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby – charakterystyka i strategie terapeutyczne

Streszczenie

Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (NAFLD) jest najczęstszą przyczyną zaburzeń czynności wątroby w krajach zachodnich, a częstotliwość jej występowania gwałtownie wzrasta. Jest ściśle związana z innymi zaburzeniami chorobowymi, w tym otyłością, cukrzycą, insulinoopornością oraz hiperlipidemią. NAFLD może prowadzić do niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (NASH), marskości, a w konsekwencji do raka wątrobowo-komórkowego (HCC). W ostatnich latach przedstawiono wiele różnych strategii terapeutycznych, jednakże jak do tej pory, nie istnieje skuteczna metoda leczenia. Pierwszym krokiem w terapii NAFLD jest modyfikacja stylu życia za pomocą diety i ćwiczeń fizycznych, jednakże skuteczność takiej terapii nie jest zadowalająca, dlatego też konieczne stało się leczenie farmakologiczne. Leki zmniejszające masę ciała, obniżające poziom lipidów, zmniejszające insulinooporność, antyoksydanty, probiotyki, leki cytoochronne i inne wykazały obiecujące wyniki. W niniejszym artykule przedstawiono metody leczenia oraz innowacyjne strategie terapeutyczne, które mogą być zastosowane w NAFLD.

Słowa kluczowe: NAFLD, NASH, NAFL, HCC, therapy

Nonalcoholic fatty liver disease - characteristic and therapeutic strategies

Abstract

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common cause of liver dysfunction in the Western world and its incidence is increasing rapidly. It is strongly associated with other pathological conditions, including obesity, diabetes, insulin resistance and hyperlipidemia. NAFLD may progress to nonalcoholic steatohepatitis (NASH), cirrhosis, and hepatocellular carcinoma (HCC). Many various therapeutic strategy has been presented in recent years, however, to date, the effective therapy doesn't exist. First-line therapy includes lifestyle modification using a combination of diet and exercise, however compliance is very poor and a pharmacological approach has become necessary. Weight loss agents, insulin-sensitizing agents, lipid lowering medicines, antioxidants, probiotics, cytoprotective and other novel agents have shown promising results. In this paper we focused on the treatment and innovative therapeutic strategies useful in NAFLD therapy.

Keywords: NAFLD, NASH, NAFL, HCC, therapy,

Karolina Gasińska¹, Tomasz Michalski², Paulina Pawlik³, Jerzy Bednarski⁴, Anna Szajerska⁵, Paweł Binko⁶, Lidia Kotuła⁷

NIEOPERACYJNY ŚLUZAK LEWEGO PRZEDSIONKA – OPIS PRZYPADKU

1. Wprowadzenie

Nowotwory pierwotne serca występują niezwykle rzadko [1]. W większości przypadków są to odmiany niezłośliwe, które wykrywa się w 0,02% badań sekcyjnych. Rozpoznanie tych nowotworów jest trudne, ponieważ nie powodują one swoistych dolegliwości i przez dłuższy okres rozwijają się bezobjawowo [2]. Najczęstszym rodzajem pierwotnego, łagodnego guza serca jest śluzak [3]. Innymi nowotworami tego narządu są włókniak, tłuszczak i mięśniak prążkowanokomórkowy. Włókniaki lokalizują się na powierzchni komorowej zastawek półksiężycowatych oraz przedsionkowej zastawek ujść żylnych. Tłuszczaki, które mogą powodować arytmie serca, umiejscawiają się w lewej komorze, prawym przedsionku i przegrodzie międzyprzedsionkowej. Mięśniaki prążkowanokomórkowe spotykane są w różnych strukturach serca i często wykrywa się je u niemowląt [1].

2. Śluzak

Śluzak jest wolno rosnącym guzem mięśnia sercowego, związanym z patologicznym rozrostem tkanki łącznej [3]. Zazwyczaj lokalizują się w lewym przedsionku, rzadziej w obrębie kości części twarzowej czaszki, mięśni kończyn oraz tkanek miękkich jamy ustnej. Odnotowano również sporadyczne przypadki

¹ karolina.gasinska@onet.eu, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, i Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Studenckie Koło Naukowe Genetyki Medycznej przy Zakładzie Genetyki Klinicznej

² poolak47@gmail.com, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, i Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Rehabilitacji i Ortopedii

³ paulina.pawlik89@gmail.com, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Angiojęzycznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i I Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii

⁴ jerzybednarski@gmail.com, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, i Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Katedra i Klinika Rehabilitacji i Ortopedii

⁵ szajer@poczta.onet.pl, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Angiojęzycznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Kardiologii

⁶ pawele90@gmail.com, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Kardiologii

⁷ zgkumlub@wp.pl, i Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Zakład Genetyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

występowania śluzaka w krtani, mięśniach szyi, mięśniu skroniowym oraz w kościach podstawy czaszki i w kościach nosa. Guzy mogą niekiedy osiągać znaczne rozmiary, powodując różnego rodzaju deformacje i dysfunkcje. Najczęściej pojawiają się u osób w okresie dojrzewania oraz w 2. i 3. dekadzie życia, natomiast rzadko w wieku podeszłym [3].

2.1. Pierwsze wzmianki

W 1845 roku pojawił się pierwszy artykuł, poświęcony śluzakowi, który został opublikowany przez King'a [4]. Do połowy następnego wieku opisano kilkaset kolejnych przypadków wykrycia tego nowotworu podczas autopsji. Jednakże dopiero w 1952 roku udało się wykryć śluzaka u żywego pacjenta w trakcie badania angiograficznego. Był nim 3-letni chłopiec z guzem zlokalizowanym w lewym przedsionku. Podjęto próbę leczenia kardiochirurgicznego, lecz zakończyła się ona niepowodzeniem [5]. Pierwszą skuteczną operację usunięcia śluzaka wykonał Crafoord dwa lata później [4].

2.2. Epidemiologia

Śluzak stanowi ponad 50% łagodnych nowotworów, wykrywanych w mięśniu sercowym. w badaniu autopsyjnym rozpoznaje się go z częstością 75 przypadków na milion przeprowadzonych autopsji, spośród których 75% dotyczy kobiet. Najczęstszą lokalizacją guza jest lewy przedsionek (74%), rzadziej prawy przedsionek (18%) i komory (8%). Około 10% śluzaków występuje rodzinnie w zespole Carney'a [6].

2.3. Morfologia

Przez wiele lat pochodzenie śluzaka było niewyjaśnione. W guzie znajdowano włókna kolagenowe i sprężyste, co sugerowało, że są one zorganizowaną formą skrzepliny (*pseudomyxoma*). Późniejsze badania potwierdziły, że zmiana ta ma charakter nowotworowy. Początkowo sądzono, że jest pochodzenia śródbłonkowego, ponieważ w barwieniu komórek śluzaka wykazano pozytywne wyniki dla czynnika VIII, który uważany był za wskaźnik megakariocytów i komórek śródbłonka. Nowsze badania wykazały, że struktury wykazujące ekspresję czynnika VIII znajdują się jedynie w przestrzeniach przypominających naczynia krwionośne wewnątrz zrębu śluzaka [5]. Według współczesnego poglądu śluzaki wywodzą się z nieodróżnionych, multipotencjalnych komórek mezenchymatycznych, będących pozostałością życia płodowego. Tego typu komórki znajdują się najliczniej w okolicy otworu owalnego w przegrodzie międzyprzedsionkowej, co tłumaczy najczęstszą lokalizację śluzaka w lewym przedsionku [5].

2.4. Obraz kliniczny

Śluzak jest guzem miękkim, kruchym, o gładkiej powierzchni i barwie białej, żółtawej lub brązowej [7]. Rośnie dość szybko, osiągając niekiedy duże rozmiary (1-15 cm) oraz masę (80-180 g) [2]. Opisano rzadkie przypadki olbrzymich śluzaków lewego przedsionka z cechami neowaskularyzacji i wapnienia, które nie dawały żadnych objawów klinicznych.[7].Zazwyczaj obecność śluzaka w lewym przedsionku wiąże się z występowaniem trzech podstawowych rodzajów zaburzeń, do których zalicza się incydenty zatorowe, cechy zwężenia ujścia żylnego oraz objawy ogólnoustrojowe [5].

Fragmenty lub skrzepliny z powierzchni guza, ułożonego w lewym przedsionku lub lewej komorze, są przyczyną zatorów w krążeniu obwodowym, wywołując zawał i niedokrwienie kończyn. Mnogie zatory układowe mogą wywoływać objawy, przypominające zapalenie naczyń lub zakaźne zapalenie wsierdza. do powikłań neurologicznych zatorów należą napady padaczkowe, omdlenia oraz zawały mózgu, mózdzku, pnia mózgu i siatkówki [6].

Uszypułowany śluzak lewego przedsionka może przemieszczać się do ujścia mitralnego, powodując jego zwężenie lub niedomykalność, co w około 70% przypadków daje objawy nadciśnienia i zastoju płucnego – uczucie duszności, kaszel, krwiotłucie oraz ból w klatce piersiowej. Istnieje możliwość przedostania się śluzaka przez zastawkę mitralną do lewej komory, gdzie upośledza odpływ krwi z serca, powodując nawet rozległe niedokrwienie mięśnia sercowego [6].

Objawy ogólnoustrojowe wykazują cechy procesu zapalnego. Stwierdza się gorączkę, podwyższenie poziomów białek ostrej fazy (CRP, fibrynogenu, osocznego amyloidu A-SAA), leukocytozę, trombocytozę oraz utratę masy ciała. Powszechnie uważa się, że za te zmiany odpowiadają cytokiny, wydzielane przez śluzaka, a zwłaszcza interleukina 6 (IL-6) [8]. Wzrost stężenia IL-6, proporcjonalny do wielkości guza, wykrywany jest u około 80% pacjentów i wraca do fizjologicznej normy po jego chirurgicznym usunięciu, dlatego parametr ten może służyć jako pomocne badanie dodatkowe w diagnostyce guza, a także jako metoda monitorowania skuteczności zabiegu operacyjnego [5].

Śluzak prawego przedsionka może wykazywać objawy prawokomorowej niewydolności serca, zwężenia lub niedomykalności zastawki trójdzielnej, zatorowości płucnej lub nadciśnienia płucnego, a także objawy ogólne, takie jak osłabienie, gorączka i utrata masy ciała. Blokowanie ujść przedsionkowo-komorowych może powodować omdlenia lub zawroty głowy podczas zmiany pozycji ciała, a zamknięcie ujścia żylnego może doprowadzić do nagłej śmierci sercowej. z kolei przemieszczenie się guza z przedsionka do komory skutkuje uszkodzeniem aparatu zastawkowego i pęknięciem struny ścięgnistej. Objawy kliniczne w przypadku śluzaka prawego przedsionka ujawniają się przy masie guza 2–3-krotnie większej niż w lewym przedsionku [8].

2.5. Diagnostyka i leczenie

Rutynowa diagnostyka śluzaków opiera się przede wszystkim na przezklatkowym i przezprzelykowym badaniu echokardiograficznym (ECHO), które umożliwia postawienie wstępnego rozpoznania. w badaniu tym śluzak opisywany jest jako zmiana niejednorodnie echogeniczna, uszypułowana, polipowata lub owalna. Niejednorodny obraz wiąże się z występowaniem obszarów martwicy, degeneracji, torbieli i krwotoków do wnętrza guza. Najczęściej nowotwór jest przytwierdzony za pomocą szypuły do przegrody międzyprzedsionkowej, rzadziej do wolnej ściany przedsionka. Jeśli przezklatkowe badanie ECHO daje niedokładny obraz, wykorzystuje się metodę przezprzelykową, dostarczającą bardziej szczegółowych informacji odnośnie miejsca przyczepu i morfologii guza. Dostępna jest również echokardiografia trójwymiarowa, dzięki której najdokładniej można ocenić wielkość i ruchomość śluzaka. Badanie ECHO zalecane jest także u członków rodziny pacjenta [3], szczególnie, jeśli rozwinął się u osoby młodej, ze względu na możliwość przekazywania skłonności do zachorowania na tego typu nowotwór. Należy wówczas przeprowadzić postępowanie wykluczające zespół Corney'a, który dziedziczy się autosomalnie dominująco. w zespole tym śluzaki są wieloogniskowe i mają tendencję do nawrotów po chirurgicznym usunięciu [8].

Innymi diagnostycznymi badaniami obrazowymi są tomografia komputerowa i rezonans magnetyczny. Ostateczne rozpoznanie stawia się na podstawie badania anatomopatologicznego [8].

W diagnostyce różnicowej śluzaka, z powodu uogólnionego zapalenia w obrazie klinicznym, należy brać pod uwagę infekcyjne zapalenie wsierdza, zwłaszcza, gdy masy nowotworowe występują w miejscach nietypowych dla śluzaka (zastawki). Podobny obraz kliniczny może występować w układowych chorobach tkanki łącznej, naciekach białaczkowych i bakteriemii [2].

Postępowaniem z wyboru w leczeniu śluzaka jest zabieg kardiochirurgiczny, który powinien być wykonany możliwie najwcześniej z uwagi na duże ryzyko zatorowości. Polega on na wyluszczeniu śluzaka, możliwie w jak najszerszym zakresie, a następnie resekcji fragmentu mięśnia sercowego, najczęściej przegrody międzyprzedsionkowej. Resekcja przegrody i uzupełnienie ubytku łąką z osierdza, materiałem biologicznym (homograft) lub syntetycznym zapobiega wznowie guza. w przypadku stwierdzenia uszkodzenia, deformacji lub upośledzenia funkcji zastawki mitralnej naciekiem nowotworowym, wskazana jest plastyka lub wszczepienie protezy zastawkowej. do oceny doszczętności zabiegu oraz funkcji zastawki dwudzielnej służy śródoperacyjna echokardiografia przezprzelykowa. Najczęstszym i najpoważniejszym powikła-

niem leczenia kardiochirurgicznego śluzaka jest defragmentacja guza, prowadząca do zatorowości. Niekiedy pacjenci po operacji wymagają podawania amin katecholowych lub leków antyarytmicznych, a nawet czasowej stymulacji za pomocą rozrusznika. Jest to spowodowane rozległą resekcją struktur serca i pooperacyjną niestabilnością hemodynamiczną [4].

2.6. Rokowanie

Śluzaki powszechnie uważa się za nowotwory łagodne o dobrym rokowaniu, jednak u nielicznych pacjentów mogą one wykazywać cechy złośliwości. w literaturze światowej opisano kilkanaście przypadków przerzutów tego nowotworu do tętnic obwodowych, aorty i mózgu. Przypuszcza się, że nabywanie cech złośliwości jest związane z działaniem IL-6 [5]. Po operacji wskazana jest okresowa kontrola pod kątem ewentualnej wznowy guza, do której dochodzi średnio 4 lata po zabiegu [2].

3. Opis przypadku

80-letnia pacjentka została skierowana przez lekarza podstawowej opieki zdrowotnej do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 4 (SPSK nr 4) w Lublinie celem diagnostyki kulistego tworu na wąskiej szypule w okolicy otworu owalnego w lewym przedsionku, wykrytego podczas badania echokardiologicznego (ECHO). Badanie wykazało również pogrubienie tylnej ściany lewej komory (1,3 cm; norma <1,1 cm) i przegrody międzykomorowej (1,3 cm; norma <1,2 cm), zwapnienie płotka tylnego zastawki dwudzielnej, powiększenie lewego przedsionka (4,8 cm; norma <3,6 cm), powiększenie prawej komory w rozkurczu (2,6 cm; norma <2,5 cm), a także niedomykalność zastawki aortalnej i stopnia, zastawki mitralnej II stopnia i zastawki trójdzielnej I/II stopnia. w chwili przyjęcia do szpitala pacjentka nie zgłaszała żadnych dolegliwości. Wykonano badania biochemiczne, które ujawniło hiperkaliemię (5,9 mmol/l; norma 3,5-5,1 mmol/l), podwyższone stężenie mocznika (72,70 mg/dl; norma 19,26-49,22 mg/dl) i kreatyniny (5,4 mg/dl; norma 0,5-1,1 mg/dl). Ponownie wykonano u pacjentki badanie echokardiograficzne, na podstawie którego postawiono wstępne rozpoznanie śluzaka lewego przedsionka. Guz miał zbitą konsystencję, jego wymiary wynosiły 2,4 x 1,9 cm. Przytwierdzony był do ściany serca krótką łodygą o długości około 0,2 cm.

W wywiadzie stwierdzono stan po zawale mięśnia sercowego NSTEMI. Ponadto kobieta miała rozpoznane: nadciśnienie tętnicze, zespół bradytachykardii, przewlekłą niewydolność nerek w przebiegu przewlekłego śródmięzszowego zapalenia nerek, wtórną nadczynność przytarczyc, uogólnioną miażdżycę i zaburzenia depresyjne i regularnie była hemodializowana. Pacjentka była kilkakrotnie przyjmowana do Kliniki Kardiologii SPSK nr 4.

Powodem pierwszego pobytu były utrzymujące się, wysokie wartości ciśnienia tętniczego. Pacjentka zaniedbywała przyjmowanie leków w domu. ze względu na zgłaszane uczucie kołatania serca w czasie dializ z towarzyszącym uczuciem dyskomfortu w klatce piersiowej była konsultowana kardiologicznie. Badanie elektrokardiograficzne wykazało miarową akcję serca i rytm zatokowy 70/min. Ponadto słyszalny był szmer skurczowy w polu aortalnym. Nie stwierdzono cech niedokrwienia mięśnia sercowego. Pacjentkę zakwalifikowano do założenia holtera EKG. w analizowanym okresie średnia częstość rytmu zatokowego wynosiła 58/min. Występowały epizody bradykardii zatokowej – rytm serca około 45/min w okresie czuwania oraz blok przedsionkowo-komorowy II stopnia typu Mobitz II w godzinach nocnych – a także epizody częstoskurczu nadkomorowego z rytmem serca 140/min. U pacjentki zastosowano odpowiednie leczenie i zalecono kontrolę w Poradni Kardiologicznej.

Kolejne przyjęcie pacjentki do szpitala było spowodowane dolegliwościami bólowymi w klatce piersiowej. Badanie morfologiczne wykazało umiarkowaną niedokrwistość normocytarną (HGB 9,7 g/dl; norma 12,0-16,0 g/dl; RBC 3,21 mln/mm³; norma 3,80-5,20 mln/mm³; HCT 30,8%; norma 37,0-47,0%). Pacjentka miała również w surowicy podwyższone stężenie potasu (6,0 mmol/l; norma 3,5-5,1 mmol/l), mocznika (87,30 mg/dl; norma 19,26-49,22 mg/dl), kreatyniny (5,4 mg/dl; norma 0,5-1,1 mg/dl) i mioglobiny (207,0 ng/ml; norma 0,0-110,0). Wykonane w trybie pilnym badanie koronarograficzne wykazało chorobę niedokrwinną serca 3-naczyniową (krytyczne zwężenie gałęzi międzykomorowej przedniej, krytyczne zwężenie gałęzi marginalnej lewej tętnicy wieńcowej oraz krytyczne zwężenie prawej tętnicy wieńcowej). Pacjentkę konsultowano kardiochirurgicznie, z uwagi na istotnie podwyższone ryzyko operacyjne (wiek, niewydolność nerek). Następnie wykonano skuteczną angioplastykę gałęzi międzykomorowej przedniej lewej tętnicy wieńcowej z implantacją stentu antyproliferacyjnego DES (ang. *Drug Eluting Stent*). w trakcie pobytu w klinice chora była hemodializowana według dotychczasowego schematu.

4. Podsumowanie

Rozpoznanie śluzaka we wczesnym etapie rozwoju jest trudne, ponieważ większość objawów klinicznych jest niecharakterystyczna. Należą do nich: gorączka, wyniszczenie, złe samopoczucie, bóle stawów, objaw Raynauda, wysypka skórna, zatorowość systemowa i obwodowa oraz zmiany zachowania. Zaburzeniom tym towarzyszą liczne odchylenia w badaniach laboratoryjnych – hipergammaglobulinemia, przyspieszona sedimentacja erytrocytów, trombocytoza, trombocytopenia, polycytemia, leukocytoza i niedokrwistość. Najprawdopodobniej są one związane z czynnością wydzielniczą lub zmianami martwiczymi w guzie. w niektórych przypadkach obserwowano znaczne podwyższenie stężenia IL-6, zanikające po usunięciu śluzaka, wysokie miano przeciwciał przeciwsercowych, a także wzrost liczby neutrofilii [6]. Objawy kliniczne śluzaka zależą od lokalizacji guza, jego rozmiarów, ruchomości, cech patomorfologicznych i towarzyszących skrzeplin. Mogą być przyczyną wystąpienia zatorowości OUN, płucnej lub obwodowej, arytmii, omdleń oraz zamknięcia ujścia przedsionkowo-komorowego. Zaburzenia rytmu serca pod postacią: różnego stopnia bloków przedsionkowo-komorowych (AV), nadkomorowych lub komorowych częstoskurczów i migotania komór prowadzą z kolei do niestabilności hemodynamicznej i nagłej śmierci sercowej. z uwagi na ryzyko poważnych powikłań śluzaka przedsionka, wymaga on szybkiego rozpoznania i leczenia operacyjnego [4].

W omawianym przypadku, z uwagi na zaawansowany wiek pacjentki, stan po zawale mięśnia sercowego oraz obciążenie licznymi chorobami, kobieta nie została zakwalifikowana do leczenia operacyjnego. Zalecono systematyczne badania kontrolne i wypisano ze szpitala w stanie ogólnym dobrym.

Literatura

1. Nowotwory serca, *Kardiolo.pl* [online], [dostęp 10 lutego 2014]. Dostępny w World Wide Web: <http://www.kardiolo.pl/nowotworyserca.htm>
2. Ignatowicz A., Orlicz-Szczęśna G., Wysokiński A., *Duży śluzak lewego przedsionka przebiegający jako uogólniona reakcja zapalna – opis przypadku*, „Kardiologia Polska”, 2008 vol. 66, s. 903-905
3. Śluzak, Choroby i zdrowie [online], [dostęp 10 lutego 2014]. Dostępny w World Wide Web: <http://choroby-zdrowie.pl/nowotwory/sluzak.html>
4. Banyś A., Jegier B., Maciejewski M., Jaszewski R., *Śluzak lewego przedsionka u 58-letniej chorej z omdleniami w wywiadzie – opis przypadku*, „Anestezjologia i Ratownictwo” 2008 vol. 3, s. 412-412

5. Kocańda Sz., Rdzanek A., Filipiak K.J., *Pierwotne nowotwory serca*, „Forum Kardiologów”, 2000 vol. 3, s. 65-73
6. Kołacz J., Fedak A., Dziedzic P., Pasowicz M., *Śluzak lewego przedsionka. Opis przypadku*, „Choroby serca i Naczyń” 2005 vol. 4, s. 229-231
7. Tai P., Yu E., *Nowotwory serca*, NOWOTWORY Journal of Oncology” 2009 vol. 59, s. 1-8
8. Kapusta A., Lipiec P., Chrzanowski Ł., Foryś J., K.J., *Nietypowa przyczyna niewydolności serca – śluzak prawego przedsionka*, „Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej” 2007 vol. 117, s. 470-472

Nieoperacyjny śluzak lewego przedsionka – opis przypadku

Streszczenie

Nowotwory serca występują rzadko. Spośród nich najczęstszym pierwotnym guzem serca jest śluzak, stanowiący 50% łagodnych nowotworów tego narządu. W 75% przypadków zlokalizowany jest w lewym przedsionku, u 18% pacjentów w prawym przedsionku, natomiast sporadycznie w komorze. Jego diagnostyka jest trudna, ponieważ nie powoduje on swoistych dolegliwości bądź też przez długi okres rozwija się bezobjawowo. Celem pracy jest analiza przypadku klinicznego 80-letniej pacjentki z rozpoznaniem śluzaka lewego przedsionka. Kobieta została skierowana przez lekarza podstawowej opieki zdrowotnej do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 4 w Lublinie celem diagnostyki kulistego tworów wykrytego w lewym przedsionku podczas badania echokardiologicznego. Badanie wykazało również powiększenie lewego przedsionka, pogrubienie ścian serca oraz umiarkowaną niedomykalność zastawki mitralnej i trójdzielnej. w szpitalu potwierdzono obecność śluzaka, którego wymiary wynosiły 2,4 x 1,9 cm. Zwykle rozpoznanie tego typu nowotworu jest pilnym wskazaniem do zabiegu kardiochirurgicznego ze względu na możliwość powikłań zatorowych, a także ryzyko zablokowania ujścia przedsionkowo-komorowego. Jednakże w omawianym przypadku, z uwagi na zaawansowany wiek pacjentki, stan po zawale mięśnia sercowego oraz obciążenie licznymi chorobami (nadciśnieniem tętniczym, przewlekłą niewydolnością nerek oraz wtórną nadczynnością przytarczyc), kobieta nie została zakwalifikowana do leczenia operacyjnego. Zalecono systematyczne badania kontrolne i wypisano ze szpitala w stanie ogólnym dobrym.

Słowa kluczowe: śluzak, lewy przedsionek

Inoperable myxoma of the left heart atrium – case study

Abstract

Heart tumors occur rarely. The most common primary tumor among them is myxoma, which accounts for 50% of this organ's benign tumors. In 75% of cases it is located in the left atrium, in 18% in the right atrium and rarely in the ventricle. Its diagnosis is difficult since it does not cause specific ailments or develops asymptotically for a long time. The aim of the work is to analyse clinical case of 80-years-old female patient with diagnosed myxoma of the left heart atrium. Health care physician referred the woman to Emergency Room at Independent Public Clinical Hospital no 4 in Lublin in order to diagnose round formation detected in the left atrium during echocardiography. Examination also showed enlargement of the left atrium, thickening of the heart's wall and moderate mitral and tricuspid regurgitation. In the hospital the presence of myxoma was confirmed. Its size was 2,4 x 1,9 cm. Usually, recognition of this type of tumor is an urgent indicator for cardiosurgical procedure because of embolic complications possibility and the risk of atrioventricular ostium blockade. However, in described case the woman wasn't qualified for surgical treatment because of her advanced age, condition after a heart attack and numerous diseases (arterial hypertension, chronic renal failure and secondary hyperparathyroidism). Systematic check- tests were ordered and the patient was discharged from the hospital in good general condition.

Keywords: myxoma, left heart atrium

RAK JELITA GRUBEGO – ETIOLOGIA I LECZENIE

1. Wstęp

Obecnie trudno jest spotkać osobę o całkowicie zdrowych jelitach. Na ich kondycję wpływa wiele różnorodnych czynników, takich jak: dieta, stres, jakość spożywanych pokarmów, brak właściwego odżywiania, przebyte choroby (m.in. wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Leśniowskiego-Crohna, uchyłkowatość jelita grubego, choroby nowotworowe), wstrzymywanie defekacji i inne [1, 2].

2. Jelito grube

Jelito grube jest końcowym odcinkiem układu pokarmowego łączącym jelito cienkie z odbytem. Jego długość wynosi od 1,5 do 1,8 m. W jelicie tym wyróżniamy trzy główne części: jelito ślepe (kątnica, wraz z wyrostkiem robaczkowym), okrężnicę (dzielącą się na wstępnicę, poprzecznicę, zstępnicę i esicę) oraz odbytnicę [2, 3, 4].

Główną rolą jelita grubego jest resorpcja wody oraz formowanie kału. Jelito to nie wytwarza własnego soku trawiennego, który rozkładałby pokarm. Wydzielina surowiczo-słuzowa jelita grubego nie posiada własnych enzymów trawiennych, spełnia ona natomiast funkcje mechaniczne i ochronne, ułatwiając formowanie oraz przesuwanie kału. Działanie trawienne w jelicie grubym mogą wykazywać jedynie przez krótki czas enzymy pochodzące z wcześniejszych fragmentów przewodu pokarmowego oraz enzymy wytwarzane przez florę bakteryjną [2, 5, 6].

Wchłanianie w tym organie ogranicza się niemal wyłącznie do wody i soli mineralnych. Poprzez ścianę jelita grubego wydalone są substancje, które trudno usunąć z organizmu wraz z moczem, czyli takie jak: jony żelaza, wapnia, magnezu, fosforu, rtęci czy bizmutu. W jelicie grubym zachodzą również procesy fermentacji (rozkład substancji organicznych niebiałkowych – np. cukrów, do kwasu mlekowego, masłowego, octowego, alkoholi, dwutlenku węgla, metanu, wodoru) i gnicia (przekształcenie białek przez enzymy

¹ maciej.frant@gmail.com, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, <http://biolbiot.umcs.lublin.pl/>

² arkadiuszczerwonka87@interia.pl, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, <http://biolbiot.umcs.lublin.pl/>

³ zurekaleksandra@wp.pl, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, <http://biolbiot.umcs.lublin.pl/>

⁴ rpaduch@poczta.umcs.lublin.pl, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, <http://biolbiot.umcs.lublin.pl/>

drobnoustrojów do takich substancji jak: kwasy tłuszczowe, aminokwasy, amoniak, niektóre aminy). Powstałe substancje mogą być zarówno korzystne dla funkcjonowania organizmu jak i szkodliwe, dlatego bardzo istotne jest regularne oddawanie stolca. Detoksykacja szkodliwych substancji powstałych w różnych procesach w jelicie grubym i wchłoniętych do układu krwionośnego zachodzi przy udziale wątroby [2, 5, 7].

3. Epidemiologia raka jelita grubego

Według szacunków, rak jelita grubego zajmuje obecnie trzecie miejsce wśród nowotworów powodujących największą śmiertelność wśród ludzi na świecie, zaraz po raku płuca, piersi i gruczołu krokowego [8]. Najpoważniejsze problemy związane są z nowotworami okrężnicy i odbytnicy. Na całym świecie rocznie diagnozuje się około 1 miliona przypadków zachorowań na raka jelita grubego [9]. Co czwarta osoba w Polsce po ukończeniu 50 roku życia jest zagrożona schorzeniem związanym z tym narządem [10]. Rak jelita grubego zajmuje w Polsce drugie miejsce wśród nowotworów pod względem częstości występowania [2, 11].

Nowotwory związane z esicą stanowią 25%, podczas gdy nowotwory odbytnicy stanowią 50% przypadków raka jelita grubego [12]. Rak okrężnicy występuje przeważnie u kobiet, natomiast rak odbytnicy jest częściej spotykany u mężczyzn i powoduje zdecydowanie większą śmiertelność. W Polsce przeżywalność chorych na raka jelita grubego (5 lat od diagnozy) wynosi zaledwie 25% [10]. Zależy ona od stopnia zaawansowania nowotworu i może wynosić powyżej 90% u osób zdiagnozowanych we wczesnym etapie choroby (I stadium), podczas gdy u osób ze stadium rozsiewu spada poniżej 10% [13]. Rozwój raka jelita grubego od pojawienia się guza do wystąpienia objawów klinicznych może trwać od kilku do kilkudziesięciu lat [2, 14].

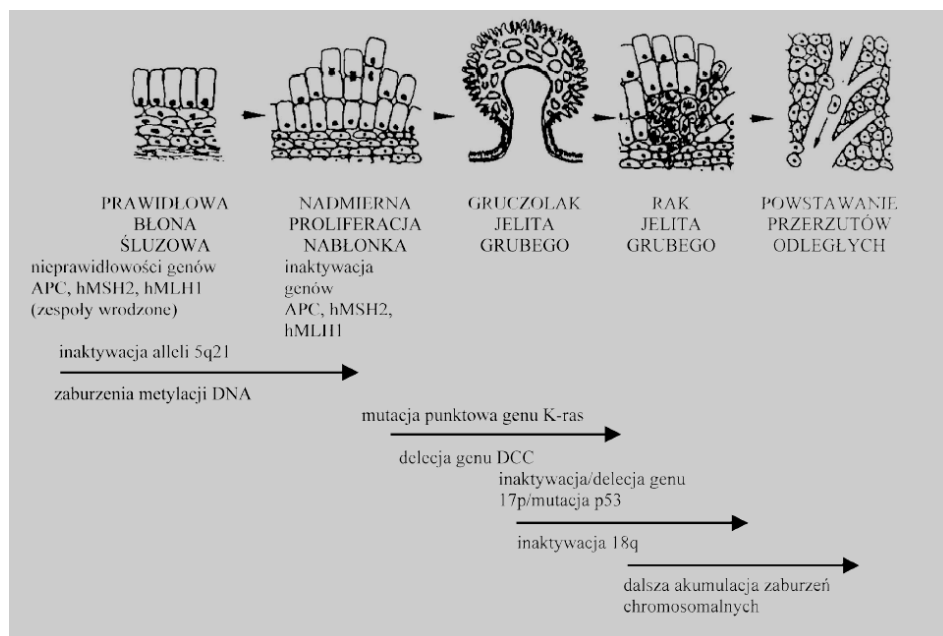
Obserwacje epidemiologiczne wskazują na czynniki środowiskowe jako główne przyczyny wpływające na rozwój raka jelita grubego. Wśród nich szczególne znaczenie ma rodzaj diety. Dieta bogata w produkty wysokotłuszczowe, węglowodany, nitrozaminy oraz mięso zwiększa ryzyko rozwoju nowotworów jelita grubego, podczas gdy dieta roślinna bogata w świeże owoce oraz warzywa zmniejsza je [10, 14]. Kolejnym czynnikiem ryzyka jest brak aktywności fizycznej, skłonność do zaparć (wydłużenie kontaktu toksyn z błoną śluzową jelita), predyspozycje genetyczne [14], gruczolaki, przewlekłe choroby, jak np. wrzodziejące zapalenie jelita grubego, oraz wiek [2, 10].

Od lat 90. XX w. wprowadzenie wczesnej diagnostyki, rozpoznania oraz lepszego leczenia spowodowało znaczne obniżenie umieralności na różne nowotwory, w tym na raka jelita grubego. Postępowanie to przyczyniło się do rozpoznawania i leczenia tego nowotworu we wczesnej fazie jego rozwoju (stopień I, II) u około 50-70% chorych, a tym samym pozwoliło na osiągnięcie ok. 60% odsetka całkowitych wyleczeń w Stanach Zjednoczonych [15].

4. Rozwój raka jelita grubego

Rozwój raka jelita grubego rozpoczyna się od niewielkiego ogniska dysplastycznego w nabłonku tego jelita, po czym następuje stopniowy rozrost tej zmiany, prowadzący w konsekwencji do gruczolaka, który stopniowo nabywa charakter inwazyjny prowadząc do pojawienia się raka. Badanie zdolności polipa do przejścia w formę złośliwą polega na określeniu jego wielkości, typu makroskopowego i mikroskopowego oraz stopnia dysplazji. Dysplazja może być lekka, średnia lub ciężka, a jej obecność jest uznawana już za zmianę przedrakową, natomiast nowotwór – za złośliwy [2, 14].

4.1. Predyspozycja genetyczna oparta na modelu ACS (adenoma – carcinoma sequence – sekwencja od gruczolaka do raka)



Rys. 1. Sekwencja zaburzeń genetycznych prowadzących do rozwoju raka jelita grubego [14]

Rys. 1 przedstawia kolejne etapy prowadzące do wykształcenia nowotworu od momentu pojawienia się ogniska dysplastycznego, z dodatkowym uwzględnieniem zmian genetycznych zachodzących w komórkach w oparciu o model *adenoma-carcinoma sequence* (ACS; predyspozycja genetyczna do powstawania raka jelita grubego). Model ten zakłada istnienie mutacji w obrębie genu naprawy DNA (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*) oraz genu supresorowego *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*) odpowiedzialnego za podział, migrację, adhezję i różnicowanie komórek [10]. Mutacja w genie *APC* powoduje zespół rodzinnej

polipowatości gruczolakowatej (FAP), charakteryzujący się osłabieniem zdolności do wzajemnego przylegania komórek, zaburzeniem ich różnicowania oraz nabyciem zdolności inwazyjnych. Często dochodzi również do mutacji w obrębie genu *p53* (główny strażnik ludzkiego genomu) oraz w onkogenie *K-ras* (białka Ras odpowiadają za przekazywanie sygnałów z receptorów błonowych do wnętrza komórki, regulując między innymi proliferację) [16]. Badania Staton i jej zespołu (2007) dodatkowo wykazały związek między ACS, a ekspresją czynnika tkankowego (TF) oraz ekspresją czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF), która wzrosła w początkowej dysplazji w ACS [2, 17].

4.2. Klasyfikacja nowotworów jelita grubego

Obecnie istnieje szereg różnorodnych klasyfikacji nowotworów związanych z jelitem grubym. Najpopularniejsze z nich to: klasyfikacja histologiczna raka jelita grubego wg WHO, klasyfikacja makroskopowa zaawansowanego raka jelita grubego, klasyfikacja Duke'sa, klasyfikacja Astlera-Collera, klasyfikacja TNM (*ang. Tumor Nodules Metastases* – Nowotwór, Węzły chłonne, Przerzuty odległe) [1, 18].

Pod względem jasności opisu, szczególnie interesująca jest klasyfikacja Duke'sa, wyróżniająca cztery główne klasy nowotworów jelita grubego – A, B, C i D. A – nowotwór nie przekracza jeszcze ściany jelita, B – nowotwór przekracza ścianę jelita grubego do błony surowiczej lub tkanki tłuszczowej około odbytniczej, C – dotyczy przerzutów w węzłach chłonnych, natomiast D – przerzutów odległych [18].

5. Walka z rakiem jelita grubego

W przypadku raka jelita grubego szczególnie istotna jest zarówno profilaktyka pierwotna jak i wtórna. Profilaktyka pierwotna polega na zapobieganiu chorobie poprzez minimalizację czynników ryzyka co oznacza m.in., prawidłowe odżywianie się, regularne wypróżnianie, dbanie o kondycję psychiczną i fizyczną. Oprócz samego zapobiegania, niezwykle ważna jest również profilaktyka wtórna, czyli wykrywanie i zapobieganie chorobie na wczesnym etapie. W przypadku raka jelita grubego są to badania przesiewowe (skriningowe) oraz kolonoskopia [2, 19].

Przykładem profilaktyki pierwotnej, jak i po części terapii przeciwnowotworowej jest chemoprewencja. Polega ona na stosowaniu różnych substancji (naturalnych bądź syntetycznych) w celu powstrzymania, opóźnienia lub odwrócenia procesu nowotworowego. Wykorzystuje się tutaj wiedzę o transformacji nowotworowej zarówno na poziomie komórkowym, jak i molekularnym (od kumulacji błędów w genomie do zmian biochemicznych w komórce) [20]. W ciągu ostatnich 30 lat opisano ponad 200 potencjalnie aktywnych substancji mogących znaleźć zastosowanie w chemoprewencji.

Wśród nich znajdują się takie substancje jak kwas acetylosalicylowy (ASA) i jego pochodne, wapń, witamina D₃, selen, kwas foliowy, niektóre monoterpeny. Przykładem mechanizmu działania chemoprewencyjnego jest mechanizm działania pochodnej kwasu acetylosalicylowego – 5-ASA (kwas 5-aminosalicylowy), opierający się głównie na hamowaniu procesu zapalnego oraz hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych. Oprócz wymienionej aktywności kwas 5-aminosalicylowy, może bezpośrednio działać m.in. na szlak Wnt/ β -katenina (poprzez hamowanie proteinowej fosfatazy 2A), który odgrywa istotną rolę w molekularnym mechanizmie procesów nowotworowych [21]. W przypadku monoterpenu, wykazano, że alkohol perylowy oraz limonen spełniają funkcje zarówno chemoprewencyjne jak i przeciwnowotworowe. Ich aktywność polega m.in. na posttranslacyjnym hamowaniu izoprenylacji onkoproteiny P21^{ras}, biorącej udział w wewnątrzkomórkowym przekazywaniu sygnałów i proliferacji, hamowaniu syntezy koenzymu Q, aktywacji ekspresji TGF- β (zahamowanie cyklu komórkowego oraz indukcja apoptozy) [22].

Wykrycie raka nie oznacza jeszcze wyroku śmierci. Terapia w przypadku raka jelita grubego jest zależna od stadium w jakim znajduje się nowotwór. Obecnie, najczęściej stosuje się interwencję chirurgiczną, chemioterapię, radioterapię, jak również leczenie skojarzone, wykorzystujące połączenie kilku różnych rodzajów terapii. W ostatnim czasie prowadzone są badania nad innymi alternatywnymi metodami leczenia, wśród nich nad terapią angażującą leki ukierunkowane molekularnie (przeciwciała monoklonalne – terapia celowana). [2, 11, 23] Prowadzone są również badania nad innymi związkami o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej np. porfirydami, które mogą znaleźć zastosowanie w fotodynamicznej terapii raka jelita grubego [24].

5.1. Interwencja chirurgiczna

Leczenie chirurgiczne jest radykalnym rozwiązaniem, ale w wielu przypadkach niezbędnym. Podczas zabiegu usuwany jest cały odcinek jelita grubego zajęty przez nowotwór, łącznie z węzłami chłonnymi w pobliżu zmienianym nowotworowej. Po usunięciu tkanki, łączy się rozcięte części jelita grubego [25]. Leczenie operacyjne pierwotnego raka jelita grubego nazywane jest często „chirurgią kompromisów”. Pojęcie to związane jest z rakiem odbytnicy, gdyż w przypadku guza zlokalizowanego zbyt blisko odbytu, muszą być usunięte również zwieracze [26]. W zależności od tego czy ma się do czynienia z rakiem okrężnicy, czy też odbytnicy oraz w zależności od stopnia rozwoju nowotworu stosuje się różne kombinacje leczenia skojarzonego. W przypadku raka okrężnicy przy stopniach I oraz II stosuje się interwencję chirurgiczną, w stopniu III – chirurgię, następnie chemioterapię, w stopniu IV – leczenie objawowe, chemioterapia-chirurgia-chemioterapia, chirurgia-chemioterapia, sama chemioterapia, jednak postępowanie zawsze należy indywidualizować w stosunku do każdego pacjenta [2, 27].

5.2. Chemioterapia

Chemioterapia jest zwykle leczeniem uzupełniającym (adiuwantowym) interwencję chirurgiczną. Badania wykazują, że stosowanie chemioterapii u pacjentów z przerzutami, wydłuża ich średnie przeżycie oraz poprawia jakość życia w porównaniu z samą opieką paliatywną. Chemioterapia podnosi jednoroczne przeżycie z 34% do 50% oraz wydłuża średni czas przeżycia o 3,7 miesiąca. Oprócz korzystnego działania, chemioterapia wpływa również na komórki prawidłowe powodując różne efekty uboczne, które można częściowo zmniejszać wykorzystując leczenie paliatywne [2, 28].

FDA (Food and Drug Administration) zaleca wykorzystanie w chemioterapii: 5-fluorouracylu (inhibitor syntazy tymidylowej – enzymu uczestniczącego w syntezie nukleotydów) zaburzającego syntezę DNA i proliferację komórek nowotworowych, kapecytabinę (karbaminian fluoropirymidyny – prekursor 5-fluorouracylu), oksaliplatynę (pochodna platyny o działaniu proapoptycznym w stosunku do komórek nowotworowych), irinotekan (pochodna alkaloidu: kamptotecyny, blokująca topoizomerazę I, odpowiadającą za hamowanie replikacji oraz transkrypcji DNA [9, 26, 28, 29]. W celu uzyskania lepszego wyniku działania chemioterapii, często wykorzystuje się łączne używanie kilku substancji chemicznych zamiast schematu monoterapii, np. łączenie kapecytabiny z oksaliplatyną lub irinotekaniem [9]. Chemioterapia może mieć również charakter paliatywny, gdy przerzuty uniemożliwiają interwencję chirurgiczną [2, 23].

5.3. Radioterapia

Radioterapia jest leczeniem wykorzystującym promieniowanie jonizujące. Obok chemioterapii jest obecnie najskuteczniejszą metodą walki z rakiem. Dzieli się ją na radioterapię radykalną – mającą na celu zniszczenie nowotworu, radioterapię paliatywną – mającą na celu złagodzenie bólu powodowanego przez nowotwór (gdy nie istnieje możliwość wyleczenia pacjenta) oraz radioterapię objawową – zmniejszenie bólu powodowanego przez przerzuty [30]. Radioterapia raka jelita grubego obejmuje przedoperacyjne i pooperacyjne napromienianie. Radioterapię przedoperacyjną można podzielić na krótkotrwałą (5-7 dni) i długotrwałą (5-6 tygodni). Zespół Guckenberger'a wykazał korzystny wpływ krótkiej radioterapii (dwa razy dziennie od 2,9 do 29 Gy) przed wycięciem nowotworu oraz kolejnej radioterapii po zabiegu chirurgicznym. Terapia ta zwiększała przeżycie pacjentów w porównaniu z grupą kontrolną, w której wykonano samą interwencję chirurgiczną [31]. Radioterapia przedoperacyjna zmniejsza ryzyko wystąpienia nawrotu miejscowego o ponad połowę, dodatkowo zmniejsza ryzyko powikłań pooperacyjnych [2, 10].

5.4. Terapia celowana

W leczeniu chorych na raka jelita grubego, a w szczególności osób, u których wystąpiły już przeżuty do wątroby lub płuc wykorzystuje się terapię celowaną. Terapia ta opiera się na koncepcji „indywidualizacji leczenia”, wykorzystując leki ukierunkowane molekularnie [11]. Lekami takimi są przeciwciała skierowane przeciwko określonym antygenom związanym tylko z komórkami nowotworowymi [32]. W terapii rozsiańego raka jelita grubego najczęściej wykorzystuje się takie przeciwciała monoklonalne jak: cetuksymab i panitumumab. Przeciwciała te są skierowane przeciwko naskórkowemu czynnikowi wzrostu EGFR (Epithelial/Epidermal Growth Factor Receptor) i mają identyczny mechanizm działania. Przylączają się do zewnątrzkomórkowej domeny EGFR powodując hamowanie przekazywania sygnału w dwóch szlakach: RAS-RAF-MAPK (szlak odpowiedzialny za podziały komórek guza) oraz PI3K-PTEN-AKT (szlak odpowiedzialny za przeżywanie komórek nowotworowych oraz ich zdolności inwazyjne) [11, 32, 33, 34, 35]. Innym przeciwciałem monoklonalnym wykorzystywanym w walce z rakiem jelita grubego jest bewacizumab. Mechanizm jego działania polega na wiązaniu się do czynnika wzrostu nabłonka naczyńowego VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), powodując zmniejszenie unaczynienia nowotworu oraz hamowanie angiogenezy [28, 36]. Różne badania wykazały dużą skuteczność działania przeciwciał monoklonalnych w połączeniu z chemioterapią. Substancje te posiadają jednak poważną wadę, ich skuteczność kliniczna wiąże się ze znaczną toksycznością [2, 26].

5.5. Terapia fotodynamiczna (PDT)

W ostatnich latach rośnie zainteresowanie naukowców wykorzystaniem niekonwencjonalnych metod walki z rakiem jelita grubego. Przykładem takiego działania jest terapia fotodynamiczna. Wykorzystuje ona działanie trzech różnych czynników: światła, fotouczulacza oraz tlenu. Pierwszy z czynników, czyli światło, jest niezbędny do wzbudzenia fotouczulacza (przejście na niego energii świetlnej). Fotouczulacz jest związkiem światłowrażliwym (światłoczuły). Przykładem spełniającym doskonale tę cechę są porfiryny. Są one organicznymi związkami heterocyklicznymi występującymi naturalnie w przyrodzie, zbudowanymi z czterech pierścieni pirolowych połączonych mostkami metinowymi w makrocykl, który często posiada w centrum metal, np. hem (żelazo), chlorofil (magnez). Wzbudzony fotouczulacz może działać na dwa różne sposoby. Może bezpośrednio przekazać energię wzbudzenia na tlen cząsteczkowy, powodując powstawanie tlenu singletowego, który z kolei powoduje powstawanie różnych produktów utlenienia biomolekuł, a w konsekwencji prowadzić do śmierci komórki. W drugim modelu fotouczulacz może generować powstawanie wolnych rodników, które oddziałując z tlenem cząsteczkowym prowadzą do powstawania rodników tlenowych, które również poprzez interakcje z biomolekułami komórkowymi prowadzą do jej śmierci [24, 37, 38].

Podsumowując, wprowadzanie nowych metod terapii raka jelita grubego w coraz większym stopniu przyczynia się do wydłużenia i podniesienia komfortu życia pacjentów dotkniętych tą chorobą.

Literatura

1. Nowacki M., *Nowotwory jelita grubego*, Wydawnictwo Wiedza i Życie, wyd.1., 1996
2. Frant M., *Aktywność biologiczna mentonu oraz trzech stereoisomerów mentolu wobec ludzkich komórek prawidłowych i nowotworowych jelita grubego w testach in vitro* – praca magisterska, UMCS Lublin, 2012
3. Hoser P., *Fizjologia organizmów z elementami anatomii człowieka*, wyd. 4, WSiP, 1996, s. 140-141
4. Feller A., Schuenke M., *The Digestive System, The Human Body and Introduction to Structure and Function*, Thieme, 2004, s. 377-441.
5. Miętkiewski E., *Zarys fizjologii lekarskiej*, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 1984, s. 389-395.
6. Van De Graaff K., Rhees R., *Human Anatomy and Physiology*, Schaum's Easy Outlines, New York, 2001, s. 139-147
7. Traczyk W. Z., *Fizjologia człowieka w zarysie*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2006, s. 421-424
8. Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M. J., *Cancer statistics*, CA – A Cancer Journal for Clinicians, 2009, 59, s. 225-249
9. Stec R., Bodnar L., Szczylik C., *Możliwości leczenia uzupełniającego w raku okrężnicy*, Współczesna Onkologia, 2009, 13, s. 53-60
10. Nowacki M., *Rak jelita grubego – zarys problemów*, Borgis – Nowa medycyna, 2001, s. 5-6.
11. Łacko A., Ekiert M., Soter K., *Czynniki predykcyjne u chorych na raka jelita grubego podawanych terapii ukierunkowanej na receptor czynnika wzrostu naskórka (EGFR)*, Onkologia w Praktyce Klinicznej, 2011, 7, s. 224-229.
12. Klimczak A., Kubiak K., Malinowska K., Dziki Ł., *Badanie aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych u chorych na raka jelita grubego*, Polski Merkuriusz Lekarski, 2009, 27, s. 470-473
13. Utracka-Hutka B., *Leczenie celowane chorych na raka jelita grubego – aktualny stan wiedzy*, Współczesna Onkologia, 2006, 10, s. 121-127
14. Groblewska M., Mroczo B., Szmitowski M., *Rola wybranych metaloproteinaz i ich inhibitorów w rozwoju raka jelita grubego*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2010, 64, s. 22-30
15. Korniluk J., Wcisło G., Nurzyński P., Stec R., Bodnar L., Obrocka B., Szczylik C., *Epidemiologia raka jelita grubego*, Współczesna Onkologia, 2006, 10(3) s. 136
16. Pasz-Walczak G., Jesionek-Kupnicka D., Kubiak R., Kordek R., *Podstawowe mechanizmy kancerogenezy w jelicie grubym*, Współczesna Onkologia, 2004, 8, s. 303-307
17. Staton C., Chetwood A., Cameron I., Cross S., Brown N., Reed M., *The angiogenic switch occurs at the adenoma stage of the adenoma-carcinoma sequence in colorectal cancer*, Gut - An International Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2007, 56, s. 1426-1432
18. *Rak jelita grubego klasyfikacja* [W:] Europacoln, [dostęp 03 luty 2014]. Dostępny w World Wide Web: <http://www.europacoln.pl/?klasyfikacja>, 12
19. Cieśla P., Cieśla B., Cieślak H., *Znaczenie profilaktyki wtórnej w nowotworze jelita grubego*, Problemy Pielęgniarstwa, 2008, 16, s. 316-320.

20. Starzyńska T., Wasilewicz M., *Chemoprewencja raka jelita grubego*, Polski Mercuriusz Lekarski, 2007, 23, s. 70-73
21. Degowska M., Rydzewska G., *Chemoprewencja raka jelita grubego – rola mesalazyny*, Przegląd Gastroenterologiczny, 2008, 3(5), s. 247-254
22. Trytek M., Paduch R., Fiedurek J., Kandefer-Szerszeń M., *Monoterpeny – stare związki, nowe zastosowania i biotechnologiczne metody ich otrzymywania*, Biotechnologia, 2007, 76, s. 135-155
23. Wronkowski Z., Brużewicz S., *Nowotwory jelita grubego*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2008
24. Lukšienė Ž., *Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment*, Medicina, 2003, 39(12), s. 1137-1150
25. Olędzki J., *Chirurgiczne leczenie nowotworów jelita grubego*, Współczesna Onkologia, 2006, 10, s. 137-138
26. Koton-Czarnecka M., *Rak jelita grubego: nowe terapie*, Postępy w medycynie, 2005, 14, s. 111
27. Rekomendacje Konsultanta Krajowego w Chirurgii Onkologicznej, Rak Jelita Grubego (RKKwChO), stan na 01.11.2011
28. Meyerhardt J., Mayer R., *Systemic Therapy for Colorectal Cancer*, The New England Journal of Medicine, 2005, 352, s. 476-487
29. Tournigand C., Andre T., Achille E., Lledo G., Flesh M., Mery-Mignard D., Quinaux E., Couteau C., Buyse M., Ganem G., Landi B., Colin P., Louvet C., de Gramont A., *FOLFIRI Followed by FOLFOX6 or the Reverse Sequence in Advanced Colorectal Cancer: A Randomized GERCOR Study*, American Society of Clinical Oncology, 2004, 22, s. 229-237
30. *Radioterapia*, [W:] EUROMEDIC Polska dla twojego zdrowia, [dostęp 03 luty 2014]. Dostępny w World Wide Web: <http://www.euromedic.pl/radioterapia.aspx>
31. Guckenberger M., Wolf, Thalheimer A., Wehner D., Thiede A., Muller G., Sailer M., Flentje M., *Prospective phase II study of preoperative short-course radiotherapy for rectal cancer with twice daily fractions of 2.9 Gy to a total dose of 29 Gy – Long-term results*, Radiation Oncology, 2009, 4, s. 67
32. Lievre A., Bachet J.-B., Le Corre D., Boige V., Landi B., Emile J.-F., Cote J.-F., Tomasic G., Penna C., Ducreux M., Rougier P., Penault-Llorca F., Laurent-Puig P., *KRAS Mutation Status Is Predictive of Response to Cetuximab Therapy in Colorectal Cancer*, American Association for Cancer Research, 2006, 66, s. 3992-3995
33. Ciardiello F., Tortora G., *EGFR antagonists in cancer treatment*, The New England Journal of Medicine, 2008, 358, s. 1160-1174
34. Krejsa C., Rogge M., Sadee W., *Genetic variations and therapeutic targets: ERBBfamily*, Nature Reviews Drug Discovery, 2006, 5, s. 507-521
35. *Cetuximab*, [W:] DrugBank Open Data Drug & Drug Target Database, [dostęp 03 luty 2014]. Dostępny w World Wide Web: <http://www.drugbank.ca/drugs/BTD00071>
36. Rodriguez E., *Biology and Clinical Applications of Angiogenesis Inhibition in Malignant Disease*, The Molecular Oncology REPORT, 2007, 1
37. Dolmans D., Fukumura D., Jain R., *Photodynamic therapy for cancer*, Nature, 2003, 5(3), s. 380-387
38. Kulbacka J., Saczko J., Chwiłkowska A., Ługowski M., Banaś T., *Fototerapia jako alternatywna metoda leczenia nowotworów*, Borgis – Medycyna Rodzinna, 2008, 4, s. 88-95

Rak jelita grubego – etiologia i leczenie

Streszczenie

Obecnie ciężko jest spotkać osobę o całkowicie zdrowych jelitach. Na ich kondycję wpływa szereg różnorodnych czynników takich jak m.in. dieta, stres, jakość spożywanych pokarmów, brak właściwego odżywiania, przebyte choroby. Według szacunków rak jelita grubego zajmuje obecnie trzecie miejsce wśród nowotworów powodujących największą śmiertelność wśród ludzi na świecie, zaraz po raku płuc, piersi i gruczołu krokowego. Na Ziemi rocznie diagnozuje się około 1 milion przypadków zachorowań na tą chorobę. Obserwacje epidemiologiczne wskazują na czynniki środowiskowe jako główne przyczyny wpływające na rozwój raka jelita grubego. Rozwój jego rozpoczyna się od niewielkiego ogniska dysplastycznego w nabłonku jelita, po czym następuje stopniowy rozrost tej zmiany, prowadzący w konsekwencji do gruczolaka, który stopniowo nabywa charakter inwazyjny prowadząc do wystąpienia raka. W przypadku raka jelita grubego szczególnie istotna jest zarówno profilaktyka pierwotna jak i wtórna. Samo wykrycie raka nie oznacza jeszcze wyroku śmierci. Istnieje szereg różnych terapii zwalczających ten nowotwór. W przypadku raka jelita grubego terapia jest zależna od stadium w jakim znajduje się nowotwór. Obecnie najczęściej stosuje się interwencję chirurgiczną, chemioterapię, radioterapię, jak również leczenie skojarzone, wykorzystujące połączenie kilku różnych rodzajów terapii, czy też inne niestandardowe leczenia (m.in. terapia celowana, terapia fotodynamiczna).

Słowa kluczowe: rak jelita grubego, ACS

Colorectal cancer – etiology and treatment

Abstract

Currently, it is hard to meet a person with a completely healthy intestine. Various factors, such as diet, stress, quality of food, lack of proper nutrition, medical history have influence on intestines condition. According to statistics, colorectal cancer is in the top three cancers that are characterized by highest mortality rate (after lung, breast and prostate cancer). There are about one million cases of the disease diagnosed each year in the world. Epidemiological observations indicate that environmental factors affect the major causes in the development of colorectal cancer. The disease starts from small outbreaks of dysplasia in the epithelium of the intestine, followed by a gradual expansion of those changes, consequently leading to an adenoma which gradually acquires the character leading to an invasive cancer. In the case of colorectal cancer both primary and secondary prevention are equally important. Despite the high mortality, the detection of cancer does not mean a death sentence. There are various different therapies that help to combat this cancer. In the case of colorectal cancer treatment depends on the stage at which the cancer is. Surgical intervention, chemotherapy, radiotherapy as well as combined therapy (using a combination of several different kinds of therapy), or other non-standard treatment (including targeted therapy, photodynamic therapy) are the most commonly used.

Keywords: colorectal cancer, ACS

RAK PŁUCA

1. Wstęp

Onkogeneza to proces wieloetapowy w wyniku którego prawidłowe komórki organizmu ulegają przekształceniu w komórki nowotworowe. Niekontrolowany rozrost komórek powoduje osłabienie i wyniszczenie organizmu, co w konsekwencji doprowadza do jego śmierci. Rak płuca zajmuje pierwsze miejsce pod względem wykrywalności u mężczyzn i czwarte u kobiet. Jest również główną przyczyną zgonów spowodowanych chorobami nowotworowymi u mężczyzn i drugą, po raku piersi u kobiet [1]. Około 80-85% pacjentów umiera w ciągu 5 lat od wykrycia choroby [2]. Dane z 2008 roku wskazywały, że w skali globalnej w ciągu roku raka płuca zdiagnozowano u 1,6 mln osób (13% wszystkich przypadków nowotworów) natomiast w tym samym czasie zmarło na tą chorobę 1,4 mln ludzi (18% wszystkich zgonów spowodowanych chorobami nowotworowymi). Szczególnie duże ryzyko wystąpienia tego nowotworu dotyczy krajów Europejskich i Ameryki Północnej [1]. W 2012 roku w Polsce rak płuca był najczęściej wykrywanym nowotworem (u mężczyzn 20%, u kobiet 9%) jak i był przyczyną 1/3 zgonów spowodowanych chorobami nowotworowymi [3].

2. Klasyfikacja

Ze względu na morfologię komórek, przebieg choroby, leczenie i szereg innych cech nowotwory płuc możemy podzielić na dwie główne grupy [4,5]:

1. Niedrobnokomórkowy rak płuc (NDRP) z trzema głównymi typami histologicznymi:

Rak gruczołowy (*adenocarcinoma*) – 35% wszystkich przypadków. Zajmuje najczęściej obwodowe części płuc, prowadząc do wysięku opłucnego [5]. Powstaje z gruczołów śluzowych nabłonka oskrzeli obwodowych, szczególnie w przypadkach pierwotnego zwłóknienia płuc lub obecności blizn. Często towarzyszą mu zmiany martwicze oraz znaczna produkcja śluzu [6]. Dodatkowo wyróżnia się formę pre-inwazyjną, minimalnie inwazyjną i inwazyjną z których dwie pierwsze dają duże szanse na całkowitą regenerację fragmentu tkanki po resekcji. Ponadto gruczolakorak powiązany jest silnie z paleniem tytoniu [7].

¹ arkadiuszczerwonka87@interia.pl,

² Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Zakład Wirusologii i Immunologii, <http://www.biolbiot.umcs.lublin.pl>

Rak płaskonabłonkowy (*carcinoma planoepitheliale*) – 30% wszystkich przypadków. Diagnozowany przede wszystkim u mężczyzn. Wykazuje skłonność do rozwoju w centralnej części płuc [5]. Powstaje w wyniku zmian prawidłowego, walcowatego, posiadającego rzęski nabłonka oskrzelowego. Dochodzi wówczas do rozrostu (hiperplazji), przekształcania (metaplazji) i zmian morfologicznych (dysplazji) komórek nabłonka. Zmiany te prowadzą do keratynizacji komórek i stanu *carcinoma in situ* (komórki nieuporządkowane, bez rzęsek, jądra atypowe). W raku płaskonabłonkowym może dochodzić do tworzenia mostków międzykomórkowych i pereł keratynowych. W zależności od nasilenia tych procesów wyróżniamy raka – wysokozróżnicowanego, średnierzóżnicowanego i niskozróżnicowanego [6].

Rak wielkokomórkowy (*carcinoma macrocellulare*) – 10% wszystkich przypadków [5]. Wywodzi się z oskrzeli subsegmentalnych lub większych i może rozwijać się wewnątrz lub obwodowo. Nie stwierdza się obecności pomostów międzykomórkowych, rogowacenia i wytwarzania śluzu. Komórki w guzie są zazwyczaj mało zróżnicowane. Ze względu na wielkość, masę i skład komórek, w obrębie tej postaci wyróżniono raka- olbrzymiokomórkowego, jasnokomórkowego, (komórki szczególnie bogate w glikogen) i mieszanego [6].

2. Drobnokomórkowy rak płuc (DRP) – około 20% przypadków. Cechuje się agresywnym przebiegiem i często przyjmuje postać rozsianą. Z tych powodów rokowania w leczeniu są zazwyczaj złe. W większości przypadków posiada zdolność do wytwarzania związków o charakterze polipeptydów, których obecność w ustroju związana jest z wywoływaniem licznych zespołów paranowotworowych [5]. Wywodzi się prawdopodobnie z drobnych pierwotnych komórek podstawnej warstwy błony śluzowej oskrzeli [6]. Ze względu na zaawansowanie DRP wyróżniamy stadium ograniczone (ang. *limited-stage* – LD gdy zmiany nowotworowe są ograniczone do połowy klatki piersiowej, bez wysięku opłucnego) i rozległe (ang. *extensive-stage* – ED gdy nie są spełnione warunki LD) [8]. Zapadalność na DRP systematycznie spada od lat 80 XX w. (z 17,26% w 1986 r. do 12,95% w roku 2002) co prawdopodobnie wiąże się z wycofywaniem z rynku papierosów bez filtra [8]. Ponadto w typie tym często można zaobserwować mutacje w genie dla białka KRAS (20%–30% przypadków) [9].

W niewielkiej liczbie przypadków, pojawiają się inne nowotwory takie jak: rak pleomorficzny z elementami mięsakowymi i mięsako-podobnymi, rak o utkaniu mieszanym z elementami raka płaskonabłonkowego i gruczołowego [3] oraz rakowiaki, czyli zazwyczaj wolno rosnące guzy neuroendokrynne (NET- neuroendocrine tumors) występujące w przewodzie pokarmowym (66% przypadków) i w systemie oskrzelowo płucnym (31% przypadków). Prawdopodobnie prekursorami rozwoju rakowiaka są wyspecjalizowane komórki produkujące serotoninę (5-HT). Częstość występowania tego typu nowotworów w ostatnich latach znacznie wzrosła [10].

3. Objawy

W większości przypadków rak płuc wykrywany jest w zaawansowanych stadiach rozwoju, co przekłada się na komplikacje w procesie leczenia i znaczny wzrost ilości zgonów. Objawy wynikające z obecności nowotworu płuca zależą od wielkości guza, miejsca jego położenia, stanów zapalnych w pobliskich tkankach i organach, zajęcia węzłów chłonnych i przerzutów oraz mogą być związane z zespołami paranowotworowymi. Do objawów ogólnych towarzyszących chorobie nowotworowej płuc można zaliczyć: kaszel, chrypkę, duszność, krwioplucie, osłabienie, ubytek masy ciała, podwyższoną ciepłotę ciała, długotrwałe lub nawracające zapalenia płuc, bóle klatki piersiowej i barku, zaburzenie przełykania, tamponadę serca, zespół żyły głównej górnej i zakrzepowe zapalenie żył [11].

Rak płuca jest również źródłem wielonarządowych przerzutów. Komórki guza pierwotnego cechują się dużą heterogennością wynikającą z nagromadzenia się w nich zmian genetycznych. W wyniku tego część z nich nabywa zdolności do przerzutowania. Sprzyja temu również specyficzne mikrośrodowisko panujące w niewielkiej odległości od guza, charakteryzujące się obniżonym stężeniem tlenu, rozwojem procesów zapalnych, tłumieniem odpowiedzi immunologicznej gospodarza i zwiększoną produkcją czynników wzrostowych [12]. Stwierdzono, że w wyniku przerzutów połowa zmian nowotworowych wykrywanych w mózgu pochodzi z raka płuca [13]. Stwarza to dodatkowe problemy, ponieważ wiele powszechnie stosowanych leków przeciwnowotworowych nie przenika przez barierę krew-mózg. Przerzuty w przypadku chorób nowotworowych, są jednymi z najistotniejszych przyczyn zagrażających życiu pacjentów. Szacuje się że 90% zgonów związana jest właśnie z nimi a nie z guzem pierwotnym [14]. Najczęstsze przerzuty w przypadku raka płuca obejmują:

- Mózg [15]
- Wątrobę [16]
- Skórę [17]
- Tkankę kostną [18]
- Nadnercza [19]
- Węzły chłonne i opłucną [4]

Oprócz objawów ogólnych rak płuca może być źródłem chorób paranowotworowych, definiowanych jako: zespół efektów patologicznych związanych z nowotworem, który nie jest spowodowany bezpośrednio przez guz lub jego przerzuty. Choroby te mogą mieć podłoże immunologiczne, (gdy organizm produkuje przeciwciała skierowane przeciw antygenom, które są wyrażane zarówno przez komórki guza jak i komórki prawidłowe) lub być spowodowane wytwarzaniem endokrynnych białek przez nowotwór, działających na prawidłowe organy i tkanki gospodarza [20,21]. Występowanie zespołów

paranowotworowych (paraneoplastycznych) jest szczególnie częste w przypadkach drobnokomórkowego raku płuc (DRP). Należą do nich:

Zespół Lamberta-Eatona (Lambert-Eaton myasthenic syndrome – LEMs) – spowodowany spadkiem uwalniania acetylocholin w autonomicznym układzie nerwowym oraz w błonie presynaptycznej połączeń nerwowomięśniowych, czego objawami są zanik odruchów i szybko postępujące męczenie się mięśni. Dodatkowo, zaburzenia funkcji nerwów czaszkowych doprowadzają do zaburzeń widzenia, opadania powiek, lub trudności w połykaniu. DERP koreluje z LEMs u 50-70% chorych [22]. Rozwój choroby związany jest z uczulaniem przez antygeny powierzchniowe komórek nowotworowych układu odpornościowego. Doprowadza to do wytwarzania autoimmunoglobulin skierowanych przeciw kanałom wapniowym w błonie komórek nerwowych, a w konsekwencji do spadku uwalniania jonów Ca^{2+} , co przekłada się na poziom acetylocholin [23].

Zespół Cushinga – 10% przypadków zespołu Cushinga wiąże się z wydzielaniem adrenokortykotropiny (ACTH) przez komórki guza. Doprowadza to do uwalniania kortyzolu z kory nadnerczy, co powoduje występowanie charakterystycznych objawów: przyrostu masy ciała, zmęczenia, osłabienia mięśni, wzrostu ciśnienia krwi, depresji, zaburzeń w procesach poznawczych, cukrzycy, nadmiernym owłosieniu i zaburzeniu cyklu menstruacyjnego [24, 25].

Hiperkalcemia – podwyższone stężenie Ca^{2+} we krwi może być spowodowane zarówno destrukcją tkanki w przypadku przerzutów do kości jak i syntezą przez komórki nowotworowe czynników o budowie i właściwościach zbliżonych do parathormonu. Dodatkowymi objawami mogą być zmniejszenie łaknienia, świąd skóry, zaparcia, zaburzenia pracy serca i nerek. [6]. Hiperkalcemia rozwija się u około 35% chorych na raka płuca [26].

Zapalenie układu limbicznego (*paraneoplastic limbic encephalitis* – PLE) rozwija się w 50%-70% przypadków raka płuca, szczególnie DERP. Najczęstszymi objawami są drgawki, zaburzenia pamięci i funkcji poznawczych oraz zmiany w usposobieniu i zachowaniu. Ponadto, postępujące zburzenie działania podwzgórza prowadzi do hipertermii, zaburzeń łaknienia i deficytu hormonów przysadki. Często objawy neurologiczne, wyprzedzają rozpoznanie guza o kilka tygodni lub miesięcy. Jednak ich niespecyficzny charakter i różnorodność utrudniają diagnozowanie raka płuca. [27]. Etiologia tego schorzenia ma podstawy autoimmunologiczne. U większości pacjentów w surowicy i w płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdza się występowanie przeciwciał anti-Hu mających powinowactwo do białek jądrowych wyrażanych zarówno w neuronach jak i w komórkach guza. Jednak nie powiązano tych immunoglobulin z bezpośrednimi uszkodzeniami układu nerwowego [28].

Choroby paranowotworowe mogą również dawać objawy ze strony tkanki łącznej (obrzęk stawów, bóle kostno-stawowe), skóry (nadmierna pigmentacja, zmiany brodawkowate), układu krwionośnego (niedokrwistość, zaburzenia krzepnięcia, zatory tętnicze), nerek (zwiększenie wydzielania wazopresyny) i powodować szereg objawów ogólnych (ubytek masy ciała, gorączka) [6, 11].

4. Czynniki ryzyka

Procesy nowotworowe doprowadzające do rozwoju raka płuca rozciągają się na lata lub nawet dekady. W tym okresie komórki przechodzą liczne zmiany na poziomie molekularnym. Nagromadzenie tych zmian doprowadza do przekształcenia komórek prawidłowych w nowotworowe [29]. Zmiany predysponujące do rozwoju raka płuca wynikają zarówno z mutacji pojedynczych genów (np: białek supresorowych P53, P16, RB lub protoonkogenów – KRAS, c-Myc, cyklina D1, EGFR) jak i mogą mieć źródło w procesach epigenetycznych (zaburzenia metylacji DNA, deacetylacji histonów) [30]. Należy również uwzględnić wpływ genotypu jak i czynników środowiskowych na rozwój tej choroby. Przypuszcza się, że 80% nowotworów płuca ma związek z paleniem tytoniu, a co 10 palacz umrze na raka płuca. Liczba zgonów spowodowanych rakiem płuca jest 10-15 razy większa w grupie osób palących niż u niepalących. Dodatkowo, palenie biernie zwiększa ryzyko rozwoju raka 2-3 krotnie [5]. Oprócz raka płuca, palenie promuje rozwój raka krtani, jamy ustnej, przełyku, nerek i pęcherza moczowego. Powoduje również rozwój przewlekłego zapalenia oskrzeli i choroby niedokrwiennej serca. Badając skład spalanego tytoniu wykryto przeszło 100 związków chemicznych, z czego wiele wykazuje aktywność nowotworową [6].

Udowodniono, że nikotyna pobudza do wzrostu komórki rakowe w płucach stymulując ich proliferację i rozwój procesów angiogennych. Chroniczna ekspozycja na nikotynę prowadzi do mitotycznej stymulacji komórek, zwiększenia ekspresji czynników wzrostowych i zaburzeń wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałnych, podnosząc tempo wzrostu komórek nowotworowych przy jednoczesnym zahamowaniu apoptozy. Wpływa między innymi na szlaki Raf/MAPK/ERK, Akt/ mTOR, oraz ekspresję NF- κ B, COX-2, Bcl-2 [31]. Ponadto, nikotyna indukuje sekrecję białek regulacyjnych z rodziny kalpain. Są to zależne od wapnia proteazy cysteinowe, które biorą udział w enzymatycznym cięciu wielu substratów podczas takich procesów jak adhezja, migracja, różnicowanie, apoptoza czy autofagia. Proteazy te są również zaangażowane w inaktywację wielu białek supresorowych, takich jak P53, P73, NF2 i inhibitorów kinaz zależnych od cyklin P19^{INK4d} i P27^{Kip1}. Inhibicja kalpain ogranicza wzrost komórek nowotworowych oraz zwiększa poziom aktywnego białka P53, co doprowadza do intensywniejszej apoptozy komórek nowotworowych [32]. Należy zwrócić uwagę na istotną rolę białka P53 dla procesów nowotworzenia. Reguluje ono cykl komórkowy i apoptozę, a jego gen jest jednym z najczęściej mutujących w komórkach ludzkich nowotworów. Główną funkcją P53 jest kontrola replikacji DNA poprzez indukcję białka P21, co doprowadza do zahamowania cyklu komórkowego. (Chociaż potwierdzono regulację białka P21 na drodze niezależnej od P53). Aktywacja szlaku P53/P21 często pojawia się w odpowiedzi na czynniki uszkodzające DNA, do których należą związki powstałe na skutek spalania tytoniu. Dane wskazują, że mutacje

w genie *TP53* są najbardziej powszechną zmianą genetyczną podczas rozwoju raka płuc. 50-60% przypadków NDRP i 90% DRP zawiera zmutowany gen *TP53* [31]. W niektórych przypadkach mutacja ta wiąże się również ze spożywaniem alkoholu (30g/dzień). Pozostaje to nadal kwestią sporną i prawdopodobnie również ma to związek z towarzyszącym konsumpcji paleniem wyrobów tytoniowych [33].

W 9 do 15% przypadków przypuszcza się że rak płuca wywołany jest przez inne czynniki niż palenie tytoniu. Między innymi, ekspozycją na powietrze zanieczyszczone szczególnie tlenkami azotu, dwutlenkiem siarki i innymi związkami zawartymi w spalinach [29]. Niektóre badania sugerują, że cząsteczki stałe o średnicy poniżej 10 mikrometrów mogą być związane z etiologią raka płuc. Wykazano, że gazowe produkty spalania z silników samochodowych wywołują nowotwory u zwierząt laboratoryjnych. W tym świetle, rak płuc może być postrzegany jako kolejna choroba cywilizacyjna związana z różnymi rodzajami zanieczyszczeń powietrza powstającymi w wyniku działalności człowieka [34]. Ponadto, w wielu procesach przemysłowych i technologicznych powstają związki kancerogenne zagrażające nie tylko pracownikom, ale także ludziom znajdującym się bezpośrednio w obszarze fabryk i ośrodków przemysłowych. Ryzyko wiąże się między innymi z produkcją koksu, wydobywaniem uranu i hematytów, przetwórstwem chromu, niklu, produkcją akumulatorów, azbestu, chlorku winylu i węglowodorów aromatycznych. Czynnikiem indukującym proces kancerogenezy mogą być substancje zawierające beryl. Są one gromadzone w organizmie i pozostają w nim przez długi czas. Wywołany przez nie rak płuca może ujawnić się nawet po 20-30 latach po ekspozycji na związki berylu [6]. Również infekcje wirusowe sprzyjają rozwojowi chorób nowotworowych. Gdy rak płuca występuje u osób nigdy nie palących, proces kancerogenezy często wiąże się z onkogennym wpływem infekcji wirusowych między innymi *Papillomaviridae* i *Polyomaviridae*. W NDRP stwierdzono, że w 20-25% przypadków koreluje z przebytymi infekcjami HPV (wirus brodawczaka ludzkiego) [35]. Uwagę zwraca również fakt, że pośród przypadków zachorowania nie związanych z paleniem tytoniu ryzyko wystąpienia choroby jest 15-20% wyższe u kobiet niż u mężczyzn pomimo tego że mężczyźni pracują w warunkach zwiększonego ryzyka pod względem czynników rakotwórczych 4,9 razy częściej niż kobiety [36]. Należy pamiętać, że rak płuc jest chorobą, której prawdopodobieństwo można zmniejszyć poprzez wyeliminowanie czynników ryzyka z bezpośredniego otoczenia [6].

5. Diagnostyka i metody leczenia

Chorobę rozpoznaje się najczęściej u mężczyzn między 55-65 rokiem życia, w znacznym stadium zaawansowania. 80% pacjentów umiera w ciągu roku [5]. W ostatnich latach obserwuje się zmianę tendencji zachorowań w związku z płcią. Dochodzi do spadku liczby zachorowań wśród mężczyzn przy jednoczesnym wzroście u kobiet [36]. W określeniu stopnia zaawansowania nowotworu pomocne są głównie techniki tomografii komputerowej, bronchoskopii, rentgenografii, rezonansu magnetycznego, pozytonowej tomografii emisyjnej, ultrasonografii, trepanobiopsji szpiku kostnego, scyntygrafii kości, torakoskopii oraz biopsji węzłów chłonnych. Za badanie wspomagające wykrycie nowotworu płuc można uznać czynnościową ocenę wydolności oddechowej i krążenia. W przypadku DRP, czynnikami prognostycznymi mogą być podwyższony poziom aktywności fosfatazy zasadowej i dehydrogenazy mleczanowej, obniżenie stężenie sodu, hemoglobiny i albumin, oraz podwyższona liczba neutrofilów [4]. Ponadto, nowoczesne metody pozwalają na wczesne wykrywanie zmian poziomu metylacji (np. genów *TP53*, *CDKN2A*), mutacji (*EGFR*), utraty heterozygotyczności lub profilu mRNA i miRNA. Do ich wykrywania stosuje się metody molekularne między innymi analizę PCR (łańcuchowa reakcja polimerazy) czy hybrydyzację z sondą fluorescencyjną *In situ* (FISH) [37].

Wiele substancji produkowanych przez nowotwór jest wydzielanych bezpośrednio do krwi lub dostają się tam poprzez rozpad komórek. Niektóre z nich mogą być wykorzystane jako markery nowotworowe. W przypadku DRP - 60% chorych wykazuje podwyższone stężenie kalcytoniny we krwi, 40% kinazy keratynowej frakcji mózgowej, około 35% ADH, a nieco mniejsza ilość pacjentów podwyższoną zawartość bombezyny. Jednym z najbardziej przydatnych markerów w śledzeniu rozwoju raka płuc jest enolaza neuronowa (neuron specific enolase NSE). Podwyższone stężenie enzymu wykrywa się w 70% przypadków DRP i 25% NDRP. Poziom NSE dobrze koreluje zarówno z regresją jak i progresją guza [6]. Metabolizm komórek nowotworowych różni się od komórek prawidłowych. W konsekwencji może dochodzić nawet do zmian ogólnoustrojowych. Te mogą być odzwierciedlane w profilu aminokwasów w osoczu. W przypadku raka płuca zaobserwowano spadek aminokwasów glukogennych (GAAs) (np. argininy) i wzrost wolnego tryptofanu, ornityny i glutaminianu [38]. Zmiany te można wykorzystać w diagnostyce.

W zależności od typu nowotworu, wielkości guza, nacieków jakie powoduje oraz stopnia zajęcia węzłów chłonnych możliwe są różne warianty leczenia [4]:

NDRP o niskim stopniu zaawansowania - usuwa się zazwyczaj poprzez interwencję chirurgiczną, najczęściej z całkowitą resekcją pobliskich węzłów chłonnych. W leczeniu pooperacyjnym, które ma na celu przeciwdziałanie przerzutom, stosuje się klasyczną chemoterapię, szczególnie z udziałem cis-

platyny (zmniejszenie ryzyka zgonu o 13%, poprawienie wskaźnika 5-letniego przeżycia o 5%). W rzadkich przypadkach stosuje się radioterapię.

NDRP o średnim stopniu zaawansowania - stosuje się leczenie skojarzone. Po wstępnej chemioterapii, która ma na celu zmniejszenie pierwotnej masy guza, stosuje się interwencję chirurgiczną. W innych przypadkach po chemioterapii następuje intensywna radioterapia.

NDRP o najwyższym stopniu zaawansowania – z powodu złych rokowań stosuje się zazwyczaj leczenie paliatywne obejmujące radioterapię i leczenie objawowe.

Rak płuca można również zwalczać na poziomie molekularnym. Z rozwojem szeregu procesów takich jak angiogeneza, proliferacja, hamowanie apoptozy czy zdolności do tworzenia przerzutów związana jest aktywacja receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR). Receptor ten uruchamia wewnątrzkomórkową kaskadę sygnałów, poprzez kinazę tyrozynową (TK) [4]. Gefitynib był pierwszym zastosowanym inhibitorem TK i jest obecnie wykorzystywany w leczeniu zaawansowanego NDRP [39]. Przeciwno EGFR skierowane są również przeciwciała monoklonalne – cetuksymab i panitumumab [40]. Z rozwojem raka płuca związany jest również czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (VEGF). Jest on jednym z najsilniejszych białek promujących rozwój naczyń. Działa jako mitogen i jest odpowiedzialny za przesyłanie sygnałów hamujących procesy śmierci komórki. NDRP wykazuje wysoki poziom ekspresji białka VEGF i jego mRNA [41]. W związku z tym w leczeniu stosuje się immunoglobuliny (np. bewacizumab) o wysokim powinowactwie do VEGF, hamujące jego aktywność [4]. Przeciwciała stosowane są również w celu neutralizacji czynnika wzrostu pochodzenia wątrobowego (HDGF), który często ulega nadekspresji w przypadku raka płuca. HDGF posiada zdolność wiązania heparyny, wykazuje działanie mitogenne na różne typy komórek oraz bierze udział w procesie angiogenezy, co zaostrza przebieg choroby i obniża efektywność leczenia [42]. W przypadku DRP [4], którego komórki charakteryzują się szybkim wzrostem i krótkim czasem podwojenia populacji, często występuje wczesny rozsiew poprzez naczynia krwionośne. Zazwyczaj, pomimo pierwotnej wrażliwości na cytostatyki, następuje szybki wzrost oporności na leki. Powtórny rozwój choroby nowotworowej obserwuje się u 20% pacjentów. Głównym rodzajem leczenia stosowanym w DRP jest chemioterapia wielolekowa skorelowana z radioterapią. Stosowane terapii łączonych zmniejsza ilość powikłań, szczególnie dzięki zastosowaniu w tej pierwszej, etopozyny i cis-platyny. W przypadku DRP, w chwili rozpoznania, u 10% pacjentów dochodzi do przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego. Tendencja ta wzrasta wraz z rozwojem choroby, i u pacjentów którzy przeżyli ponad 2 lata z nowotworem, przerzuty do OUN stwierdza się u 60-80% badanych [4]. Podejmowane są próby leczenia z wykorzystaniem inhibitorów skierowanych przeciw białkom szlaków sygnałowych między innymi powierzchniowemu receptorowi c-Kit, wykazującemu aktywność kinazy tyrozynowej (inhibitor – imatinib), którego ekspresja występuje w 40% DRP.

Ponadto wykonywane są próby z inhibitorami Bcl-2 (AT-101, ABT-263, obatoklaks, atysensowne oligodeoksyrybonukleotydy – G3139 co ma na celu zwiększenie aktywności substancji indukujących apoptozę), kompleksu mTor (ewerolimus), kinazy PLK1 (BI 2536 – wolasertib), Ras (R115777 – tipifarnib) lub próby stworzenia szczepionki zawierającej prawidłowe białko P53 przenoszone przez komórki dendrytyczne [8].

6. Podsumowanie

Choroby nowotworowe są wciąż jednym z największych wyzwań stojącym przed współczesną medycyną. Co roku, kosztem znacznych nakładów finansowych, badanych jest wiele substancji zarówno pochodzenia naturalnego jak i syntetycznego w celu odkrycia odpowiednich leków do walki z rakiem. W obecnych czasach gdy wielu naukowców i lekarzy uważa, że choroby nowotworowe osiągnęły status pandemii, należy podjąć zdwojone wysiłki w badaniach nad rozwojem i leczeniem raka. Być może rozwiązaniem nie jest pojedyncza substancja lecz lek wieloskładnikowy, złożony z odpowiednich komponentów współdziałających ze sobą, o działaniu na wiele różnych elementów związanych z metabolizmem komórki nowotworowej i uwzględniający cechy osobnicze pacjenta.

Literatura:

1. Jemal, A., Bray, F., Center, M.M., Ferlay, J., Ward, E., Forman, D. *Global cancer statistics*. CA Cancer Journal for Clinicians 2011 61 (2) , s. 69-90
2. Wang YC, Chen BS. *A network-based biomarker approach for molecular investigation and diagnosis of lung cancer*. BMC Med Genomics. 2011 Jan 6;4:2
3. Wojciechowska, U., Didkowska, J. *Nowotwory w Polsce w 2012 roku* [Cancer in Poland in 2012]. Nowotwory 2013 Volume 63, Issue 3 s. 197-216
4. Krzakowski M. *Onkologia kliniczna Tom 2*. Wydawnictwo Medyczne Borgis Warszawa. 2006 s. 802-831.
5. Kruczyńska K. et all. *Onkologia kliniczna Podręcznik dla studentów i lekarzy*. Państw. Zakład Wydawnictw Lekarskich. Warszawa. 1992 s. 223-233
6. Papliński Z., Jassem J., *Rak płuc*. Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa 1994. s.22-35, 44-52,
7. Gaikwad, A., Gupta, A., Hare, S., Gomes, M., Sekhon, H., Souza, C., Inacio, J., (...), Seely, J. *Primary adenocarcinoma of lung: A pictorial review of recent updates*. European Journal of Radiology 2012 81 (12) , s. 4146-4155
8. Lu, H.-Y., Wang, X.-J., Mao, W.-M. *Targeted therapies in small cell lung cancer* (Review). Oncology Letters 2012 5 (1) , s. 3-11
9. Aviel-Ronen, S., Blackhall, F.H., Shepherd, F.A., Tsao, M.-S. *K-ras mutations in non-small-cell lung carcinoma: A review*. Clinical Lung Cancer 2006 8 (1) , s. 30-38
10. Drozdov I, Kidd M, Gustafsson BI, Svejda B, Joseph R, Pfragner R, Modlin IM. *Autoregulatory effects of serotonin on proliferation and signaling pathways in lung and small intestine neuroendocrine tumor cell lines*. Cancer. 2009 Nov 1;115(21): s. 4934-45.

11. Beckles, M.A., Spiro, S.G., Colice, G.L., Rudd, R.M. *Initial evaluation of the patient with lung cancer: Symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes.* Chest 2003 123 (1 SUPPL.) , s. 97S-104S
12. Perlikos, F., Harrington, K.J., Syrigos, K.N. *Key molecular mechanisms in lung cancer invasion and metastasis: A comprehensive review.* Critical Reviews in Oncology/Hematology 2013 87 (1) , s. 1-11
13. Improta, G., Zupa, A., Fillmore, H., Deng, J., Aieta, M., Musto, P., Liotta, L.A., (...), Wulfkühle, J.D. *Protein pathway activation mapping of brain metastasis from lung and breast cancers reveals organ type specific drug target activation.* Journal of Proteome Research 2011 10 (7), s. 3089-3097
14. Mehlen, P., Puisieux, A. *Metastasis: A question of life or death.* Nature Reviews Cancer 2006 6, s. 449-458
15. Seike T, Fujita K, Yamakawa Y, Kido MA, Takiguchi S, Teramoto N, Iguchi H, Noda M. *Interaction between lung cancer cells and astrocytes via specific inflammatory cytokines in the microenvironment of brain metastasis.* Clin Exp Metastasis. 2011 Jan;28(1): s. 13-25.
16. Rapp UR, Korn C, Ceteci F, Karreman C, Luetkenhaus K, Serafin V, Zanicco E, Castro I, Potapenko T. *MYC is a metastasis gene for non-small-cell lung cancer.* PLoS One. 2009 Jun 24;4(6)
17. Barbetakis N, Samanidis G, Paliouras D, Samanidou E, Tzimirota Z, Asteriou C, Xirou P, Tsilikas C. *Facial skin metastasis due to small-cell lung cancer: a case report.* J Med Case Reports. 2009 Jan 29;3:32
18. Vicent S, Luis-Ravelo D, Antón I, García-Tuñón I, Borrás-Cuesta F, Dotor J, De Las Rivas J, Lecanda F. *A novel lung cancer signature mediates metastatic bone colonization by a dual mechanism.* Cancer Res. 2008 Apr 1;68(7):s. 2275-85
19. Muñoz A, López-Vivanco G, Mañé JM, Fernández R, Díaz-Aguirregoitia J, Saiz M, Barceló R. *Metastatic non-small-cell lung carcinoma successfully treated with pre-operative chemotherapy and bilateral adrenalectomy.* Jpn J Clin Oncol. 2006 Nov;36(11): s. 731-4
20. Honnorat J, Antoine JC,. *Paraneoplastic neurological syndromes.* Orphanet J Rare Dis. 2007; 2: 22
21. Dalmau J, Rosenfeld MR. *Paraneoplastic syndromes of the CNS.* Lancet Neurol. 2008 Apr;7(4): s.327-40
22. Milanez FM, Pereira CA, Trindade PH, Milinavicius R, Coletta EN. *Lung adenocarcinoma, dermatomyositis, and Lambert-Eaton myasthenic syndrome: a rare combination.* J Bras Pneumol. 2008 May;34(5): s. 333-6.
23. Titulaer MJ, Verschuuren JJ. *Lambert-Eaton myasthenic syndrome: tumor versus nontumor forms.* Ann N Y Acad Sci 2008; 1132: s. 129–134.
24. Fernández-Rodríguez E, Villar-Taibo R, Pinal-Osorio I, Cabezas-Agrícola JM, Anido-Herranz U, Prieto A, Casanueva FF, Araujo-Vilar D. *Severe hypertension and hypokalemia as first clinical manifestations in ectopic Cushing's syndrome.* Arq Bras Endocrinol Metabol. 2008 Aug;52(6): s. 1066-70
25. Mancini T., Porcelli T., Giustina A., *Treatment of Cushing disease: overview and recent findings.* Ther Clin Risk Manag. 2010 Oct 21;6: s. 505-16.
26. Clines, G.A., Guise, T.A. *Hypercalcaemia of malignancy and basic research on mechanisms responsible for osteolytic and osteoblastic metastasis to bone.* Endocrine-Related Cancer 2005 12 (3) , s. 549-583

27. Fahim A, Butt M, McGivern DV. *A case of limbic encephalitis presenting as a paraneoplastic manifestation of limited stage small cell lung cancer: a case report.* J Med Case Reports. 2010 Dec 17;4: s. 408.
28. Graus, F., Keime-Guibert, F., Reñe, R., Benyahia, B., Ribalta, T., Ascaso, C., Escaramis, G., Delattre, J.Y. *Anti-Hu-associated paraneoplastic encephalomyelitis: Analysis of 200 patients.* Brain 2001 Vol.124 (6) , s. 1138-1148
29. Hammerschmidt S, Wirtz H. *Lung Cancer: Current Diagnosis and Treatment.* Dtsch Arztebl Int. 2009 December; 106(49): s. 809–820
30. Risch, A., Plass, C. *Lung cancer epigenetics and genetics.* International Journal of Cancer 2008 123 (1) , s. 1-7
31. Puliappadamba VT, Cheriyan VT, Thulasidasan AK, Bava SV, Vinod BS, Prabhu PR, Varghese R, Bevin A, Venugopal S, Anto RJ. *Nicotine-induced survival signaling in lung cancer cells is dependent on their p53 status while its down-regulation by curcumin is independent.* Mol Cancer. 2010 Aug 20;9: s. 220
32. Kuznetsov S, Khokhlatchev AV. *The growth and tumor suppressors NORE1A and RASSF1A are targets for calpain-mediated proteolysis.* PLoS One. 2008;3(12):e3997.
33. Bagnardi, V., Randi, G., Lubin, J., Consonni, D., Lam, T.K., Subar, A.F., Goldstein, A.M., (...), Landi, M.T. *Alcohol consumption and lung cancer risk in the environment and genetics in lung cancer etiology (EAGLE) study.* American Journal of Epidemiology 2010 171 (1) , s. 36-44
34. Raaschou-Nielsen O, Andersen Z, Hvidberg M, Jensen SS, Ketznel M, Sørensen M, Loft S, Overvad K, Tjønneland A. *Lung Cancer Incidence and Long-Term Exposure to Air Pollution from Traffic.* Environ Health Perspect. 2011 Jun;119(6): s. 860-5.
35. Joh, J., Jenson, A.B., Moore, G.D., Rezazadeh, A., Slone, S.P., Ghim, S.-J., Kloecker, G.H. *Human papillomavirus (HPV) and Merkel cell polyomavirus (MCPyV) in non small cell lung cancer.* Experimental and Molecular Pathology 2010 89 (3) , s. 222-226
36. De Matteis S, Consonni D, Pesatori AC, et al. *Are women who smoke at higher risk for lung cancer than men who smoke?* Am J Epidemiol 2013;177(7): s. 601-612.
37. Oak, C.H., Wilson, D., Lee, H.J., Lim, H.-J., Park, E.-K. *Potential molecular approaches for the early diagnosis of lung cancer (Review).* Molecular Medicine Reports 2012 6 (5), s. 931-936
38. Maeda J, Higashiyama M, Imaizumi A, Nakayama T, Yamamoto H, Daimon T, Yamakado M, Imamura F, Kodama K. *Possibility of multivariate function composed of plasma amino acid profiles as a novel screening index for non-small cell lung cancer: a case control study.* BMC Cancer. 2010 Dec 22;10:s. 690
39. McIntire MG, Santagata S, Ligon K, Chirieac LR. *Epidermal growth factor receptor gene amplification in atypical adenomatous hyperplasia of the lung.* Am J Transl Res. 2010 May 16;2(3): s. 309-15.
40. Lu Y, Li X, Lu H, Fan Z. *1,9-Pyrazoloanthrones downregulate HIF-1 α and sensitize cancer cells to cetuximab-mediated anti-EGFR therapy.* PLoS One. 2010 Dec 29;5(12):
41. Guan X, Yin M, Wei Q, Zhao H, Liu Z, Wang LE, Yuan X, O'Reilly MS, Komaki R, Liao Z. *Genotypes and haplotypes of the VEGF gene and survival in locally advanced non-small cell lung cancer patients treated with chemoradiotherapy.* BMC Cancer. 2010 Aug 16;10:431
42. Ren H, Chu Z, Mao L. *Antibodies targeting hepatoma-derived growth factor as a novel strategy in treating lung cancer.* Mol Cancer Ther. 2009 May;8(5): s. 1106-12.

Rak płuca

Streszczenie

Rak płuca jest zarówno najczęściej diagnozowanym typem nowotworu na świecie jak i główną przyczyną śmierci związaną z tą jednostką chorobową. W związku z tym, na bazie aktualnych doniesień naukowych postanowiliśmy przedstawić krótki opis na ten temat. Rak płuca jest przeważnie diagnozowany w zaawansowanym stadium choroby, a rokowania są złe dla pacjenta. Ryzyko wystąpienia powiązane między innymi z paleniem tytoniu, zanieczyszczeniem powietrza, infekcjami wirusowymi oraz predyspozycjami genetycznymi. Wraz z rozwojem choroby dochodzi do przerzutów, głównie do mózgu, wątroby, skóry czy kości lub wystąpienia objawów zespołów paraneoplastycznych. Wykrywanie tego typu nowotworu opiera się na metodach tomografii komputerowej, rentgenografii, bronchoskopii, magnetycznego rezonansu jądrowego i metod biologii molekularnej. Leczenie obejmuje zazwyczaj chemioterapię i resekcję guza. Podjęto również próby przeciwdziałania chorobie na poziomie molekularnym, obejmujące stosowanie inhibitorów wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałnych i receptorów komórkowych.

Słowa kluczowe: Rak płuca

Lung cancer

Abstract:

Lung cancer is one of the most common neoplasm in the world and is the leading cause of cancer deaths. Therefore, we decided to describe a literature review on it. Often lung cancer is detected at an advanced stages of the disease and gives poorly prognosis for patients. Its association with tobacco smoking, air pollution, viral infections or genetic predisposition was described in many studies. Frequent complications in patients with lung cancer are brain, hepatic, skin and bones metastasis or paraneoplastic syndrom disease. Screening methods include computed tomography, chest x-ray, bronchoscopy, magnetic resonance imaging as well as molecular biology assays. Among lung cancer patients, first-line treatment is combination of chemotherapy and segmental resection. There were also several positive trials taken for molecular targeted agents like intracellular signaling or cell membrane receptors inhibitors.

Keywords: lung cancer

SKUTECZNA WALKA Z RAKIEM PŁUCA – HAMOWANIE AKTYWNOŚCI RECEPTORA DLA NASKÓRKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU TYPU I

1. Rak płuca

1.1. Epidemiologia

Rak płuca, według danych epidemiologicznych, to nowotwór złośliwy, charakteryzujący się jednym z najwyższych współczynników śmiertelności wśród zdiagnozowanych chorób nowotworowych na świecie. Według aktualnych danych Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO), rak płuca stanowi bezpośrednią przyczynę zgonów blisko 1,5 miliona osób rocznie [1]. Także w Polsce, ogólnokrajowe informacje zbierane przez Warszawskie Centrum Onkologii potwierdzają obserwacje WHO - rak płuca stanowi w naszym kraju główną przyczynę zgonów, powodowanych chorobami nowotworowymi wśród mężczyzn i drugą wśród kobiet [2].

1.2. Przyczyny występowania

Podłoże rozwoju tej groźnej dla zdrowia i życia choroby bywa różne. W wielu prowadzonych badaniach jako główny czynnik predysponujący do jej wystąpienia podaje się długotrwałą ekspozycję na substancje wziewne o charakterze karcynogennym, ale także i czynniki o charakterze genetycznym (np. niestabilności mikrosatelitarne) [3, 4].

Palenie tytoniu zajmuje niekwestionowane pierwsze miejsce wśród czynników, wywołujących raka płuca [3]. W dymie tytoniowym zawartych jest kilka tysięcy substancji, z czego blisko połowa stanowi związki chemiczne o charakterze rakotwórczym [5]. Węglowodory aromatyczne – benzopiren oraz dibenzoantracen – zawarte w dymie to najważniejsze karcynogeny. Wywołują one mutacje, zaburzające prawidłowe funkcjonowanie genu supresorowego p53, tym samym sprzyjając niekontrolowanemu wzrostowi komórek raka [6]. Ponadto, związki takie, jak: formaldehyd, chlorek winylu, tlenek węgla, hydrazyna, cyjanowodor, nikiel, dwutlenek azotu, akroleina, polon, kadm, ołów i inne także stanowią składnik dymu tytoniowego i sprzyjają rozwojowi nowotworu płuc [5].

¹ Email: tomasz_wandtke@wp.pl, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Genoterapii <http://www.cm.umk.pl>

Rak płuca stosunkowo często rozwija się także u osób zawodowo narażonych (np. budowlancy) na kontakt z substancjami rakotwórczymi, takimi jak: azbest, chrom, krzemionka, czy np. promieniowanie jonizujące [7].

Badania prowadzone w ostatnich latach wskazują także na prawdopodobny udział infekcji wirusowych w rozwoju tytułowego nowotworu. Wykazano, że infekcja wirusem brodawczaka ludzkiego (ang. *Human Papillomavirus*, HPV), cytomegalowirusem oraz wirusem JC jest prawdopodobnym czynnikiem wywołującym raka płuca, w tym także u osób niepalących [8, 9, 10].

1.3. Zaburzenia molekularne powodowane przez karcynogeny

Działanie wziewnych karcynogenów prowadzi do zaburzenia prawidłowego przebiegu procesów w skali molekularnej. Ich obecność w płucach często wywołuje mutacje genetyczne, wyrażające się aktywacją wybranych protoonkogenów i ich przekształceniem w onkogeny lub inaktywacją genów supresorowych [11]. Odmienne mutacje promują rozwój różnych odmian raka płuca. Mutacje protoonkogenu K-RAS spotyka się w raku niedrobnokomórkowym (ang. *Non-Small Cell Lung Cancer*, NSCLC), podczas gdy mutacje genu supresorowego TP53 odnajdywane są najczęściej u pacjentów z rakiem drobnokomórkowym (ang. *Small Cell Lung Cancer*, SCLC) [12, 13]. Wśród innych ważnych genów, odpowiedzialnych za ryzyko rozwoju raka płuca wymienia się także białka Bcl-2 oraz Bax, regulujące proces apoptozy komórek [14]. Ważną rolę odgrywa także tytułowa kinaza tyrozynowa – receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu (ang. *Epidermal Growth Factor Receptor*, EGFR). W wielu badaniach wykazano, iż nadekspresja lub nadaktywność genu dla tego białka wielokrotnie zwiększa ryzyko rozwoju raka płuca i koreluje także z gorszym rokowaniem dla pacjenta, gdy rak już wystąpi [15].

1.4. Objawy raka płuca

Jedną z przyczyn wysokiej śmiertelności, powodowanej rakiem płuca jest jego początkowy skąpo-, a czasem nawet bezobjawowy rozwój. Dolegliwości, pojawiają się dopiero w zaawansowanym stadium rozwoju choroby. Bardzo często są to objawy ogólne, niecharakterystyczne i nie kojarzone z chorobą nowotworową, takie jak: przewlekły kaszel, duszność, ból w klatce piersiowej, chrypka czy krwioplucie. Jeszcze mniej charakterystyczne objawy wiążą się z obecnością przerzutów odległych, które najczęściej w przypadku raka płuca lokalizują się w mózgu, wątrobie oraz kościach. Ból kości, ból głowy, zaburzenia równowagi, zaburzenia osobowości czy żółtaczka to tylko niektóre z wielu możliwych dolegliwości, które mogą towarzyszyć przerzutom odległym [16]. Rozpoznanie raka płuca we wczesnym stadium rozwoju jest jedynym skutecznym sposobem pozwalającym na zwalczenie zagrożenia. Regularne przeprowadzanie badań profilaktycznych, szczególnie wśród osób w grupie ryzyka (rodzinne występowanie raka płuca, palacze tytoniu, osoby zawodowo

narażone na działanie wziewnych substancji o charakterze rakotwórczym) jest działaniem niezbędnym, które może pomóc w ograniczeniu ilości zgonów, powodowanych nowotworem płuc.

1.5. Diagnoza i leczenie

W przypadku niekorzystnej dla pacjenta diagnozy, zastosowanie odpowiednich rozwiązań terapeutycznych uzależnione jest od zidentyfikowanego wcześniej w badaniu histopatologicznym rodzaju guza (najczęściej wycinki guza pobiera się w trakcie badania bronchoskopowego). Podjęte działania terapeutyczne zawsze są odmienne dla raka o charakterze drobno- i niedrobnokomórkowym. Standardowym podejściem, stosowanym w leczeniu raka płuca, jeśli umożliwia to typ nowotworu (zazwyczaj musi być to rak o charakterze niedrobnokomórkowym) oraz jego stadium zaawansowania, jest leczenie operacyjne, polegające na dokonaniu miejscowej resekcji zmiany o charakterze nowotworowym. Następnie pacjent poddawany jest uzupełniającej chemio- oraz radioterapii [16].

Skuteczność opisanych rozwiązań terapeutycznych jest jednak dalece rozczarowująca, gdyż jak pokazują dane statystyczne, pięcioletnie przeżycie w grupie osób ze zdiagnozowanym rakiem płuca typu niedrobnokomórkowego wynosi 10%, a drobnowodnorodny tylko 5% [17].

1.6. Nowe środki terapeutyczne

Niska przeżywalność zrodziła potrzebę poszukiwań nowych, skuteczniejszych, a także tańszych niż aktualnie stosowane, rozwiązań terapeutycznych. Jedną z potencjalnie skutecznych metod walki z rakiem płuca wydaje się grupa preparatów, stanowiących inhibitory kinaz tyrozynowych, w tym receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu. Skład tych leków, zależnie od preparatu, opiera się na związkach drobnocząsteczkowych o niskiej masie molekularnej lub przeciwciałach monoklonalnych [15, 18].

W dalszej części tej pracy zostaną omówione: budowa, mechanizm działania oraz efekty stosowania inhibitorów kinaz tyrozynowych, a także krótkiej charakterystyce zostaną poddane ich podstawowe wady oraz zalety.

Tabela 1. Inhibitory kinaz tyrozynowych stosowane w leczeniu raka płuca [15,18]

Rodzaj leku	Nazwa preparatu
przeciwciało monoklonalne	CETUXIMAB
związek drobnocząsteczkowy o niskiej masie molekularnej	ERLOTYNIB
	GEFITYNIB

2. Receptor dla EGF

2.1. Budowa, funkcjonowanie i występowanie

Receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) wraz ze swoim głównym ligandem – naskórkowym czynnikiem wzrostu (ang. *Epidermal Growth Factor*, EGF) – został zidentyfikowany przez S. Cohena w 1962 roku [18, 19]. Tytułowe białko receptorowe jest jednym z czterech członków rodziny receptorowej ErbB. Do grupy tej oprócz EGFR (ErbB-1) należą też kinazy tyrozynowe takie jak: receptor dla ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu typu II (ang. *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*, HER2, ErbB-2), III (HER3, ErbB-3) oraz IV (HER4, ErbB-4) [20].

Łańcuch białkowy EGFR wykazuje długość 1210 reszt aminokwasowych i masę 170kDa. Częsteczka receptora uorganizowana jest w postaci trzech domen [21].

Pierwsza z nich – zewnątrzkomórkowa – zlokalizowana jest na N-końcu białka. Główną funkcją tej części łańcucha jest wiązanie odpowiednich ligandów, obecnych w środowisku okołokomórkowym. Częsteczki, wykazujące powinowactwo do EGFR to m.in., TGF- α (ang. *Transforming Growth Factor α*), HB-EGF (ang. *Heparin-Binding EGF-like Growth Factor*) oraz wcześniej wymieniony EGF [20, 22]. Drugi fragment łańcucha białkowego wykazuje właściwości silnie hydrofobowe, co umożliwia jego lokalizację w błonie komórkowej, a co za tym idzie kotwiczenie w niej receptora. EGFR występuje na powierzchni komórek wielu różnych typów. Stosunkowo licznie pojawia się na komórkach, budujących ludzkie płuca [21]. C-końiec białka zlokalizowany jest wewnątrz komórki i stanowi ostatnią z trzech domen. Fragment ten wykazuje aktywność kinazy tyrozynowej i odpowiada za przekazywanie sygnału odebranego z powierzchni błony do wnętrza komórki na drodze wielu (opisanych dalej) interakcji [21].

2.2. Przewodzenie sygnału i jego rola

Przyłączenie odpowiednich ligandów do zewnątrzkomórkowej domeny receptora EGFR zapoczątkowuje kaskadę reakcji, mających na celu przekazanie sygnału do wnętrza komórki. Aby proces ten w warunkach fizjologicznych zachodził w sposób efektywny, powierzchniowe domeny receptora muszą ulec dimeryzacji. Łączeniu mogą podlegać tylko cząsteczki EGFR, tworząc homodimery lub jedna z nich może być zastąpiona przez pozostałych członków rodziny ErbB tworząc w ten sposób heterodimer [23].

Pobudzenie receptora przez swoisty ligand skutkuje równoległą aktywacją wielu wewnątrzkomórkowych ścieżek sygnalizacyjnych. Białko Ras ulega pobudzeniu jako pierwsze. Następnie w kaskadzie reakcji fosforylacji dochodzi do aktywacji białka Raf i kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (ang. *Mitogen-Activated Protein Kinase*, MAPK): ERK1 oraz ERK2, co

przyczynia się do uaktywnienia najważniejszej z dróg sygnalizacyjnych. W wielu badaniach laboratoryjnych wykazano, że sygnalizacja Ras-Raf-MAPK w sposób bezpośredni uczestniczy w indukowaniu proliferacji komórek oraz ich transformacji nowotworowej [24, 25].

Niemniej istotnym sposobem przekazywania sygnału we wnętrzu komórki jest droga z udziałem kinazy 3 fosfatydyloinozytolu (ang. *Phosphoinositide 3-Kinase*, PI3K). Białko to wywiera bezpośredni, aktywujący wpływ na kinazę białkową B (ang. *Protein Kinase B*, PKB, Akt), odpowiedzialną za aktywację szlaków prowadzących do wzrostu i proliferacji komórek. W skutek aktywacji tej drogi dochodzi także do ograniczenia procesów apoptotycznych oraz zwiększenia zdolności komórek do migracji [26].

Równolegle z kinazami MAPK oraz PI3K dochodzi do aktywacji kinaz JAK (ang. *Janus Kinase*) i białek STAT oraz kinazy białkowej C (ang. *Protein Kinase C*, PKC). Rezultat tego pobudzenia jest zbieżny z efektem, wywieranym przez aktywowaną kinazę Akt [20].

2.3. Zaburzenia przewodzenia sygnału sprzyjają nowotworzeniu

Wiele przeprowadzonych dotąd badań potwierdziło bezpośredni wpływ nieprawidłowości w przewodzeniu sygnału przez receptor EGFR na wzrost różnego typu nowotworów. Szczególnie duży wpływ zjawisko to ma na rozwój raka płuca [18].

Zwiększenie ilości cząsteczek EGFR w każdych warunkach jest zjawiskiem niepożądanym i może sprzyjać rozwojowi chorób o charakterze nowotworowym. W efekcie liczniejszej obecności cząstek EGFR na powierzchni komórek prawdopodobieństwo dimeryzacji i aktywacji receptorów wzrasta [23].

Zwielokrotnienie ilości cząsteczek EGFR może mieć różnorodną przyczynę. Najczęściej zjawisko to jest wynikiem mutacji o charakterze aktywującym w genie kodującym EGFR. Wśród pozostałych przyczyn można ująć zwielokrotnienie ilości kopii genu, kodującego ten receptor lub/i jego nadekspresję [23].

3. Inhibitory kinaz tyrozynowych

Inhibitory kinaz tyrozynowych to stosunkowo szeroka grupa preparatów stosowanych jako środki terapeutyczne w leczeniu nowotworów różnego pochodzenia. Ogólny mechanizm ich działania opiera się na hamowaniu aktywności odpowiednich receptorów błonowych, tym samym, ograniczając proliferację komórek nowotworu lub/i uwrażliwiając je na działanie czynników indukujących apoptozę [15].

Jednym z niezwykle istotnych receptorów o charakterze kinazy tyrozynowej, szczególnie ważnym w kontekście rozwoju raka płuca jest właśnie EGFR. Nieprawidłowości w przewodzeniu sygnału przez ten receptor są wspomagającym, a nie rzadko głównym czynnikiem warunkującym rozwój tego typu raka [18, 21].

Liczne badania kliniczne nad wykorzystaniem inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR w leczeniu raka płuca przynosiły obiecujące rezultaty [18]. W grupie omawianych leków należy wymienić w szczególności trzy preparaty: Cetuximab (przeciwciało monoklonalne anty-EGFR), Gefitynib oraz Erlotinib (małocząsteczkowe związki hamujące aktywność EGFR). Leki te stosuje się samodzielnie lub w połączeniu z innymi środkami terapeutycznymi. Ich wykorzystanie w skojarzeniu z leczeniem chemio- i/lub radioterapeutycznym, niejednokrotnie przyczyniało się do osiągnięcia lepszych rezultatów terapeutycznych niż w przypadku użycia określonych inhibitorów samodzielnie [15].

3.1. Cetuximab

Cetuximab to chimeryzowane ludzko-mysie przeciwciało monoklonalne, wykazujące bardzo wysokie powinowactwo wiązania ($K_d=0,39$ nmol/L) z receptorem dla EGF i hamujące jego aktywność [19, 27].

Mechanizm działania tego preparatu opiera się na współzawodnictwie przeciwciała monoklonalnego o miejsce wiązania na receptorze EGFR z jego naturalnymi ligandami – naskórkowym czynnikiem wzrostu oraz transformującym czynnikiem wzrostu α . Niewątpliwą zaletą Cetuximabu jest także jego zdolność do wiązania więcej niż jednej cząsteczki receptora jednocześnie [19, 28].

Związanie receptora przez przeciwciało i jego dezaktywacja, według licznych badań laboratoryjnych, prowadzonych w warunkach *in vitro* w hodowlach komórkowych oraz *in vivo* na modelach mysich, skutkowało ograniczeniem wzrostu komórek nowotworowych [15]. Prawdopodobnych wyjaśnień dla tego faktu jest kilka. Jedną z przyczyn jest zatrzymanie podziałowego cyklu komórkowego w fazie G1. Dezaktywacja EGFR prowadzi do masowego nagromadzenia w komórce białka p27, które pełni funkcję inhibitora 2 kinazy cyklinozależnej (ang. *Cyclin-Dependent Kinase 2*, *CDK2*), odpowiedzialnej za przejście z fazy G1 do S w podziałowym cyklu komórkowym [29]. Działanie takie sprzężone jest bezpośrednio z procesem apoptozy – w przeprowadzonych badaniach obserwowano wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia białek o aktywności proapoptotycznej, m.in. białka Bax, a także Kaspazy-8 [30, 31].

Co niezwykle istotne, także produkcja przez komórki nowotworu czynników indukujących wzrost nowych naczyń krwionośnych okazywała się być znacząco ograniczona. Obserwowano mniejszą syntezę podstawowego czynnika wzrostu fibroblastów (ang. *basic Fibroblast Growth Factor*, *bFGF*), czynnika wzrostu śródbłonna naczyńowego (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*, *VEGF*) oraz Interleukiny-8. Brak wymienionych białek w otoczeniu nowotworu ograniczał neoangiogenezę w jego mikrośrodkowisku oraz sprzyjał intensyfikacji procesu apoptozy [32].

Wśród ważnych efektów przeciwnowotworowego działania Cetuximabu, należy wymienić także jego zdolność do redukowania prawdopodobieństwa wystąpienia przerzutów odległych. W przeprowadzonych badaniach laboratoryjnych udowo-

niono jego zdolność do ograniczania ekspresji metaloproteinaz komórkowych, m.in. Gelatynazy B (ang. Gelatinase B, GELB, MMP-9), która odpowiada za zdolność komórek nowotworowych do adhezji [32, 33].

I w końcu, skojarzenie Cetuximabu z chemioterapeutykami, takimi jak cisplatyna, doxorubicyna, paclitaxel czy topotecan przynosiło w analizach znaczące wzmocnienie przeciwnowotworowego efektu prowadzonej terapii. Podobny rezultat uzyskano łącząc Cetuximab oraz radioterapię [34, 35].

Oprócz badań laboratoryjnych *in vitro* oraz *in vivo* na modelach zwierzęcych, omawiany preparat przeszedł także badania kliniczne. Na ich podstawie stwierdzono niewielki korzystny wpływ samego Cetuximabu w przypadku zaawansowanego niedrobnokomórkowego raka płuca [36]. Znacznie lepszy efekt uzyskano kojarząc go, podobnie jak w badaniach przedklinicznych, z chemioterapeutykami. Próby oparte na równoczesnej aplikacji Cetuximabu oraz cis-platyny lub Vinorelbiny przynosiły pozytywny efekt u chorych z rakiem płuca w stadium IIIB-IV. Prowadzone badania wykazały statystycznie istotne wydłużenie mediany przeżycia u chorych z rakiem płuca w tym stadium [37].

3.2. Erlotynib i Gefitynib

Erlotynib i Gefitynib to preparaty należące do klasy drobnocząsteczkowych inhibitorów kinaz tyrozynowych. Podobnie jak Cetuximab, oba wykazują powinowactwo do EGFR i zdolność inaktywacji przewodzenia sygnału przez ten receptor [18].

Mechanizm działania tych związków opiera się na współzawodniczeniu z cząsteczkami adenozynotrójfosforanu (ATP) o miejsce wiązania z częścią receptora wykazującą aktywność kinazy tyrozynowej. Niewątpliwą przewagą przemawiającą za częstszym używaniem tych drobnocząsteczkowych inhibitorów jest ich zdolność do tworzenia nie tylko nieaktywnych homodimerów EGFR (podobnie jak w przypadku Cetuximabu), ale także heterodimerów, złożonych z receptorów EGFR oraz HER2. Jako, że zaburzenia promujące rozwój nowotworów, w tym płuc, mogą, a nawet często wynikają z nieprawidłowości wynikających z przewodzenia sygnałów przez te receptory, możliwość hamowania aktywności domeny kinazowej obu tych receptorów jednocześnie za pomocą tego samego leku jest niekwestionowaną zaletą. Możliwość ta wynika z ponad 80% podobieństwa strukturalnego wspomnianych domen [38, 39].

Udowodniono także, że mutacje skutkujące utratą domeny zewnątrzkomórkowej EGFR odpowiadającej za wiązanie ligandów, nie powodowały utraty możliwości hamowania aktywności części kinazowej przy pomocy tych leków. Wydaje się zatem rozwiązaniem racjonalnym stosowanie tych środków w przypadkach aktywacji receptora EGFR na drodze niezależnej od ligandów, wynikających z mutacji [40].

Podobnie jak Cetuximab, także Erlotinib i Gefitynib wpływają na wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnalizacyjne promujące wzrost komórek, ich proliferację oraz migrację. Stosowanie tych preparatów inaktywuje przewodzenie sygnału z udziałem szlaków kinaz białkowych aktywowanych mitogenami, szlaku kinazy 3 fosfatydyloinozytolu i kinazy białkowej B oraz ścieżki sygnałowej kinaz Janusowych i białek STAT [41]. W badaniach *in vitro*, prowadzonych w hodowlach komórkowych oraz *in vivo* na modelach zwierzęcych obserwowano zahamowanie podziałowego cyklu komórkowego w fazie G1 oraz intensywniejszą apoptozę komórek raka, ograniczenie angiogenezy pochodzenia nowotworowego, a także zdolności do przerzutowania. Mechanizm zmian był analogiczny jak w przypadku stosowania przeciwciała monoklonalnego [30, 32, 41, 42].

W przeprowadzonych badaniach klinicznych (szczególnie badanie SATURN) wykazano skuteczność Erlotinibu u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca. Połączenie leku ze standardowym postępowaniem chemioterapeutycznym przynosiło znaczące wydłużenie przeżycia. Udowodniono także jego większą skuteczność u pacjentów, wykazujących mutacje w genie kodującym EGFR [43].

4. Podsumowanie

Rak płuca to nowotwór, charakteryzujący się wybitnie dużym współczynnikiem śmiertelności. Według WHO, wśród pacjentów ze zdiagnozowanymi chorobami nowotworowymi stanowi on główną przyczynę zgonów.

Jednym z najważniejszych czynników sprzyjających rozwojowi choroby jest długotrwałe narażenie na czynniki wziewne o właściwościach rakotwórczych (np. dym tytoniowy). Postępowi choroby z kolei sprzyja początkowy skąpoobjawowy lub niecharakterystyczny przebieg. Nierzadko rak płuca diagnozowany jest w stadium terminalnym.

Jednym z atrakcyjnych celów w terapii raka płuca jest receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu – EGFR. W przeprowadzonych dotąd badaniach wykazano, że nieprawidłowości związane z przewodzeniem sygnału przez ten receptor niejednokrotnie sprzyjały rozwojowi i postępowi choroby. Białko to uczestniczy w przekazywaniu sygnałów pobudzających wzrost, proliferację oraz migrację komórek raka, co w każdym przypadku jest zjawiskiem niepożądanym.

Standardowym sposobem leczenia raka płuca jest leczenie operacyjne uzupełniane chemio- i/lub radioterapią. Uzyskiwane wyniki są niezadowalające. Dlatego też wciąż poszukuje się nowych, skuteczniejszych metod leczenia. Wśród potencjalnie skutecznych preparatów wymienia się te zaliczane do klasy inhibitorów kinaz tyrozynowych, w tym preparaty skierowane przeciw EGFR.

Wśród inhibitorów kinaz tyrozynowych należy ująć dwie klasy leków: przeciwciała monoklonalne oraz związki drobnocząsteczkowe. W badaniach

klinicznych, mających na celu weryfikację przydatności tego rodzaju leków w leczeniu raka płuca testowano jak dotąd Cetuximab, zaliczany do pierwszej klasy leków oraz Erlotinib i Gefitynib, zaliczane do inhibitorów drobnocząsteczkowych. Jedne i drugie w skojarzeniu ze standardowo stosowaną w leczeniu raka płuca chemioterapią przyniosły budzące nadzieje rezultaty. Po ich zastosowaniu obserwowano wydłużenie przeżycia u chorych z rakiem płuca.

Literatura

1. *The World Health Report 2004* [online], 2004 [dostęp: 10.02.2014]. Dostępny w World Wide Web: http://www.who.int/whr/2004/annex/topic/en/annex_2_en.pdf
2. Raporty na podstawie danych Zakładu Epidemiologii i Prewencji Nowotworów [online], Luty 2014 [dostęp: 10.02.2014] Dostępny w World Wide Web: <http://85.128.14.124/krm/>
3. Samet J., *Cigarette smoking and lung cancer in New Mexico*, American Review of Respiratory Disease, 1988, s. 1110-1113
4. Gorlova O., Weng S., Zhang Y., Amos C., Spitz M., *Aggregation of cancer among relatives of never-smoking lung cancer patients*, Int J Cancer, 2007 121(1), s. 2865-2872
5. *IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans*. Tobacco smoking, IARC vol. 38, Lyon, France 1986,
6. Vineis P. et al., *Tobacco and cancer: recent epidemiological evidence*, J Natl Cancer Inst, 2004 96(2), s. 99-106
7. Szydłowska-Stańczyk I., Szeszenia-Dąbrowska N., *Zawodowe uwarunkowania raka płuca w badaniach epidemiologicznych*, Medycyna Pracy, 2001 51(1), s. 27-34
8. Cheng Y., Chiou H., Sheu G., Hsieh L., *The association of human papillomavirus 16/18 infection with lung cancer among nonsmoking Taiwanese women*, Cancer Res, 2001 61(7), s. 2799-803
9. Giuliani L., *Detection of oncogenic viruses (SV40, BKV, JCV, HCMV, HPV) and p53 codon 72 polymorphism in lung carcinoma*, Lung Cancer, 2007
10. Zheng H., *Oncogenic role of JC virus in lung cancer*, Journal of Pathology, 2007, s. 306-315
11. Fong K., Lung cancer. 9: *Molecular biology of lung cancer: clinical implications*, Thorax, 2003, s. 892-900
12. Aviel-Ronen S., *K-ras mutations in non-small-cell lung carcinoma: a review*, Clinical Lung Cancer, 2006, s. 30-38
13. Devereux T., Taylor J., Barrett J., *Molecular mechanisms of lung cancer. Interaction of environmental and genetic factors*, Chest, 1996 109(3), s. 14S-19S
14. Faran G., Dworakowska D., Jassem E., *Kliniczne znaczenie immunohistochemicznej ekspresji białek p53, Bcl-2 i Bax u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca*, Współczesna Onkologia, 2004 8(7), s. 328-337
15. Mendelsohn J., Baselga J., *Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer*, J Clin Oncol, 2003 21, s. 2787-2799
16. Minna J., *Harrison's Principle's of Internal Medicine*. 2005, s. 506
17. Rzyman W., *Rak płuca*, Forum Medycyny Rodzinnej 2008 2(6), s. 407-419
18. Chi A., Remick S., Tse W., *EGFR inhibition in non-small cell lung cancer: current evidence and future directions*, Biomarker Research, 2013 1, s. 2

19. Kawamoto T., Sato J., Le A., *Growth stimulation of A431 cells by EGF: Identification of high affinity receptors for epidermal growth factor by an anti-receptor monoclonal antibody*, Proc Natl Acad Sci U S A, 1983 80, s. 1337-1341
20. Yarden Y., Sliwkowski M., *Untangling the ErbB signaling network*, Nat Rev Mol Cell Biol, 2001 2, s. 127-137
21. Yoshida T., Zhang G., Haura E., *Targeting epidermal growth factor receptor: Central signaling kinase in lung cancer*, Biochem Pharmacol, 2010 80, s. 613-623
22. Yarden Y., Schlessinger J. *Epidermal Growth-Factor Induces Rapid, Reversible Aggregation of the Purified Epidermal Growth-Factor Receptor*, Biochemistry, 1987 26(5), s. 1443-1451
23. Ono M., Kuwano M., *Molecular mechanisms of epidermal growth factor receptor (EGFR) activation and response to gefitinib and other EGFR targeting drugs*, Clin Cancer Res, 2006 12, s. 7242-7251
24. Alroy I., Yarden Y., *The ErbB signaling network in embryogenesis and oncogenesis: Signal diversification through combinatorial ligand-receptor Interactions*, FEBS Lett, 1997 410, s. 83-86
25. Lewis T., Shapiro P., Ahn N., *Signal transduction through MAP kinase cascades*, Adv Cancer Res, 1998 74, s. 49-139
26. Vivanco I., Sawyers C., *The phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt pathway in human cancer*, Nat Rev Cancer, 2002 2, s. 489-501
27. Gill G., Kawamoto T., Cochet C., *Monoclonal anti-epidermal growth factor receptor antibodies which are inhibitors of epidermal growth factor binding and antagonists of epidermal growth factor-stimulated tyrosine protein kinase activity*, J Biol Chem, 1984 259, s. 7755-7760
28. Fan Z., Lu Y., Wu X., *Antibody-induced epidermal growth factor dimerization mediates inhibition of autocrine proliferation of A431 squamous carcinoma cells*, J Biol Chem, 1994 269, s. 27595-27602
29. Peng D., Fan Z., Lu Y., *Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody 225 up-regulates p27KIP1 and induces G1 arrest in prostatic cancer cell line DU145*, Cancer Res, 1996 56, s. 3666-3669
30. Mandal M., Adam L., Mendelsohn J., *Nuclear targeting of Bax during apoptosis in human colorectal cancer cells*, Oncogene, 1998 17, s. 999-1007
31. Liu B., Fang M., Schmidt M., *Induction of apoptosis and activation of the caspase cascade by anti-EGF receptor monoclonal antibodies in DiFi human colon cancer cells do not involve the c-jun N-terminal kinase activity*, Br J Cancer, 2000 82, s. 1991-1999
32. Perrotte P., Matsumoto T., Inoue K., *Anti-epidermal growth factor receptor antibody C225 inhibits angiogenesis in human transitional cell carcinoma growing orthotopically in nude mice*, Clin Cancer Res, 1999 5, s. 257-264
33. Matsumoto T., Perrotte P., Bar-Eli M., *Blockade of EGF-R signaling with anti-EGFR monoclonal antibody (Mab) C225 inhibits matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) expression and invasion of human transitional cell carcinoma (TCC) in vitro and in vivo*, Proc Am Assoc Cancer Res, 1998 39, s. 83
34. Aboud-Pirak E., Hurwitz E., Pirak M., *Efficacy of antibodies to epidermal growth factor receptor against KB carcinoma in vitro and in nude mice*, J Natl Cancer Inst, 1988 80, s. 1605-1611

35. Ciardiello F., Caputo R., Bianco R., *Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an epidermal growth factor receptor-selective tyrosine kinase inhibitor*, Clin Cancer Res, 2000 6, s. 2053-2063
36. Mendelsohn J., Baselga J., *Epidermal growth factor receptor targeting in cancer*, Semin Oncol, 2006 33, s. 369–385
37. Pirker R., Pereira J., Szczesna A., *Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer (FLEX): an open-label randomised phase III trial*, Lancet Oncol, 2009 373, s. 1525–1531
38. Arteaga C., Ramsey T., Shawver L., *Unliganded epidermal growth factor receptor dimerization induced by direct interaction of quinazolines with the ATP binding site*, J Biol Chem, 1997 272, s. 23247-23254
39. Fry D., *Site-directed irreversible inhibitors of the erbB family tyrosine kinases as novel chemotherapeutic agents for cancer*, Anticancer Drug Des, 2000 15, s. 3-16
40. Lal A., Glazer C., Martinson H., *Mutant epidermal growth factor receptor up regulates molecular effectors of tumor invasion*, Cancer Res, 2002 62, s. 3335-3339
41. Busse D., Doughty R., Ramsey T., *Reversible G(1) arrest induced by inhibition of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase requires up-regulation of p27(KIP1) independent of MAPK activity*, J Biol Chem, 2000 275, s. 6987-6995
42. Moyer J., Barbacci E., Iwata K., *Induction of apoptosis and cell cycle arrest by CP-358, 774, an inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase*, Cancer Res, 1997 57, s. 4838-4848
43. SATURN: *A double-blind, randomized, phase III study of maintenance erlotinib versus placebo following nonprogression with first-line platinum-based chemotherapy in patients with advanced NSCLC*, 2009,

Skuteczna walka z rakiem płuca - hamowanie aktywności receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu typu I

Streszczenie

Rak płuca to nowotwór cechujący się szczególnie wysokim współczynnikiem śmiertelności na świecie, zarówno wśród mężczyzn jak i kobiet. Do najważniejszych przyczyn jego rozwoju należy zaliczyć długotrwałą ekspozycję na wziewne karcynogeny, w tym szczególnie dym tytoniowy. Stosowane dotąd metody terapeutyczne w postaci leczenia operacyjnego oraz uzupełniającej chemio- i radioterapii okazują się często mało skuteczne. W celu poprawy wyników leczenia, wciąż poszukuje się nowych celów terapeutycznych. Liczne badania laboratoryjne prowadzone w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* (na modelach zwierzęcych) oraz kliniczne z udziałem pacjentów, dowiodły skuteczności stosowania inhibitorów jednej z kinaz tyrozynowych – receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu typu I (EGFR) – szczególnie w połączeniu ze standardowo stosowaną chemioterapią. Nadekspresja tego receptora zawsze koreluje ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia raka płuca oraz niekorzystnymi rokowaniami dla chorego. W prowadzonych badaniach z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych (Cetuximab) oraz związków drobnocząsteczkowych (Erlotinib oraz Gefitynib) obserwowano zahamowanie proliferacji komórek raka, ich nasiloną apoptozę oraz ograniczoną neoangiogenezę w mikrośrodkowisku nowotworu.

Słowa kluczowe: rak płuca, EGFR, inhibitor kinazy tyrozynowej, Erlotinib, Gefitynib, Cetuximab

Effective fight with lung cancer – inhibition of epidermal growth factor receptor type I (EGFR/ErbB-1) activity

Abstract

Lung cancer is characterized by extremely high death rate, among man and woman. The main reason of lung cancer development is long-lasting exposition to carcinogens, especially cigarette smoke. Therapeutic methods currently used during standard treatment of lung cancer, for example surgical excision of tumour combined with chemo- or radiotherapy are not enough effective. New therapeutic targets have been still searched to improve results of medical treatment. Numerous laboratory studies conducted *in vitro* or *in vivo* (animal models) and also clinical trials with patients participation proved effectiveness of application of the inhibitors directed against one of the tyrosine kinases – epidermal growth factor receptor type I (EGFR) – especially when combined with standard chemotherapy. EGFR overexpression is always correlated with higher risk of lung cancer occurring and also with not optimistic prognosis for patients. Studies conducted with usage of monoclonal antibodies (Cetuximab) and low-molecular inhibitors (Erlotinib and Gefitinib) resulted in decrease of cancer cells proliferation rate, intense apoptosis and also limited neoangiogenesis in cancer microenvironment.

Keywords: lung cancer, EGFR, tyrosine kinase inhibitor, Erlotinib, Gefitinib, Cetuximab,

Marcin Czop¹, Anna Wiśniewska, Joanna Przemyski, Rafał Żukowski, Mateusz Gwizdała, Krzysztof Paczwa, Natalia Trętowicz, Ruby Maini, Karolina Knap-Czop, Dariusz Jawniak, Janusz Kocki, Anna Bogucka-Kocka

WPŁYW TALIDOMIDU NA ŻYWOTNOŚĆ KOMÓREK LINII OSTRYCH BIAŁACZEK PROMIELOCYTOWYCH

1. Wstęp

Talidomid został wprowadzony do leczenia po zakończeniu II wojny światowej. Substancję tą zsyntetyzowała niemiecka firma farmaceutyczna *Chemie Grünenthal* w 1954 roku i wkrótce został opatentowany. W 1958 roku został wprowadzony do sprzedaży pod różnymi nazwami w 46 krajach. Talidomid stosowano na poranne mdłości u kobiet w ciąży, jako lek przeciwbólowy i uspokajający [1, 2].

W 1961 r. australijski lekarz, William McBride opisał wzrost liczby dzieci z wadami kończyn urodzonych w jego szpitalu przez matki, które zażywały talidomid [3]. Był jednym z pierwszych, który odkrył, że stosowanie talidomidu może zakłócać prawidłowy rozwój płodów, powodując wystąpienie fokomelii tj. krótszych, nieobecnych lub całkowicie nierozwiniętych kończyn. W tym samym roku niemiecka prasa opublikowała wiadomość o urodzeniu się 161 dzieci z podobnymi wadami rozwojowymi, co doprowadziło do wstrzymania dystrybucji talidomidu w Niemczech i pozostałych krajach. W ciągu kilku lat powszechnego stosowania talidomidu w Europie, Australii i Japonii zanotowano około 10000 tysięcy urodzeń dzieci z fokomeliami. W USA talidomid nie został wprowadzony do sprzedaży ze względu na brak wyników testów dotyczących przenikania leku przez łożysko [2].

Teratogenne działanie talidomidu związane jest z białkiem o nazwie cereblon. Talidomid posiada powinowactwo do cereblonu, łącząc się z nim, blokuje prawidłowe funkcjonowanie tego białka, co prowadzi to do rozwoju wad wrodzonych typu fokomelii [4].

Jedną ze strategii poszukiwania leków przeciwnowotworowych jest ponowne badanie aktywności związków chemicznych, które już wcześniej były stosowane w leczeniu w innych jednostkach chorobowych. Skutkiem tych badań jest ponowne wprowadzenie talidomidu do leczenia. Talidomid jest stosowany z powodzeniem w leczeniu szpiczaka mnogiego oraz rumienia guzowatego [5, 6].

W przypadku szpiczaka mnogiego nieprawidłowe plazmocyty mnożą się w szpiku kostnym i prowadzą m.in. do zniszczenia kości [7]. W badaniu

¹marcin_czop@wp.pl, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, I Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Zakład Genetyki Klinicznej,

pacjentów z zaawansowanym i opornym szpiczakiem mnogim talidomid wykazał znaczną aktywność przeciwnowotworową [5]. U 10% pacjentów uzyskano całkowitą remisję, u 32% pacjentów redukcję poziomu paraproteiny w osoczu lub moczu o 25%. Talidomid zmienia ekspresję cząsteczek adhezyjnych, hamuje wytwarzanie czynnika martwicy nowotworu α (TNF α , *Tumor Necrosis Factor α*), zwiększa wytwarzanie interleukiny 10 oraz zwiększa odporność komórkową za pośrednictwem bezpośredniej stymulacji cytotoksycznych limfocytów T. Ma wpływ na poziom cytokin, takich jak interleukina 4, interleukina 5 i interferon γ . Talidomid zwiększa całkowitą liczbę limfocytów (głównie limfocytów wykazujących ekspresję antygenów CD8 i CD4), a także znacznie zwiększa średni poziom rozpuszczalnego receptora interleukiny 2 w osoczu [8]. Inne badania wykazały, że połączenie talidomidu i statyny wraz z inhibitorem p38 MAPK powoduje zwiększoną apoptozę komórek szpiczaka mnogiego [7]. Talidomid posiada działanie przeciwzapalne, hamuje angiogenezę, działa immunomodulująco, a także zwalnia progresję szpiczaka ograniczając wzrost i przeżycie komórek. Dokładny mechanizm działania przeciwnowotworowego leku nie został do końca poznany [9].

Kolejne badania wykazały, że talidomid w połączeniu z innymi lekami tj. deksametazon i cyklofosfamid, wraz z wykonaniem przeszczepu autowogicznego komórek macierzystych, przynosi bardzo korzystne efekty terapeutyczne. Wiąże się to niekiedy z ryzykiem rozwinięcia się neuropatii obwodowych i innych chorób [10]. Jednak podczas 10 lat badań przeprowadzonych z udziałem pacjentów ze szpiczakiem mnogim okazało się, że najlepsze wyniki zaobserwowano u pacjentów, u których talidomid był łączony z innymi lekami w przeciwieństwie do pacjentów leczonych tylko talidomidem [11].

Po wykazaniu skuteczności talidomidu w leczeniu szpiczaka mnogiego zsyntetyzowano szereg pochodnych o zmniejszonej toksyczności, a zarazem zwiększonej efektywności działania. Lenalidomid oraz pomalidomid wykazują silniejsze działanie antyproliferacyjne oraz immunomodulujące niż talidomid [10, 12, 13].

W ciągu ostatnich lat badano skuteczność talidomidu w leczeniu pacjentów chorych na AIDS [14,15]. Może być on stosowany w leczeniu późnoobjawowych zespołów AIDS przy zapobieganiu nudnościom [16]. Jest on badany również w leczeniu mięsaka Kaposiego, który jest rodzajem nowotworu związanego z AIDS [17], choroby Leśniowskiego-Crohna, reumatoidalnego zapalenia stawów [18, 19], zespołu Behceta, niewydolności serca [20].

2. Cel pracy

Celem pracy było sprawdzenie wpływu różnych dawek talidomidu na żywotność komórek linii nowotworowych (HL60, HL60/MX1) wywodzących się z ostrej białaczki promielocytowej.

3. Materiały i metody

Roztwór talidomidu (Sigma) do badań przygotowano przez rozpuszczenie związku w DMSO. Stężenie wyjściowe roztworu do badań wynosiło 39 pM. Tak przygotowany roztwór był przechowywany w lodówce. Przed użyciem był ogrzewany w temperaturze pokojowej przez 2 h.

Komórki linii nowotworowych wywodzących się z ostrej białaczki promielocytowej – HL60, HL60/MX1 (zakupione w firmie *American Type Culture Collection* (ATCC) 10801 *University Boulevard Manassas, VA 20110 USA*) hodowane były w warunkach standardowych (temperatura 37°C, atmosfera powietrza wzbogacona 5% CO₂) w medium o składzie: RPMI 1640 (PAA) z dodatkiem 10% (linia HL60/MX1)/20% (linia HL60) surowicy płodowej bydlęcej inaktywowanej ciepłem (FBS Gold (Gibco), 100 U/ml penicyliny, 100 µM/ml streptomycyny, 2,5 µg/ml amfoterycyny B oraz L-glutaminę 2 mM (Sigma).

Komórki posiewano na płytki 12 dołkowe, po 24 h ekspozycji na działanie talidomidu w rosnących stężeniach. Po 24 h komórki wirowano, supernatant odrzucano. Zawiesinę komórek zawieszano w PBS-ie.

W celu zbadania żywotności komórek zastosowano zestaw przeciwciał Annexin-V-Fluos Staining Kit (Roche) oraz cytometr przepływowy FlowSight (Amnis) z wizualizacją obrazu w czasie rzeczywistym.

4. Wyniki i wnioski

Po dokonaniu analizy cytometrycznej wykazano, że talidomid działa cytotoksycznie na komórki linii ostrej białaczki promielocytowej. Talidomid indukuje apoptozę badanych komórek przy niewielkim odsetku komórek nekrotycznych

Tab. 1. Analiza żywotności komórek linii HL60 wykonana w aparacie FlowSight z zastosowaniem przeciwciał: aneksyny V-FITC, jodku propidyny

	% komórek żywych	% komórek martwych	% komórek wczesno- apoptotycznych	% komórek późno- apoptotycznych	% komórek nekrotycznych
Kontrola	97,76	2,22	1,06	1,12	0,03
talidomid 0,19 pM	96,71	3,28	1,40	1,80	0
talidomid 0,39 pM	91,37	8,57	3,14	5,33	0,10
talidomid 0,75 pM	81,72	18,11	6,43	11,34	0,34
talidomid 1,9 pM	68,45	31,4	14,20	16,52	0,68
talidomid 3,9 pM	4,49	95,20	2,54	91,75	0,89

Tab. 2. Analiza żywotności komórek linii HL60/MX1 wykonana w aparacie FlowSight z zastosowaniem przeciwciał: aneksyny V-FITC, jodku propidyny

	% żywych komórek	% komórek martwych	% komórek wczesno- apoptotycznych	% komórek późno- apoptotycznych	% komórek nekrotycznych
kontrola	90,15	9,80	3,08	6,63	0,07
talidomid 0,19 pM	88,29	11,63	2,62	8,81	0,19
talidomid 0,39 pM	85,44	14,46	3,20	11,06	0,18
talidomid 0,75 pM	73,26	26,59	5,57	20,73	0,28
talidomid 1,9 pM	35,43	64,12	17,94	45,34	0,83
talidomid 3,9 pM	8,92	90,30	10,55	78,04	1,70

Wyznaczono dawki IC₁₀, IC₅₀, IC₉₀, czyli stężenia powodujące śmierć 10%, 50% i 90% komórek nowotworowych dla b linii tj. HL60 oraz HL60/MX1 (Tabela 3).

Tab. 3. Dawki IC₁₀, IC₅₀, IC₉₀ dla komórek linii HL60 oraz HL60/MX1 [pM].

	IC ₁₀	IC ₅₀	IC ₉₀
HL60	0,58	2,5	3,7
HL60/MX1	0,16	1,5	3,9

Wykazano, że talidomid powoduje zależną od dawki apoptozę komórek linii białaczkowych HL60 oraz HL60/MX1.

Na podstawie analizy wyznaczonych dawek możemy stwierdzić, że talidomid działa silniej cytotoksycznie w stosunku do komórek linii HL60/MX1 (dawki IC₁₀, IC₅₀ znacząco niższe od adekwatnych dawek dla linii HL60).

Literatura

1. James J., Nora M.D., Audrey H.: *Can the Pill Cause Birth Defects?* The New England Journal of Medicine (1974) 291: 731-732
2. Kim J.H., Scialli A.R.: *Thalidomide: The tragedy of birth defects and the effective treatment of disease.* Toxicology Sciences (2011) 122 (1): 1-6
3. Fintel B., Samaras A.T., Carias E.: *The thalidomide tragedy: Lessons for drug safety and regulation.* Helix (2009)
4. Ito T., Ando H., Suzuki T., Ogura T., Hotta K., Imamura Y., Yamaguchi Y., Handa H.: *Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity.* Science (2010) 327: 1345-1349
5. Hus M., Dmoszyńska A., Kocki J., Hus I., Jawniak D., Adamczyk-Cioch M.B., Grząsko N.: *Long-term thalidomide therapy resulted in lack of *mdr1* gene expression in patient with primary resistant multiple myeloma.* Leukemia (2005) 19 (8): 1497-1499
6. Kayoga Y., Nannya Y., Kurkowa M.: *Thalidomide maintenance therapy for patients with multiple myeloma: meta-analysis.* Leukemia Research (2012) 36 (8): 1016-1021.
7. Slawinska-Brych A., Zdzisinska B., Mizerska-Dudka M., Kandefer-Szerszen M.: *Induction of apoptosis in multiple myeloma cells by a statin-thalidomide combination can be enhanced by p38 MAPK inhibition.* Leukemia Research (2013) 37 (5): 586-594
8. Singhal S., Mehta J., Desikan R., Ayers D., Roberson P., Eddlemon P., Munshi N., Anaissie E., Wilson C., Dhodapkar M., Zeldis J., Siegel D., Crowley J., Barlogie B.: *Antitumour activity of thalidomide in refractory multiple myeloma.* The New England Journal of Medicine (1999) 341: 1565-1571
9. Morgan G.J., Davies F.E.: *Role of thalidomide in the treatment of patients with multiple myeloma.* Critical Reviews in Oncology. Hematology (2013) 88: 14-22
10. Morgan G.: *Future drug developments in multiple myeloma: an overview of novel lenalidomide-based combination therapies.* Blood Reviews (2010) 24 (1): S27-S32.
11. Minarik J., Sandecka V., Maisnar V., Gregora E., Spicka I., Starostka D., Plonkova H., Jarkovsky J., Walterova L., Wrobel M., Adamova D., Pika T., Melicharova H., Pour L., Radocha J., Pavlicek P., Straub J., Gumulec J., Bacovsky J., Adam Z., Scudla V., Hajek R.: *10 years of experience with thalidomide in multiple myeloma patients: Report of the Czech Myeloma Group.* Leukemia Research (2013) 37 (9): 1063-1069
12. Thomas S.K., Richards T.A., Weber D.M.: *Lenalidomide in multiple myeloma.* Best practice & research clinical haematology (2007) 20 (4): 717-735.
13. Richardson P.G., Mark T.M., Lacy M.Q.: *Pomalidomide: New immunomodulatory agent with potent antiproliferative effects.* Critical Reviews in Oncology/Hematology (2013) 88: S36-S44.

14. Franks, M. E., Macpherson G.R., Figg W.D.: *Thalidomide*. Lancet (2004) 363(9423): 1802-1811.
15. Juffermans, N. P., Verbon A., Olszyna D.P., van Deventer S.J., Speelman P., van Der Poll T.: *Thalidomide suppresses Up-regulation of human immunodeficiency virus coreceptors CXCR4 and CCR5 on CD4+ T cells in humans*. Journal of Infectious Diseases (2000) 181(5): 1813-1816.
16. Wohl, D. A., Aweeka F.T., Schmitz J., Pomerantz R., Cherng D.W., Spritzler W., Fox L., Simpson D., Bell D., Holohan M.K., Thomas S., Robinson W., Kaplan G., Teppler H.: *Safety, tolerability, and pharmacokinetic effects of thalidomide in patients infected with human immunodeficiency virus: AIDS Clinical Trials Group 267*. Journal of Infectious Diseases (2000) 185(9): 1359-1363.
17. Steff, M., Joly V., Di Lucca J., Feldman J., Burg S., Sarda-Mantel L., Peytavin G., Marinho E., Crickx B., Raymond E., Lariven S., Maubec E.: *Clinical activity of lenalidomide in visceral human immunodeficiency virus-related Kaposi sarcoma*. JAMA Dermatology (2013) 149(11): 1319-1322.
18. Lazzerini, M. P., Martellosi S., Magazzu G., Pellegrino S., Lucanto M.C., Barabino A., Calvi A., Arrigo S., Lionetti P.P., Lorusso M., Mangiantini F., Fontana M., Zuin G., Palla G., Maggiore G., Bramuzzo M., Pellegrin M.C., Maschio M., Villanacci V., Manenti S., Decorti S., De Iudicibus S.P., Paparazzo R., Montico M., Ventura A.: *Effect of Thalidomide on Clinical Remission in Children and Adolescents With Refractory Crohn Disease: A Randomized Clinical Trial*. JAMA (2013) 310(20): 2164-2173.
19. Pigott, A., Casson D.: *Thalidomide in Crohn Disease*. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition (2005) 40(2): 236.
20. Ostraat, O., Riesbeck K., Eriksson Z.Q.T., Schatz H., Ekberg H.: *Thalidomide prolonged graft survival in a rat cardiac transplant model but had no inhibitory effect on lymphocyte function in vitro*. Transplant Immunology (1996) 4(2): 117-125.

Wpływ talidomidu na żywotność komórek linii ostrych białaczek promielocytowych

Streszczenie

Talidomid wprowadzony został do medycyny w 1958 r. jako, lek przeciwdrgawkowy. Szybko zaczął być stosowany jako lek przeciw nudnościom u kobiet w ciąży, w leczeniu bólów migrenowych oraz w leczeniu nadciśnienia tętniczego. Po kilku latach związek został uznany za teratogen i wycofany z lecznictwa. Dalsze badania nad talidomidem wykazały min. pobudzanie apoptozy w komórkach naczyń krwionośnych guzów nowotworowych oraz cytotoksyczne bezpośrednie działanie na komórki nowotworowe np. szpiczakowe. Celem pracy było sprawdzenie wpływu różnych dawek talidomidu na żywotność komórek linii nowotworowych wywodzących się z ostrej białaczki promielocytowej (HL60, HL60/MX1). Hodowle komórkowe prowadzone były w medium o składzie: 10% (linia HL60/MX1) oraz 20% (linia HL60) surowicy płodowej bydlęcej (FBS Gold), 100 U/ml penicyliny, 100 µM/ml streptomycyny, 2,5 µg/ml amfoterycyny B oraz RPMI 1640. Komórki posiewano, po 24h ekspozycji na działanie talidomidu (10µg/mL) w różnych ilościach. W celu zbadania żywotności, użyto cytometru przepływowego FlowSight (Amnis, USA). Wykazano wpływ talidomidu na żywotność komórek. Wyznaczono dawki IC10, IC50, IC90.

Słowa kluczowe: talidomid, szpiczak mnogi, cytometria przepływowa, żywotność komórek

Acute promyelocytic leukemia cell line vitality treated with thalidomide

Abstract

Thalidomide was introduced into medicine in 1958 as an anticonvulsant. Soon began to be used as an anti-nausea in pregnant women, for the treatment of migraine pain and treatment of hypertension. After a few years the relationship has been recognized as a teratogen and withdrawn from treatment. Further studies have shown thalidomide as stimulating apoptosis substance in tumor blood vessels and direct cytotoxic to tumor cells such as myeloma. The aim of this work was to verify the effect of different doses of thalidomide on tumor cell lines derived from acute promyelocytic leukemia (HL60, HL60/MX1). Cell lines were grown in RPMI 1640 medium (PAA) supplemented with L-glutamine (2mM), HEPES, antibiotics (penicillin (100U/mL) streptomycin (100μM), amphotericin 2.5 μg/mL(Sigma)) and 10% (HL60/MX1) and 20% (HL60) fetal bovine serum (Gibco). Cell lines were modulated with thalidomide (10μg/mL) in various amounts. The substance effect on cells were observed after 24 hours by flow cytometer FlowSight (Amnis, USA). The influence of thalidomide on cells viability was demonstrated. Inhibitory doses (IC10, IC50, IC90) were determined. This work was funded by the Polish State Committee for Scientific Research (Project No: NN405162639) and was developed using the equipment purchased within the Project "The equipment of innovative laboratories doing research on new medicines used in the therapy of civilization and neoplastic diseases" within the Operational Program Development of Eastern Poland 2007 - 2013, Priority Axis I Modern Economy, Operations I.3 Innovation Promotion.

Keywords: thalidomide, multiple myeloma, flow cytometry, cell viability

INDEKS AUTORÓW

Anisiewicz Artur	7, 49	Kumiega Katarzyna.....	41
Bartosiak Magdalena.....	29	Maini Ruby	115
Bednarski Jerzy.....	71	Michalski Tomasz	71
Bigos Kamila	29	Okła Karolina	7, 49
Binko Paweł.....	41, 71	Paczwa Krzysztof	115
Bogucka-Kocka Anna	115	Paduch Roman	81
Bronisz Iwona	19	Pawlik Paulina	71
Czerwonka Arkadiusz	81, 91	Pilecka Monika	41
Czop Marcin	115	Przemyski Joanna	115
Dudka Jarosław	19	Rzeski Wojciech.....	91
Dzik Michał.....	41	Semeniuk Justyna.....	7, 49
Frant Maciej	81, 91	Słabczyńska Olga	7, 49
Frączek Natalia	19	Szajerska Anna	71
Gasińska Karolina	41, 71	Trętowicz Natalia	115
Goede Arkadiusz	103	Wandtke Tomasz.....	103
Gwizdała Mateusz	115	Wawruszak Anna.....	7, 49
Jawniak Dariusz	115	Wędrowska Ewelina	103
Knap-Czop Karolina	115	Wielikdzień Joanna	103
Kocki Janusz.....	115	Wiśniewska Anna	115
Kotuła Lidia.....	71	Żukowski Rafał	115
Król Sylwia Katarzyna	49	Żurek Aleksandra	81, 91
Kuczyńska Maryla.....	41		