Rokowanie kliniczne i podstawy terapii przeciwnowotworowej

JANUSZ A. MADEJ

Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Katedra Patologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 29, 50-375 Wrocław

Otrzymano 11.04.2018

Zaakceptowano 23.05.2018

Madej J. A.

Clinical prognosis and basics of anti-neoplastic therapy

Summary

The histopathological examination can be supplemented by immunohisto(cyto)chemical examination, cytometry or molecular techniques, making it possible to determine the statistical probability of metastasis. This assists in the selection of appropriate individual treatment that can be the most effective and have the fewest side effects in a given patient. The study describes the basics of neoplastic treatment, including multidrug resistance (MDR). It characterizes the role of transporters (molecular pumps, e.g. ABC – ATP-binding cassettes, RND, SMR, MFS and P450 – CYP), complications of neoplastic therapy (e.g. myelosuppression, acute tumor lysis syndrome), and minimal residual disease (MRD).

Keywords: clinical prognosis, anti-neoplastic therapy

Rokowanie w nowotworach uzależnione jest od ich typu, tj. dojrzałości ocenianej na podstawie stopnia złośliwości G (grading) oraz stadium zaawansowania procesu nowotworowego – S (staging). Ten drugi oparty jest o system TNM – T – tumor (guz) – T1, T2, T3, T4, N – noduli (węzły chłonne) – N0, N1, N2, N3 i M – metastases (przerzuty) – M0, M1, opracowany przez UICC (Union Internationale contre le Cancer) oraz system AJC (American Joint Committee), wyróżniający stopnie od 0 do IV wg wielkości guza pierwotnego, przerzutów w węzłach chłonnych i przerzutów odległych (6). Z kolei w oparciu o liczbę komórek atypowych wyróżnia się cztery stopnie złośliwości nowotworu (G1-G4), gdzie G1 (low grade) – to nowotwór o najmniejszej złośliwości, czyli wysokozróżnicowany, G2 (middle grade) – o średniej złośliwości, G3 (high grade) – o największej złośliwości, czyli niskozróżnicowany, G4 – nowotwór niezróżnicowany i Gx – brak możliwości oceny złośliwości; z modyfikacjami dla raka sutka u ludzi wg Blooma i Richardsona oraz raka prostaty wg Gleasona. Rokowanie uzależnione jest zatem od stopnia zróżnicowania nowotworu w stopniu odwrotnie proporcjonalnym, tzn. tym agresywniejszy jest nowotwór, im bardziej jest on niskozróżnicowany i odwrotnie. Czasem zróżnicowanie komórek jest widoczne dopiero w obrazie ultrastrukturalnym, np. obecność mostków między komórkami

nabłonka raka skóry, desmosomów i tonofibryli w raku grasicy czy ziarnistości neurosekrecyjnych. Podkreśla się także istotną rolę w rokowaniu rodzaju kariotypu nowotworowego, np. w szpiczaku mnogim (*myeloma multiplex*) ocenia się go od dobrego – przy kariotypie hiperdiploidalnym, po zły – przy obecności aberracji w chromosomie 13 i 1 pary oraz translokacji t(11;14) (4).

Diagnostyka mięsaków, w przeciwieństwie do raków, jest z reguły spóźniona, a rokowanie kliniczne niepomysłne ze względu na ich lokalizację w tkankach głęboko leżących. Rokowanie w nowotworach łagodnych, w przeciwieństwie do nowotworów złośliwych, jest z reguły pozytywne i wyjątkowo prowadzą one do śmierci pacjenta. Natomiast w nowotworach złośliwych heterogenność ich komórek, a zwłaszcza komórek w guzie przerzutowym może dodatkowo wpływać na odmienną jego reakcję na terapię, w porównaniu z guzem pierwotnym. Efektem tego jest m.in. oporność na chemioterapię, a uodpornione na nią komórki anektują wówczas cały nowotwór. Oporne na chemio- oraz radioterapię stają się m.in. komórki nowotworowe *astrocytoma* (gwiazdziaka) mózgu, które wprawdzie po uzyskaniu, dzięki tenascynie, fenotypu migracyjnego przestają się dzielić, ale mimo to paradoksalnie intensywnie naciekają istotę białą. Oporność komórek nowotworowych na leki chemioterapeutyczne, zwana

opornością wielolekową – MDR (multidrug resistance), związana jest także z obecnością transporterów (pomp cząsteczkowych), głównie ABC – ATP binding cassettes, np. glikoproteiny P – transporter ABCB1 oraz RND, SMR i MFS, wypompowujących leki z komórki na zewnątrz. Ponadto transportery te, jako odpowiedź na chemioterapię, są także syntetyzowane w komórkach nowotworowych *de novo*. MRD może być pierwotna, tj. zależna od nadekspresji genu *MDR-1*, który koduje P-glikoproteinę usuwającą lek z komórki, lub wtórna, powstała w efekcie stałego podawania leków i wykorzystania oporności krzyżowej na aplikowany lek lub inne leki (9). W procesie MDR pośredniczą również, poprzez transkrypcję P-glikoproteiny i białka MRP (multidrug resistance protein), nanotuby błonowe, zwane tunelowymi (TNTs), umożliwiając transport mitochondrium między komórkami nowotworowymi, transport mtDNA, a także jego mutację (14).

Niezależnie od MDR ok. 50% leków ulega neutralizacji na drodze chemicznej poprzez cytochromy P450 (CYP – żelazonożelazne kompleksy enzymatyczne), głównie CYP1, CYP2 i CYP3. Tak więc jedynie zmiana struktury chemicznej leku lub zastosowanie nietoksycznych inhibitorów transporterów może ograniczyć to zjawisko. Ponadto sama budowa nowotworu w trakcie jego rozwoju ulega zmianie, gdyż uwarunkowana jest rodzajem genetycznej niestabilności komórek, wpływem mikrośrodowiska i terapią (9, 11). Chemioterapia może nawet doprowadzić do dojrzewania złośliwego *neuroblastoma* w niezłośliwy *ganglioneuroma*.

Leczenie nowotworów u zwierząt polega na wykonaniu zabiegu chirurgicznego (klasycznego, kriochirurgii, elektrokoagulacji), terapii adiuwantowej, czyli zastosowaniu chemioterapii lub hormonoterapii (antyestrogeny, prostageny, inhibitory aromatazy, usuwanie jąder lub jajników), immunoterapii, np. zastosowaniu BCG w raku pęcherza moczowego, immunoliposomów, tj. liposomów zawierających prekursorzy cytotatyków „ukierunkowane” swoistymi przeciwciałami i uwalnianie do cytoplazmy komórek nowotworowych po ich endocytozie przez te komórki, terapii fotodynamicznej, odparowania laserowego oraz metod biologicznych, np. terapii interferonami, interleukinami, przeciwciałami monoklonalnymi, inhibitorami kinazy tyrozynowych; natomiast radioterapia i przeszczepy komórek (cytoteria) nie mają tak istotnego znaczenia, jak u ludzi. Na przykład, podając pacjentom ich własne komórki nowotworowe, napromieniowane dawką blokującą podział, ale niezabijającą ich, można przerwać tolerancję immunologiczną nowotworu. Takie komórki podane podskórną wywołują lokalny odczyn zapalny i ulegając apoptozie, aktywują komórki dendrytyczne, które po zasiedleniu węzłów chłonnych pobudzają dziewicze limfocyty Tc, skierowane przeciwko komórkom nowotworowym (3). Cytoredukcji

komórek białaczkowych u ludzi dokonuje się także na drodze autologicznego przeszczepu komórek krwiotwórczych ze szpiku kostnego lub z krwi obwodowej (auto-HSCT), względnie allogenicznego – od obcego dawcy (allo-HSCT – 10). Ostatnio zaczęto nawet używać wirusów onkolitycznych, np. adenowirusów, jako wektorów dla leków, proleków, immunomodulatorów oraz substancji mających wpływ na apoptozę komórek nowotworowych. Wirusy te kodują TRAIL (tumor necrosis factor – related apoptosis – inducing ligand – ligand czynnika martwicy nowotworu indukującego apoptozę) i np. u ludzi prowadzą do apoptozy komórek raka prostaty, nie uszkadzając komórek zdrowych (15).

Radioterapię dzieli się na teleterapię, czyli napromieniowanie z odległości wiązkami promieniowania jonizującego oraz brachyterapię, a więc aplikację niewielkich źródeł promieniowania (radionuklidów) w formie igieł, kapsulek, drutu do jam ciała, doguzowo lub do jego najbliższego otoczenia (tzw. brachyterapia śródtkankowa) (5). Z reguły stosuje się izotopy radu, cezu, jodu, irydu, strontu, fosforu czy złota. Promienioczułość nowotworów nie jest synonimem ich promieniouleczałości i dlatego oba te pojęcia należy łączyć z pojęciem współczynnika terapeutycznego (R_t):

$$R_t = \frac{D_{tol}}{D_{LT}}$$

gdzie: D_{tol} – dawka tolerowana napromieniowanego narządu, D_{LT} – średnia dawka letalna nowotworu (9).

Do nowotworów:

- o dużej promienioczułości zalicza się guzy pochodzenia zarodkowego i wywodzące się z zawiązków narządów (np. *seminoma*, *nephroblastoma*), nowotwory układu chłonnego i szpiku (*lymphomata*, *leucemiae*, *sarcoma Ewingi*) oraz niskozróżnicowane nowotwory układu nerwowego (np. *neuroblastoma*, *medulloblastoma*) – $R_t = 1$,

- o średniej promienioczułości należą raki wywodzące się z nabłonka powierzchniowego np. skóry, jamy ustnej, sutka, pęcherza moczowego – $R_t > 1$,

- nowotwory promieniooporne to raki gruczołów, zwłaszcza wydzielające śluz, np. *carcinoma ventriculi*, *ca coli*) oraz guzy z tkanki łącznej, mięśniowej, nerwowej i czerniaki – $R_t < 1$ (5).

Trwałe uszkodzenie komórek nowotworowych pozbawia je zdolności do rozplemu (tzw. wyjałowienie) i powoduje miejscowe wyleczenie guza, natomiast w tkankach zdrowych prowadzi do powikłania popromiennego, np. martwicy. Pozostawienie choćby jednej klonogennej komórki nowotworowej daje początek ich repopulacji i to w przyspieszonym tempie, obliczanym średnio z 30 do zaledwie kilku dni (5). Co gorsze, jest to proces czasowo nieograniczony. Podobny proces dotyczy niektórych komórek prawidłowych (nefrocytów, pneumocytów, komórek śródbłona naczyń) – tzw. ko-

mórek tarczowych, ale w odróżnieniu od nowotworu, proces ten jest ograniczony czasowo.

Leki przeciwnowotworowe dzieli się na fazowo nieswoiste, tj. działające na komórki w różnych fazach cyklu komórkowego i fazowo swoiste, czyli działające w ściśle określonych fazach. Ponadto w wyborze terapii ważną rolę spełnia zachowanie niektórych cech fenotypowych przez komórki nowotworowe w trakcie ich proliferacji, a także znajomość cech biochemicznych, gdyż wskazuje, jakie typy komórek należy zwalczać. W chemioterapii stosuje się między innymi: antybiotyki (np. mitomycyna, bleomycyna) i substancje alkilujące (np. cyklofosfamid, melfalan) działające na cały cykl komórkowy, antymetabolity (np. meto-treksat, 5-fluorouracyl), inhibitory topoizomerazy (np. Topo I, Topo II – działające na fazę S cyklu) oraz toksyny hamujące tworzenie się wrzeciona podziałowego (np. alkaloidy *Vinca*, toksany – faza M) doprowadzające do uszkodzenia DNA lub zakłócenia szlaków metabolicznych kontrolowanych przez czynniki wzrostu z następową śmiercią komórek (1, 9). Czasem w chemioterapii wykorzystuje się naturalną śmierć komórek nowotworowych spowodowaną apoptozą i/lub autofagią (programowaną śmiercią typu II), stymulując te procesy. Należy bowiem podkreślić, że apoptoza w fazie G1 cyklu komórkowego nasila się, osiągając apogeum w fazie S, natomiast w fazie G0 komórki zazwyczaj nie wykazują apoptozy i są niewrażliwe na cytostatyki, stąd komórki pozostawione w fazie G0 są źródłem odnowy nowotworowej. Czasem apoptoza jest hamowana, pomimo mutacji lub zmian ekspresji kluczowych białek typu TP53 czy BCL-2, co ogranicza wrażliwość komórek nowotworowych na stosowaną terapię. Zauważono również, że prawie wszystkie leki przeciwnowotworowe powodują wzrost stężenia ceramidu, tj. sfingolipidu, który może zahamować cykl komórkowy. Z kolei wzrost poziomu ekspresji białka Bid (Gpr78), uczestniczącego w odpowiedzi UPR, obserwowany po chemioterapii raka sutka u kobiet, jest powodem szybszej jego wznowy, manifestującej się wzrostem proliferacji i angiogenezy oraz oporności na apoptozę. MDR komórek raka sutka, jaka wyraża się opornością na apoptozę indukowaną lekami przeciwnowotworowymi typu doksyrybina, paklitaksel czy epozyd, jest z kolei związana bezpośrednio z wysoką ekspresją genu *UGT8*, który koduje enzym UDP-galaktoza:ceramid galaktozylotransferazę (*UGT8/CGT*) i galaktozyloceramid (*GalCer*) (11, 12). Zahamowanie natomiast w tymże raku ekspresji genu *UGT8* i *GalCer* prowadzi do zwiększonej podatności komórek nowotworowych na apoptozę i opóźnia wzrost guza (13). Niezależnie od tego wzrost ekspresji genu *UGT8* obserwuje się w *glioblastoma* mózgu. Przytoczone fakty uzasadniają potrzebę podziału nowotworów na: potencjalnie chemiowyleczalne (ostra białaczka szpikowa i limfoblastyczna, nowotwory

zarodkowe jajnika i jąder, część chłoniaków, ziarnica złośliwa), nowotwory potencjalnie wyleczalne, ale przy współudziale metod uzupełniających (większość raków, mięsak Wilmsa, przewlekła białaczka szpikowa), nowotwory chemiowyleczalne (uogólnione stadia większości raków) oraz nowotwory, w których chemioterapia jest całkowicie nieskuteczna (raki tarczycy, wątroby, nerek, nowotwory mózgu w tym chłoniaki) (2). Taki podział jest jednocześnie odpowiedzią organizmu na skuteczność chemioterapii i może być, wg klasyfikacji WHO, odpowiedzią całkowitą (complete response – CR), odpowiedzią częściową (partial response – PR), stanem stabilizacji choroby (stable disease – SD) lub jej progresji (progressive disease – PD) (10).

W trakcie terapii przeciwnowotworowej ginie także wiele komórek prawidłowych, gdyż dawka lecznicza i dawka toksyczna leku są bardzo podobne (tzw. wąski wskaźnik terapeutyczny). Dlatego też ostatnio stosuje się terapie innowacyjne (ukierunkowane), tj. leki hamujące aktywność kinazy tyrozynowej receptorów na powierzchni komórki, np. *c-kit* w GISToma – gastrointestinal stromal tumours czy EGFR (epithelial growth factor receptor) w raku płuca, zwłaszcza przy mutacji genu dla tego receptora oraz terapie celowane (molekularne), np. przeciwciała przeciwko białkom kodowanym przez onkogeny *Her-2-neu*, dzięki którym unika się działania toksycznego leku (1). Głównym powikłaniem terapii przeciwnowotworowej jest mielosupresja – neutro-, trombo- i erytopenia oraz ostry zespół rozpadu nowotworu – ATLS (acute tumor lysis syndrome), jako wynik śmierci nekrotycznej lub/i apoptotycznej nadmiernej liczby komórek nowotworowych. Zespół ten manifestuje się uwalnianiem nadmiaru potasu (kwasica metaboliczna, hiperkalemia), puryn z kwasów nukleinowych (hyperurykemia) i fosforanów (hiperfosfatemia) oraz wytrącaniem się kryształów kwasu moczowego i fosforanu wapnia (ostra niewydolność nerek). ATLS może mieć postać utajoną – LTLS (laboratory) lub jawną – CTLS (clinical). Niezależnie od tego obserwuje się: niewydolność gonad, neuropatie obwodowe, spadek odporności na zakażenia bakteryjne i wirusowe, a nawet pojawienie się dodatkowych zmian nowotworowych i teratogennych. W sytuacji wynacznienia cytostatyków notuje się lokalny odczyn zapalny, owrzodzenia oraz martwicę tkanki; stąd podział na cytostatyki parzące i drażniące, te ostatnie nie powodujące zmian martwiczych (5). W końcu należy dodać, że nieznana jest także liczba komórek „pozostawionych” po terapii onkologicznej (prawdopodobnie wynosząca ok. $< 5\%$ lub $10\% < 10^{10} = 1$ g tkanki), a więc tzw. choroba resztkowa, ponieważ nie można ich wykryć tradycyjnymi metodami diagnostycznymi, a jedynie technikami molekularnymi; te zaś pozwalają na wykrycie nawet 1 komórki z defektem na 100 tys. komórek zdrowych, np. wykrycie wspo-

mnianych wcześniej genów harcowniczych oraz ich delecji w raku pęcherza moczowego, wykrycie obecności transkryptu BCR-ABL metodą PCR w leczonej przewlekłej białaczce szpikowej czy fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* FISH (7, 8).

Aktualnie metody terapii onkologicznej prowadzą do zupełnego wyleczenia pacjenta, długotrwałej remisji, np. w nowotworach układu chłonnego lub tylko wydłużają czas i jakość jego życia.

Piśmiennictwo

1. Boon N., Colledge N. R., Walker B. R.: Davidson. Choroby wewnętrzne. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2009.
2. De Vita V. T., Hellman S., Rosenberg S. A. (red.): Cancer: principles and practice of oncology. Ed. 6, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2001.
3. Kawiak J., Zabel M. (red.): Seminaria z cytofizjologii. Wyd. Med. Urban & Partner, Wrocław 2012.
4. Kruś S., Skrzypek-Fakhoury E. (red.): Patomorfologia kliniczna. Podręcznik dla studentów. PZWL, Warszawa 1996.
5. Krzakowski M. (red.): Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych u dorosłych. Polska Unia Onkologiczna, Warszawa 2003.
6. Kumar V., Cotran R. S., Robbins S. L.: Robbins patologia. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2003.
7. Meuten D. J. (red.): Tumors in domestic animals. Wiley Blackwell. Fifth Ed. 2017.
8. Pecorino L.: Molecular biology of cancer. Mechanisms, Targets and Therapeutic. Oxford University Press 2012.
9. Pokrywka M., Lutyńska A.: Celując w czerniaka. Post. Biol. Kom. 2012, 39, 3-11.
10. Siedlecki J. A.: Biologia molekularna nowotworów, [w:] Szczeklik A. (red.): Choroby wewnętrzne. Stan wiedzy na rok 2011. Medycyna Praktyczna, Kraków 2011.
11. Valastyan S., Weinberg R. A.: Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. Cell 2011, 147, 275-292.
12. Weaver B. A.: How Taxol/paclitaxel kills cancer cell. Mol Biol. Cell 2014, 25, 2677-2681.
13. Webb C. P., van de Woude G. F.: Genes that regulate metastasis and angiogenesis. J. Neurooncology 2000, 10, 705-711.
14. Weiss S. W., Goldblum J. R.: Soft tissue tumors. Mosby, St. Louis 2001.
15. Zeyallah M., Patro M., Ahmed I., Ibraheem K., Sultan P., Nehal M., Ali A.: Oncolytic viruses in the treatment of cancer: a review of current strategies. Path. Oncol. Res. 2012, 18, 771-781.

Adres autora: prof. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław; e-mail: janusz.madej@upwr.edu.pl