

Bortezomib (PS-341) jest pierwszym inhibitorem proteasomów, który został zastosowany w badaniach klinicznych oraz praktyce lekarskiej u chorych z nowotworami. Wyniki analiz przedklinicznych wykazały, że ten nowy lek bezpośrednio hamuje proliferację komórek szpiczaka mnogiego, indukuje ich apoptozę oraz wpływa negatywnie na wzrost nowotworu. Dzieje się to poprzez zmiany w interakcji patologiczne plazmocyty – komórki zrębu oraz w zależnym od czynnika jądrowego κB (NF- κB) wydzielaniu cytokin. Kilka lat temu w wielu ośrodkach klinicznych rozpoczęto duże badania fazy II i III nad zastosowaniem bortezomibu u chorych z nawrotową i/lub oporną postacią szpiczaka mnogiego (MM). Pozytywne wyniki tych badań doprowadziły do przyspieszonego zarejestrowania bortezomibu do stosowania u pacjentów z MM, u których stwierdzono progresję po co najmniej drugiej przebytej terapii. Niedawno poszerzono zakres zastosowania tego leku do terapii drugiego rzutu u chorych, u których zawiodło wcześniejsze leczenie. Zaprojektowano również liczne badania nad łączonym podawaniem bortezomibu z innymi specyfikami, w tym z deksametazonem, lekami uszkadzającymi DNA, talidomidem i lenalidomidem u chorych zarówno z nawrotem/chorobą oporną, jak i *de novo* rozpoznaną. Bortezomib daje dużą nadzieję na pokonanie lekooporności przy stosowaniu konwencjonalnej chemioterapii i w przyszłości zapewne może stanowić *filar* do rozwoju bardziej skutecznych strategii terapeutycznych, poprawiających wyniki leczenia przeciwnowotworowego.

Słowa kluczowe: bortezomib, inhibitor proteasomów, szpiczak mnogi, NF- κB , proteasom.

Bortezomib – pierwszy inhibitor proteasomów w terapii szpiczaka mnogiego

Bortezomib – first proteasome inhibitor for the treatment of multiple myeloma

Artur Jurczyszyn, Aleksander B. Skotnicki

Klinika Hematologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Wprowadzenie

Proteasom jest kompleksem wieloenzymatycznym, występującym w komórkach eukariotycznych, którego funkcją jest degradacja ponad 80% oznaczonych ubiquityną białek komórkowych, co wpływa na podział, wzrost oraz śmierć komórek [1, 2]. Lista tych białek obejmuje cykliny, kinazy zależne od cyklin, inhibitory kinaz zależnych od cyklin, produkty onkogenów, produkty genów supresorowych nowotworów oraz aktywatory i inhibitory transkrypcji [1, 3, 4]. Proteasom odgrywa ważną rolę w aktywacji czynnika jądrowego κB (NF- κB) poprzez degradację jego endogennego inhibitora, I- κB [5]. Po aktywacji NF- κB przemieszcza się z cytoplazmy do jądra, gdzie nasila transkrypcję docelowych genów zaangażowanych w przeżycie komórek, ich przyleganie i sygnalizację cytokinową.

Odbywająca się w odpowiednim czasie degradacja białek regulatorowych, indukowana przez proteasom, jest podstawą do podtrzymania prawidłowej homeostazy [6]. Proteasom pełni kluczową rolę także w mechanizmach leżących u podłoża wzrostu komórek nowotworowych, apoptozy, angiogenezy i przerzutowania, a tym samym reprezentuje nowy cel leczenia przeciwnowotworowego [6, 7]. Akumulacja ważnych wewnątrzkomórkowych białek regulatorowych (w tym I- κB , białka supresorowego nowotworów p53, inhibitorów kinaz zależnych od cyklin p21 i p27 oraz białka proapoptotycznego Bax) powstaje wskutek inhibicji proteasomów [4, 6]. Prowadzi do zmniejszenia aktywności NF- κB , zwiększenia transkrypcji genów zaangażowanych w apoptozę (p53) i rozregulowania cyklu komórkowego [3, 4, 8]. Ponadto inhibicja czynności proteasomu może także znosić mechanizmy oporności na chemioterapię i napromienianie, oraz zwiększać wrażliwość komórek nowotworowych na leczenie konwencjonalne [9–13].

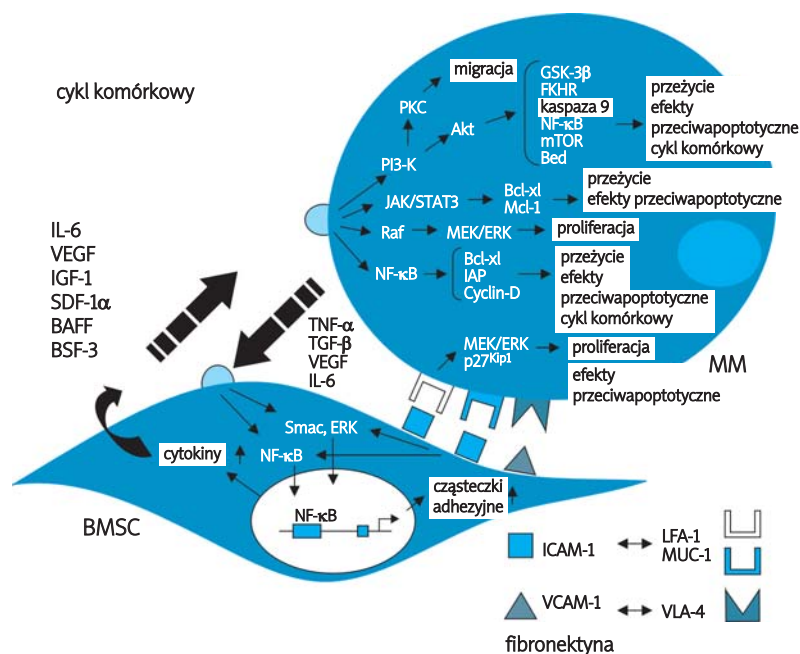
Wyniki badań zarówno przedklinicznych, jak i klinicznych sugerują, że komórki nowotworowe są bardziej wrażliwe na zahamowanie czynności proteasomu niż komórki prawidłowe. W badaniach przedklinicznych stwierdzono, że nowotworowe limfocyty B, pochodzące od chorych z przewlekłą białaczką limfatyczną, były bardziej wrażliwe na inhibicję proteasomów, niż prawidłowe limfocyty i nietransformowane limfoblasty ludzkie [13–15]. Podobnie, linie komórkowe szpiczaka mnogiego (MM) były bardziej wrażliwe na apoptozę indukowaną przez inhibitory proteasomów, niż komórki jednojądrzaste krwi obwodowej pochodzące od osób zdrowych [9]. Wiadomo, że podłoże biologiczne zwiększonej podatności komórek nowotworowych na inhibitory proteasomów nie zostało w pełni wyjaśnione, jednak wysunięto kilka hipotez. Jedną z nich jest większa wrażliwość szybko proliferujących komórek nowotworowych na inhibitory proteasomów oraz bardziej wydajny wychwyty i wolniejsza inaktywacja inhibitorów proteasomów przez patologiczne, zmienione komórki [3, 4, 6].

W przypadku wielu związków chemicznych, tak naturalnych, jak i syntetycznych, wykazano zdolność do inhibicji czynności proteasomu poprzez wiązanie z miejscem chymotrypsynopodobnym rdzeniowej podjednostki

Bortezomib (PS-341) has been the first proteasome inhibitor to enter clinical trials and practice in cancer patients. Based on results of preclinical studies showing that his novel agent directly inhibits the proliferation of myeloma cells, induces their apoptosis and abrogates paracrine tumour growth through alteration of myeloma-stromal cell interactions and nuclear factor- κ B-dependent cytokine secretion, several large phase II and III studies of bortezomib were initiated in patients with advanced relapsed and/or refractory multiple myeloma (MM). Favourable results of these studies led to accelerated approval for use of bortezomib in MM patients who have progressed after at least their second therapy and more recently to expanded approval for second-line use in patients on whom one prior therapy has failed. In the meantime, combination studies of bortezomib with various agents, including dexamethasone, DNA-damaging drugs, thalidomide and lenalidomide, have been designed in patients with both relapsed/refractory and newly diagnosed disease. Bortezomib offers great promise to overcome resistance to conventional therapy and may be the “backbone” for the development of more effective treatment strategies antineoplasma.

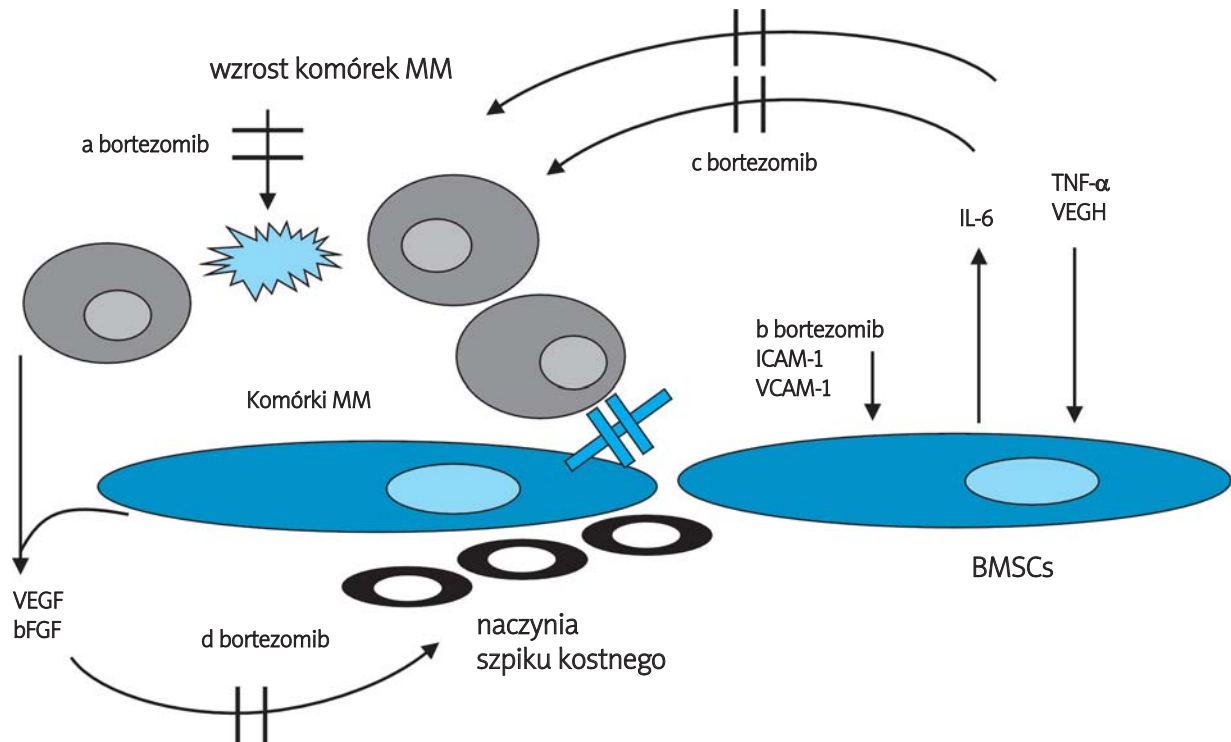
Key words: bortezomib, proteasome inhibitor, multiple myeloma, NF- κ B, proteasome.

katalitycznej 20S [3, 16]. Inhibitory syntetyczne obejmują aldehydy peptydowe, peptydowinylosulfony i dipeptydy kwasu boronowego [16]. W porównaniu z analogami aldehydów peptydowych, dipeptydy kwasu boronowego mają o wiele większą siłę działania i wolniej oddysocjują od proteasomu, dzięki czemu zapewniają stabilną inhibicję proteasomu [3, 17]. Wśród dipeptydów kwasu boronowego wykazano, że mała cząsteczka, zwana PS-341 inaczej bortezomib, stosowana jako jedyny lek, wywiera silne działanie cytotoksyczne w licznych badaniach Narodowego Instytutu ds. Raka USA, przeprowadzanych *in vitro* w 60 liniach komórkowych, wywodzących się z różnych typów nowotworów ludzkich [18]. Z powodu selektywności, odwracalności interakcji z proteasomem, korzystnej farmakokinetyki i łatwości wytwarzania, PS-341 jest pierwszym inhibitorem proteasomów, który został zastosowany u pacjentów z chorobami nowotworowymi.



Ryc. 1. Interakcje patologicznej plazmocyty z komórką zrębową gospodarza i związane z nimi kaskady sygnałowe. Wiązanie komórek nowotworowych do zrębu szpiku kostnego (BMSCs) odgrywa kluczową rolę w patogenezie szpiczaka mnogiego (MM) i reprezentuje nowy cel strategii terapeutycznych ukierunkowanych na pokonanie oporności na leki konwencjonalne. W wyniku interakcji komórek szpiczak-zręb zarówno w BMSCs, jak i w plazmocytach zwiększeniu ulega transkrypcja i wydzielanie kilku cytokin, a w tym interleukiny 6 (IL-6), insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1) i naczyniowego czynnika wzrostu śródbłonna (VEGF). Cytokiny te aktywują szlaki sygnałowe ERK, JAK/STAT3 i (lub) PI3-K/Akt i dalsze cele pozostające pod ich kontrolą, obejmujące m.in. białka przeciwapoptotyczne (Bcl-xL, IAPs, Mcl-1) w komórkach szpiczakowych. Co więcej, przyleganie komórek szpiczakowych do BMSCs aktywuje czynnik transkrypcyjny NF- κ B, sprzyjający następowo wydzielaniu cytokin, zawłaszczając IL-6 i białka przeciwapoptotyczne, a także zwiększający ekspresję cząsteczek adhezyjnych zarówno komórek szpiczakowych, jak i BMSCs, co jeszcze bardziej nasila interakcje komórkowe szpiczak-zręb i wydzielanie cytokin [19]

Fig. 1. Myeloma-host stromal cell interactions and related signaling cascades. Binding of myeloma cells to BMSCs plays a critical role in the pathogenesis of MM and represents a novel target for effective treatment strategies to overcome conventional drug resistance. As a result of myeloma-stromal cell interactions, transcription and secretion of several cytokines, including IL-6, insulin-like growth factor (IGF)-1 and VEGF, are enhanced in both BMSCs and myeloma cells. These cytokines activate ERK, JAK/STAT3 and/or PI3-K/Akt signaling pathways and their downstream targets, which include cytokines (e.g., IL-6, IGF-1 and VEGF) and antiapoptotic proteins (Bcl-xL, IAPs, Mcl-1) in myeloma cells. Furthermore, adhesion of myeloma cells to BMSCs activates the transcription factor NF- κ B, subsequently promoting the secretion of cytokines, primarily IL-6 and antiapoptotic proteins and also upregulating the expression of adhesion molecules on both myeloma cells and BMSC, further enhancing myeloma-stromal cell interactions and cytokine secretion [19]



Ryc. 2. Działania bortezomibu w szpiczaku mnogim (MM) [19]:

- bortezomib bezpośrednio hamuje wzrost komórek szpiczakowych i indukuje ich apoptozę poprzez blokowanie aktywacji NF- κ B;
- bortezomib hamuje parakrynną stymulację wzrostu komórek szpiczakowych przez zmniejszenie ich przylegania do komórek zrębowych szpiku kostnego (BMSCs) na drodze obniżenia ekspresji cząsteczek adhezyjnych na komórkach szpiczakowych;
- bortezomib hamuje zależną od NF- κ B indukcję wydzielania cytokin (głównie IL-6) w BMSCs;
- bortezomib zmniejsza aktywność angiogenną

bFGF – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów, ICAM-1 – cząsteczka przylegania międzykomórkowego 1, TNF- α – czynnik martwicy nowotworów α , VCAM-1 – cząsteczka przylegania komórek naczyniowych 1, VEGF – naczyniowy czynnik wzrostu śródbłotka

Fig. 2. Effects of bortezomib in MM [19]:

- bortezomib directly inhibits the growth of myeloma cells and induces their apoptosis by blocking NF- κ B activation,
- bortezomib inhibits the paracrine growth of myeloma cells by decreasing their adherence to BMSCs via downregulation of adhesion molecule expression on myeloma cells,
- bortezomib inhibits NF- κ B-dependent induction of cytokine secretion (primarily IL-6) in BMSCs,
- bortezomib decreases angiogenic activity,

bFGF – basic fibroblast growth factor, ICAM-1 – intracellular adhesion molecule; TNF- α , – tumor necrosis factor- α , VCAM-1 – vascular cell adhesion molecule, VEGF – vascular endothelial growth factor.

W szpiczaku mnogim adhezja patologicznych plazmocytołów do białek macierzy zewnątrzkomórkowej i komórek zrębowych szpiku kostnego (BMSCs) odgrywa ważną rolę w patogenezie choroby (ryc. 1.) [19]. Przyleganie komórek nowotworowych do białek macierzy zewnątrzkomórkowej nadaje lekooporność zależną od adhezji komórkowej, a wiązanie ich do BMSCs uruchamia transkrypcję oraz wydzielanie cytokin, w tym w pierwszym rzędzie sekrecję interleukiny 6 (IL-6) zależną od NF- κ B. To z kolei uruchamia proliferację komórek szpiczaka, sprzyja ich przeżyciu, jak również zwiększeniu ekspresji cząsteczek przeciwapoptotycznych, nadając komórkom szpiczakowym dalszą oporność na chemioterapię konwencjonalną, a także indukując ekspresję oraz wydzielanie naczyniowego czynnika wzrostu śródbłotka (VEGF) [9, 20–24]. Wykazano, że inhibitory proteasomów hamują interakcje komórek szpiczaka ze zrębem, ingerując w zależną

od NF- κ B indukcję wydzielania cytokin oraz wywierają działania przeciwingiogenne (ryc. 2.) [9, 25–27].

Przedkliniczne badania nad PS-341 (bortezomibem) w MM

Wczesne analizy przedkliniczne nad PS-341 w MM prowadzono w szpiczakowych liniach komórkowych oraz na świeżo izolowanych komórkach od chorych na MM. Wyniki tych badań wykazały, że PS-341 bezpośrednio hamował proliferację linii komórkowych szpiczaka ludzkiego zarówno wrażliwych, jak i opornych na leki cytotoksyczne (w tym melfalan, doksorubicynę, mitoksantron i deksametazon) oraz indukował zależną od kaspazy apoptozę szpiczakowych linii komórkowych i pierwotnych komórek szpiczaka, uzyskanych od pacjentów, bez względu na ekspresję p21, p27 lub p53 [9]. Linie komórek MM były bardziej wrażliwe na proapoptotycz-

ne działanie PS-341, niż komórki jednojądrzaste krwi obwodowej, pochodzące od osób zdrowych [9]. PS-341 ponadto hamował aktywację NF- κ B w traktowanych czynnikiem martwicy nowotworów α (TNF- α) komórkach MM poprzez blokadę degradacji białka inhibitorowego I- κ B α i pokonywał nadawaną przez IL-6 oporność na apoptozę komórek MM [9, 11, 28]. Ponadto PS-341 hamował wiązanie komórek MM do BMSCs i nosił zależną od NF- κ B transkrypcję oraz sekrecję IL-6 w BMSCs [9].

Mechanizmy pośredniczenia w aktywności przeciwszpiczakowej PS-341 badano na poziomie molekularnym. Analiza ekspresji genów w komórkach traktowanych PS-341 wykazała, że lek ten wywoływał zwiększenie ekspresji regulatorów proapoptotycznych oraz zmniejszenie ekspresji białek przeciwapoptotycznych, takich jak Bcl-2 [11, 29]. Ponadto, wykazano, że PS-341 indukował fosforylację kinazy c-Jun, aktywującej kaspazę 8 oraz następowo kaspazę 3, tnącą z kolei enzymatycznie podjednostkę katalityczną kinazy białkowej zależnej od DNA i białka ATM/ATR, co ostatecznie prowadziło do upośledzenia naprawy DNA w szpiczakowych liniach komórkowych i komórkach MM pochodzących od pacjentów [30]. Co więcej, aktywacja kaspazy 3, także indukowała uszkodzenie DNA z następową fosforylacją p53 i degradacją MDM2 [30]. Efekty te były indukowane przez PS-341 w sposób zależny od czasu i dawki oraz wszystkie występowały przy stężeniach PS-341 w surowicy osiągniętych w praktyce klinicznej.

Działania PS-341 badano również w mysim modelu ksenogenicznego przeszczepu szpiczaka [26]. Wyniki wykazały, że lek ten indukował istotną inhibicję wzrostu patologicznej proliferacji, w tym często całkowite regresje nowotworu oraz podwajał przeżycie myszy leczonych w porównaniu z osobnikami kontrolnymi. Oprócz hamowania wzrostu nowotworu i indukcji apoptozy *in vivo*, PS-341 zmniejszał także neoawaskularyzację tkanki nowotworowej, potwierdzając swoje przeciwangiogenne działanie.

Chemosensytyzacja i pokonywanie oporności na leczenie przez hamowanie proteasomów

Aktywność NF- κ B może być zwiększona w komórkach nowotworowych i wiąże się z opornością na stosowanie konwencjonalnej chemioterapii [31–33]. W badaniach przedklinicznych wykazano, że komórki szpiczaka miały zwiększoną aktywność NF- κ B w porównaniu z prawidłowymi hematopoetycznymi komórkami pnia [10, 31]. Podobnie, w przypadku opornych na chemioterapię linii komórkowych MM wykazano, iż mają one zwiększoną aktywność NF- κ B w porównaniu z szpiczakowymi liniami komórkowymi wrażliwymi na chemioterapię [10, 31]. Inhibicja aktywności NF- κ B przez PS-341 wyraźnie hamowała *in vitro* wzrost komórek nowotworowych pochodzących od pacjentów z MM i szpiczakowych linii komórkowych [9]. Hamujące działania PS-341 na wzrost komórek MM było nasilane przez deksametazon, podczas gdy IL-6 nie chroniła komórek MM przed apoptozą, wywołaną przez PS-341 [9]. Ponadto PS-341 w stężeniach subtoksycznych wyraźnie zwiększała wrażliwość na doksorubicynę i melfalan w szpiczakowych liniach komórkowych oraz w pierwotnych komórkach MM uzyskanych od pacjentów [10, 11]. Co ważne, połączenie PS-341 z antracyklinami lub melfalanem nie wywierało istotnych

działań cytotoksycznych na pochodzące od zdrowych dawców komórki CD34+, pochodzące ze szpiku kostnego i krwi obwodowej. Badania profilu ekspresji genów i analizy proteomiczne prowadzone w celu scharakteryzowania efektów inhibicji proteasomów wykazały, że PS-341 oprócz hamowania ekspresji białek przeciwapoptotycznych, zmniejsza ilość transkryptów kilku efektorów ochronnej odpowiedzi komórki na stres genotoksyczny, przywracając jej tym samym wrażliwość na uszkodzające DNA leki cytotoksyczne [11, 29]. Zatem wiele czynników przyczynia się do indukowanego przez PS-341 zniesienia oporności na chemioterapię, w tym inhibicja aktywności NF- κ B i związane z tym zmniejszenie ekspresji białek przeciwapoptotycznych, hamowanie innych szlaków lekooporności [w tym szlaku kinazy białkowej aktywowanej przez mitogeny (MAPK) p44/42], zaburzenie ochronnych interakcji pomiędzy komórkami szpiczaka i BMSCs oraz osłabienie ochronnej odpowiedzi komórki na stres genotoksyczny.

Badania fazy II i III nad stosowaniem bortezomibu jako leku pojedynczego w zaawansowanym lekoopornym i/lub nawrotowym MM

Badania kliniczne I fazy [34], wykazujące aktywność bortezomibu przeciwko MM zachęciły do rozpoczęcia badań fazy II i III ukierunkowanych na określenie bezpieczeństwa i aktywności tego leku u chorych, u których zawiodły uprzednie strategie leczenia, w tym przeszczepianie komórek pnia (tab. 1) [35–37]. Badania fazy II SUMMIT (*Study of Uncontrolled Multiple Myeloma Managed with Proteasome Inhibition Therapy*) i CREST (*Clinical Response and Efficacy Study of Bortezomib in the Treatment of Relapsing Multiple Myeloma*), jako pierwsze pokazały, że bortezomib był skutecznym lekiem w terapii ratującej u ok. 1/3–1/2 pacjentów z lekoopornym/nawrotowym MM [35, 36] oraz zasugerowały w przypadku bortezomibu istnienie *in vivo* zależności pomiędzy dawką a rodzajem odpowiedzi (tab. 1) [36]. W oparciu o te korzystne wyniki bortezomib został w sposób przyspieszony zatwierdzony do stosowania w zaawansowanych fazach MM przez Urząd ds. Żywności i Rejestracji Leków Stanów Zjednoczonych Ameryki (FDA) w 2003 r., a następnie przez Europejską Agencję ds. Rejestracji Produktów Medycznych (EMA) w 2004 r. To początkowe zatwierdzenie dotyczyło leczenia chorych na MM, którzy otrzymali co najmniej dwie uprzednie terapie, i u których w trakcie ostatniej terapii wystąpiła progresja choroby.

Po tych badaniach rozpoczęto bardzo dużą próbę kliniczną III fazy pod nazwą APEX (*Assessment of Proteasome Inhibition for Extending Remissions*), obejmującą porównanie stosowania bortezomibu jako leku pojedynczego ze stosowaniem wysokich dawek deksametazonu u chorych z nawrotem MM (tab. 1.) [37]. Wyniki badania dostarczyły dowodów wyższości zastosowania bortezomibu nad deksametazonem ze względu na zwiększony odsetek odpowiedzi \geq remisji częściowej (PR) [38%, w tym 6% remisji całkowitej (CR), zgodnie z kryteriami Bladé] [38], wydłużony czas do wystąpienia progresji (TTP) (6,22 mies.) i dłuższy czas całkowitego przeżycia (OS) (odsetek roczny 80%). Korzyści kliniczne ze stosowania bortezomibu jako leku pojedynczego w terapii nawrotu MM, potwierdziła obserwacja chorych wydłużona do 22 mies. Zaktualizowane wyniki badań Richardsona i wsp. wykazały, że odsetek odpowiedzi \geq PR wzrósł do 43%, a me-

Tabela 1. Podsumowanie badań fazy II–III nad stosowaniem bortezomibu u chorych z nawrotową i/lub oporną postacią szpiczaka mnogiego
Table 1. Summary of phase II–III trials of bortezomib in patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma

Badanie/leczenie	Stan choroby	Schemat i dawki	Pacjenci	Skuteczność	Piśmiennictwo
SUMMIT	nawrotowa/oporna na ostatnią terapię	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 3., 8. i 11. przez maks. 8 cykli 3-tygodniowych Dex: 20 mg dodawano w dniu i dzień po każdej dawce B jeśli stwierdzono PD po 2 cyklach lub SD po 4 cyklach	n=202	CR+PR+MR=35% mediana TTP=7 mies. mediana DOR=12 mies. mediana OS=16 mies.	Richardson i wsp. [35]
CREST	nawrotowa/oporna na leczenie pierwszego rzutu	B: 1 mg/m ² w dni 1., 3., 8. i 11. przez maks. 8 cykli 3-tygodniowych Dex: 20 mg dodawano w dniu i dzień po każdej dawce B jeśli stwierdzono PD po 2 cyklach lub SD po 4 cyklach B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 3., 8. i 11. przez maks. 8 cykli 3-tygodniowych Dex: 20 mg dodawano w dniu i dzień po każdej dawce B jeśli stwierdzono PD po 2 cyklach lub SD po 4 cyklach	n=27 n=26	CR+PR+MR=33% (sam B), 44% (B±Dex) mediana TTP=7 mies. mediana DOR=9,5 mies. mediana OS=26,7 mies. CR+PR+MR=50% (sam B), 62% (B±Dex) mediana TTP=11 mies. mediana DOR=13,7 mies. mediana OS=nie osiągnięto	Jagannath i wsp. [36]
APEX	nawrotowa po 1–3 uprzednich terapiach	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 3., 8. i 11. przez 8 cykli 3-tygodniowych, a następnie B w dawce 1,3 mg/m ² w dni 1., 8., 15. i 22. przez 3 cykle 5-tygodniowe Dex: 40 mg w dni 1.–4., 9.–12. i 17.–20. przez 4 cykle 5-tygodniowe, a następnie w dni 1.–4. przez 5 cykli 4-tygodniowych	n=333 n=336	mediana TTP=6,2 mies. przeżyście roczne=80% CR+PR=38% mediana TTP=3,5 mies. przeżyście roczne=66% CR+PR=18%	Richardson i wsp. [37]
APEX (analiza w podgrupach)	nawrotowa po 1 uprzedniej terapii	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. przez 8 cykli 3-tygodniowych, a następnie B w dawce 1,3 mg/m ² w dni 1., 8., 15. i 22. przez 3 cykle 5-tygodniowe Dex: 40 mg w dni 1.–4., 9.–12. i 17.–20. przez 4 cykle 5-tygodniowe, a następnie w dni 1.–4. przez 5 cykli 4-tygodniowych	n=132 n=119	mediana TTP=7 mies. przeżyście roczne=89% CR+PR=45% mediana TTP=5,6 mies. przeżyście roczne=72% CR+PR=26%	Sonnenfeld i wsp. (2005)
bortezomib+ talidomid+ deksametazon (VTD)	zaawansowana lekooporna	B: 1–1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. w cyklach 3-tygodniowych T: 50–200 mg dziennie dodane na początku drugiego cyklu B Dex: 20 mg w dniu i dzień po każdej dawce B rozpoczynając od cyklu 4., jeżeli nie osiągnięto PR	n=85	CR+PR+MR=70% mediana EFS=9 mies. mediana OS=22 mies.	Zangari i wsp. (2005)
bortezomib+ melfalan	nawrotowa/oporna na 2–7 uprzednich terapiach	B: 0,7–1 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. przez maks. 8 cykli 4-tygodniowych M: 0,025–0,25 mg/kg w dni 1.–4.	n=34	CR+PR+MR=68% mediana PFS=8 mies.	Berenson i wsp. [43]
bortezomib+ cyklofosfamid+ deksametazon	nawrotowa po 1–9 uprzednich terapiach	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. przez 8 cykli 3-tygodniowych, a następnie B w dawce 1,3 mg/m ² w dni 1., 8., 15. i 22. przez 3 cykle 5-tygodniowe CTX: 50 mg/dobę Dex: 20 mg w dniu i dzień po każdej dawce B	n=50	CR+PR+MR=90% mediana EFS=12 mies.	Kropf i wsp. (2005)
bortezomib+ melfalan+ prednizon+ talidomid	zaawansowana nawrotowa lub oporna na leczenie	B: 1–1,6 mg/m ² w dni 1., 4., 15. i 22. przez 6 cykli 5-tygodniowych M: 6 mg/m ² w dni 1–5. P: 60 mg/m ² w dni 1–5. T: 100 mg/dobę	n=30	CR+PR=69%	Palumbo i wsp. (2005)

Tabela 1. Podsumowanie badań fazy II–III nad stosowaniem bortezomibu u chorych z nawrotową i/lub oporną postacią szpiczaka mnogiego
Table 1. Summary of phase II–III trials of bortezomib in patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma

Badanie/leczenie	Stan choroby	Schemat i dawki	Pacjenci	Skuteczność	Piśmiennictwo
bortezomib+ PegLD	nawrotowa/oporna na ≥ 1 uprzednią terapię	B: 0,9–1,5 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. w cyklach 3-tygodniowych PegLD: 30 mg/m ² w dniu 4.	n=22	CR+PR=73%	Orlowski i wsp. (2005)
bortezomib+ PegLD+ talidomid	nawrotowa/oporna na 1–7 uprzednich terapii	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 15. i 18. przez maks. 6 cykli 4-tygodniowych lub 2 cykle po CR PegLD: 20 mg/m ² w dni 1. i 15. T: 200 mg/dobę	n=21	CR+PR+MR=57%	Chanan-Khan i wsp. (2005)
bortezomib+ dokсорubicyna+ talidomid+ deksametazon (VATD)	oporna na uprzednie terapie oparte na bortezomibie	B: 1 lub 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 9. i 11. Dox: 2,5–10 mg/m ² w ciągłym wlewie w dni 1.–4. i 9.–12. T: 50–100 mg w dni 1–12. Dex: 20 lub 40 mg w dni 1.–4. i 9.–12.	n=20	PR=50%	Hollmig i wsp. (2004)
bortezomib+ lenalidomid	nawrotowa i (lub) oporna na 1–9 uprzednich terapii	B: 1–1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. w cyklach 3-tygodniowych L: 5–15 mg w dni 1–14. w cyklach 3-tygodniowych Dex: 20 mg w dniu 1 dzień po każdej dawce B jeśli stwierdzono PD	n=24	CR+PR=52%	Richardson i wsp. [37, 39]
bortezomib+ wysokie dawki melfalanu	nawrotowa i (lub) oporna na uprzedni Tx lub VTD	B: 1 lub 1,3 mg/m ² w dni 1. i 4. przed melfalanem 100–250 mg/m ²	n=37	PR=39%	Hollmig i wsp. (2004)
bortezomib +deksametazon +talidomid	nawrotowa po allogenicznym SCT	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. w cyklach 3–4 tygodniowych, mediana 2 cykle	n=9	VGPR+PR=67%	Giralt i wsp. (2004)

Skłoty: APEX – Assessment of Proteasome Inhibition for Extending Remissions, B – bortezomib, C – cyklofosfamid, CR – odpowiedź całkowita, CREST – Clinical Response and Efficacy Study of Bortezomib in the Treatment of Relapsing Multiple Myeloma, Dex – deksametazon, DOR – czas trwania odpowiedzi, Dox – dokсорubicyna, EFS – czas przeżycia wolnego od epizodów, HDCT – chemioterapia wysokodawkowa, L – lenalidomid, M – melfalan, MR – odpowiedź minimalna, OS – całkowite przeżycie, P – prednizon, PD – progresja choroby, PegLD – pegylowana liposomalna dokсорubicyna, PFS – przeżycie wolne od progresji choroby, PR – odpowiedź częściowa, SCT – przeszczep komórek pnia, SD – choroba stabilna, SUMMIT – Study of Uncontrolled Multiple Myeloma Managed with Proteasome Inhibition Therapy, T – talidomid, TTP – czas do wystąpienia progresji choroby, TTR – czas do wystąpienia odpowiedzi, Tx – przeszczep, VGPR – bardzo dobra odpowiedź częściowa

diana OS wyniosła 29,8 mies. Ponadto analiza w podgrupach wykazała, że korzyści ze stosowania bortezomibu były największe u chorych, u których wystąpił pierwszy nawrót choroby (tab. 1). U tych pacjentów całkowite prawdopodobieństwo \geq PR wynosiło 45% dla bortezomibu, w porównaniu z 26% w przypadku samego deksametazonu, mediana TTP była odpowiednio 7 vs 5,6 mies., zaś roczne prawdopodobieństwo OS wyniosło odpowiednio 89 vs 72%. W oparciu o te wyniki FDA i EMEA zatwierdziły w roku 2005 rozszerzone wskazanie do stosowania bortezomibu u chorych na MM, którzy otrzymali co najmniej jeden uprzedni kurs terapii, po którym był nawrót.

Oprócz tych danych, analizy w podgrupach, przeprowadzone w kontekście badaniach SUMMIT i APEX, dostarczyły poparcia dla tezy, iż bortezomib stanowi skuteczne leczenie ratunkowe nawet przy niekorzystnych czynnikach rokowniczych, takich jak zwiększone stężenia β_2 -mikroglobuliny [39] i nieprawidłowości chromosomu 13 [del(13)]. Uściślając, w kontekście badania APEX Jagannath i wsp. przeprowadzili sparowaną analizę 21 pacjentów z del(13) porównywanych z 41 pacjentami bez nieprawidłowości chromosomalnych. Wyniki wykazały, że w podgrupie leczonej bortezomibem del(13) nie wiązała się z niższym odsetkiem odpowiedzi lub krótszym OS w przeciwieństwie do wyraźnego zmniejszenia przeżycia obserwowanego u osób del(13)-dodatnich leczonych deksametazonem. W innym badaniu Drach i wsp. uzyskali podobne odsetki odpowiedzi (\geq PR) u chorych z lub bez del(13) wykrywanych za pomocą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ*, chociaż OS w przypadku chorych obciążonych nieprawidłowościami cytogenetycznymi było istotnie niższe w porównaniu z grupą kontrolną.

Ponadto badania nad długoterminowym leczeniem bortezomibem [40] u chorych z upośledzeniem czynności nerek [41] wykazały, że w tych szczególnych okolicznościach profil toksyczności leku nie różnił się od obserwowanego w badaniach u pacjentów z prawidłową czynnością nerek. U 24 chorych z nawrotem MM i zaawansowaną niewydolnością nerek, z których większość poddawana była hemodializoterapii w czasie leczenia bortezomibem, terapia tym lekiem, podawanym osobno lub w połączeniu z innymi pre-

paratami, data całkowity odsetek odpowiedzi \geq PR 78%, w tym 34% CR lub prawie CR (nCR; zniknięcie białka M w rutynowej elektroforezie, ale dodatni wynik immunofiksacji). Zaawansowana niewydolność nerek wymagająca hemodializoterapii nie jest zatem ścisłym przeciwwskazaniem do stosowania bortezomibu, chociaż zaleca się staranne monitorowanie takich chorych.

Skutki niepożądane i działania toksyczne

Działania toksyczne przypisywane bortezomibowi stosowanemu jako lek pojedynczy u chorych z zaawansowanym nawrotowym i/lub lekoopornym MM są odwracalne i można sobie z nimi poradzić. Najpowszechniejsze działania niepożądane to objawy żołądkowo-jelitowe, wymioty, brak apetytu, zmęczenie, małopłytkowość oraz polineuropatia czuciowa [35–37]. Niektóre z tych efektów toksycznych, takie jak biegunka, polineuropatia obwodowa i wymioty, obserwowano częściej przy wyższej dawce 1,3 mg/m² w porównaniu z niższą 1 mg/m² [36]. Objawy żołądkowo-jelitowe były zazwyczaj łagodne lub umiarkowane i możliwe do opanowania typowym leczeniem. Małopłytkowość stanowiła najczęstsze poważne działanie niepożądane o średniej częstości występowania ok. 30%. Pojawiała się głównie u chorych z niską wyjściowo liczbą płytek krwi [35, 42] i miała zwykle charakter przejściowy, przy czym liczba płytek powracała do poziomu wyjściowego podczas okresu spoczynkowego każdego cyklu [35–37, 42]. Wskutek krótkiego czasu trwania małopłytkowości, w badaniu APEX ryzyko epizodów krwawienia u chorych otrzymujących bortezomib nie było większe niż obserwowane u osób leczonych wyłącznie deksametazonem. U chorych z ciężką małopłytkością, jeżeli jest to wskazane z klinicznego punktu widzenia, to zamiast zmniejszania dawki bortezomibu zaleca się przetoczenie płytek krwi. Najważniejszym efektem toksycznym leczenia bortezomibem u chorych z zaawansowanym i lekoopornym MM była kumulacyjna polineuropatia obwodowa. W łącznych danych z badań fazy II i III SUMMIT i APEX częstość występowania polineuropatii wynosiła 31–36% (u 8–12% pacjentów była ona stopnia 3.–4.), przy czym pojawiała się częściej u chorych z wyjściowo stwierdzanymi objawami neurologicznymi [35–37]. W badaniu APEX, modyfikacja dawki lub przerwanie podawania bortezomibu było konieczne aż u 79% spośród 91 chorych z polineuropatią stopnia \geq 2. U tych 91 pacjentów, w 9% przypadków stwierdzono poprawę w zakresie objawów neurologicznych, podczas gdy u 55% chorych polineuropatia obwodowa cofała się całkowicie do poziomu wyjściowego w ciągu 2–3 mies. od ostatniej dawki bortezomibu. Przy wczesnym wykrywaniu polineuropatii obwodowej i stosowaniu algorytmu zmniejszania dawki lub przerywania podawania leku, u większości chorych może wystąpić natychmiastowa poprawa w zakresie objawów neurologicznych lub ich całkowite ustąpienie. Ponadto stosowanie – oprócz suplementacji witamin i miejscowego podawania kremu kapsaicynowego, także gabapentyny lub amitryptyliny może nieść korzyści kliniczne.

Badania fazy II nad stosowaniem bortezomibu w połączeniu z innymi lekami w zaawansowanym lekoopornym i/lub nawrotowym MM

Wyniki przedklinicznych badań wykazujące, że bortezomib nasilał wrażliwość komórek szpiczakowych na chemioterapię

konwencjonalną [10, 11] i zwiększał przeciwszpiczakową aktywność deksametazonu [9], dostarczyły racjonalnych podstaw do rozwoju badań nad różnymi połączeniami lekowymi. Usiłując przełamać oporność na chemioterapię i powiększyć arsenał terapeutyczny w zaawansowanym MM, w badaniach tych oceniano połączenia bortezomibu z lekami uszkadzającymi DNA, takimi jak dokсорubicyna i melfalan i/lub deksametazon lub talidomid (tab. 1) [35, 36, 43, 44].

W badaniach fazy II SUMMIT i CREST u chorych z odpowiedzią suboptymalną na bortezomib jako lek pojedynczy (1,3 lub 1,0 mg/m²) dozwolone było następowe podawanie dodatkowo deksametazonu (20 mg) w dniu i po każdej dawce bortezomibu (tab. 1) [35, 36]. Poprawę odpowiedzi (\geq odpowiedź minimalna (MR)) obserwowano u 11–18% pacjentów, co potwierdziło stwierdzone uprzednio w badaniach przedklinicznych działanie addytywne tych dwóch specyfików [9].

Optymalne połączenie bortezomibu z melfalanem analizowano w dwóch innych badaniach fazy I–II ze zwiększaniem dawki [43]. W jednym z tych badań, zwiększanie dawki tych dwóch leków kontynuowano do 1 mg/m² w przypadku bortezomibu i 0,25 mg/kg melfalanu. W grupie leczonej takimi dawkami obserwowano dwa epizody działań toksycznych ograniczających dawkę (DLT) (tab. 1) [43]. Najpowszechniejszym poważnym niepożądanym działaniem toksycznym była mielosupresja, która występowała częściej u chorych z wyjściową pancytopenią. Całkowity odsetek odpowiedzi (\geq MR) wynosił 68%. W drugim badaniu standardową dawkę bortezomibu (1,3 mg/m²) łączono z melfalanem w dawce początkowej 10 mg/m². Jednak z powodu nadmiernych hematologicznych efektów ubocznych, w następnych grupach pacjentów początkowa dawka melfalanu wynosiła 2,5 mg/m² przy planowanym jej zwiększeniu do dawki maksymalnej 7,5 mg/m². U 21 poddanych ocenie pacjentów, całkowity odsetek odpowiedzi (\geq MR) na wszystkich poziomach leczenia wynosił 62% i zwiększył się do 76% po dodaniu deksametazonu i melfalanu. Relacjonowano 6 epizodów polineuropatii stopnia 3., z których 5 spowodowało wycofanie pacjentów z badania. W oparciu o te korzystne dane, oraz w świetle obiecujących wyników łączonej terapii bortezomibem i talidomidem, rozpoczęto badanie fazy I–II ze zwiększaniem dawki, ukierunkowane na zbadanie toksyczności i aktywności schematu obejmującego bortezomib, melfalan, prednizon i talidomid (tab. 1).

W innym badaniu fazy II, badano połączenie bortezomibu w dawce standardowej (1,3 mg/m²) z deksametazonem oraz ciągłym podawaniem niskich dawek doustnego cyklofosfamidu (50 mg/dobę), w grupie 50 pacjentów z nawrotem MM (tab. 1). Warto zauważyć, że 78% pacjentów miało nawrót po wysokich dawkach melfalanu, a 46% było obciążonych obecnością del(13). Całkowity odsetek odpowiedzi \geq MR wynosił 90%, w tym 12% CR, a mediana czasu przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS) wynosiła 12 mies. Ciężkie, inne niż hematologiczne toksyczne działania niepożądane, w tym zakażenia (24,5%) i polineuropatia obwodowa (18,9%) były porównywalne do relacjonowanych uprzednio dla bortezomibu, jako leku pojedynczego.

Badania przedkliniczne wykazujące, że bortezomib powoduje supresję przeciwapoptotycznego szlaku p44/p42-MAPK, aktywowanego przez antracykliny [45], a także hamuje wywołaną przez chemioterapię aktywację NF- κ B, zwróciły uwagę na potencjalną użyteczność połączenia bortezomi-

bu z doksorubicyną, w leczeniu zaawansowanego/nawrotowego MM. W związku z tym przeprowadzono badanie fazy I nad stosowaniem bortezomibu, w zwiększających się dawkach (0,9–1,5 mg/m²) i pegylowanej liposomalnej doksorubicyny (30 mg/m²) u 42 pacjentów, z zaawansowanymi hematologicznymi nowotworami złośliwymi, w tym 24 chorych na MM (tab. 1.) [44]. Wśród 22 pacjentów z MM aż 16 (73%) osiągnęło odpowiedź \geq PR, w tym 36% \geq nCR. Co ważne, część pacjentów, którzy osiągnęli \geq nCR miała MM opornego na antracykliny, co potwierdziło, że bortezomib może przywracać wrażliwość komórek szpiczakowych na chemioterapię konwencjonalną *in vivo*.

Na podstawie braku oporności krzyżowej na bortezomib i talidomid, zaprojektowano badanie fazy II ze zwiększaniem dawki nad stosowaniem obu tych leków w połączeniu z deksametazonem (VTD), w leczeniu pacjentów z zaawansowanym i lekoopornym MM (tab. 1.). Do badania włączono 85 pacjentów, z których 74% miało nieprawidłowości cytogenetyczne [w tym 47% del(13)], a u 84% wykonano wcześniej pojedynczy przeszczep autologiczny komórek macierzystych szpiku kostnego. Ponadto u 73% podawano uprzednio talidomid i stwierdzono oporność na ten lek. W przypadku dawki bortezomibu 1 mg/m² nie osiągnięto maksymalnej tolerowanej dawki (MTD) talidomidu; w przypadku dawki bortezomibu 1,3 mg/m² MTD talidomidu wynosiła 150 mg/dobę. Najczęstsze działania niepożądane stopnia 3.–4. stanowiła mielosupresja. U 70% pacjentów stwierdzono odpowiedź \geq MR, a u 55% \geq PR, w tym u 16% \geq nCR. Mediana EFS i OS wynosiła odpowiednio 9 i 22 mies. W związku z zadowalającymi efektami terapeutycznymi połączenie VTD zostało ostatnio włączone do strategii leczenia pierwszego rzutu w chorobie nowo rozpoznanej.

W badaniu II fazy oceniano, czy dodanie doksorubicyny do VTD (VATD) przezwyciężyłoby lekooporność na schematy oparte na bortezomibie u 22 chorych, u których nie powiodło się uprzednie leczenie talidomidem (100% pacjentów) lub bortezomibem jako pojedynczym lekiem (95% pacjentów) lub VTD (45% pacjentów) (tab. 1.). Odpowiedź oceniano u 14 spośród tych chorych, z których 50% osiągnęło PR sugerując, że doksorubicynę można z sukcesem łączyć z VTD.

W innym badaniu II fazy oceniano stosowanie bortezomibu w połączeniu z doksorubicyną i talidomidem (VDT) w roli leczenia ratującego u 21 pacjentów, u których zawiodły wcześniej zastosowane terapie (mediana 3) w tym przeszczepienie komórek pnia (29%), talidomid (57%) i bortezomib (19%) (tab. 1.). U 14 chorych, u których można było dokonać oceny, odsetek odpowiedzi (\geq PR) wynosił 57%, w tym było 14% CR. Małopłytkowość i polineuropatię 3.–4. stopnia opisano odpowiednio u 24 i 9,5% pacjentów.

Badania przedkliniczne wykazały, że lenalidomid (znany jako CC-5013 lub Revlimid), potęguje działania apoptotyczne bortezomibu [46], co dostarczyło uzasadnienia dla badania fazy I, ze zwiększaniem dawki nad stosowaniem obu tych leków w MM (tab. 1.). Maksymalne dawki planowane dla bortezomibu i lenalidomidu, zakładając brak DLT, wynosiły odpowiednio 1,3 mg/m² i 20 mg/dobę. W czasie jednego z doniesień, 24 pacjentów otrzymało 7 cykli bortezomibu (1–1,3 mg/m²) w połączeniu z lenalidomidem (5–15 mg/dobę). Obserwowano dwie DLT przy dawce bortezomibu

1,3 mg/m² i lenalidomidu 10 mg/dobę (1 pacjent) oraz 15 mg/dobę (1 pacjent). Odpowiedź oceniano u 21 chorych, spośród których 11 (52%) osiągnęło odpowiedź \geq PR.

Bortezomib (1–1,3 mg/m²) wydawał się bezpieczny, nawet w przypadku dołączenia go do wysokich dawek melfalanu (100–250 mg/m²), w ramach przygotowania do przeszczepu autologicznego (tab. 1.). Ten nowy, zintensyfikowany schemat kondycjonujący sprawdzono w grupie 37 pacjentów, z których większość była obciążona dużym ryzykiem. Spośród 27 chorych możliwych do oceny, odsetek odpowiedzi (\geq PR) wynosił 36%, w tym było 26% CR. Inne niż hematologiczne działania niepożądane obejmowały zapalenie płuc/posocznicy (38%), biegunkę (30%), gorączkę neutropeniczną (13,5%) i zapalenie śluzówek (13,5%). W innym badaniu oceniano tolerancję bortezomibu jako leku pojedynczego w roli wczesnego leczenia konsolidującego po przeszczepie autologicznym. Włączono 40 pacjentów, z których 33 otrzymało, po przeszczepie co najmniej jeden cykl bortezomibu w dawce standardowej (1,3 mg/m²). Nie obserwowano mielotoksyczności stopnia 3.–4., podczas gdy polineuropatia wywołana leczeniem, obserwowana u 9% chorych, doprowadziła do przerwania terapii u 2 pacjentów. Warto zauważyć, iż aż u 42,4% pacjentów nastąpiła reaktywacja wirusa *Varicella zoster*.

Ponadto wstępne wyniki uzyskane w małej grupie pacjentów poddanych allogenicznemu przeszczepowi komórek pnia sugerują, iż bortezomib może być skuteczną opcją zarówno leczenia kondycjonującego, jak i leczenia ratującego u chorych, u których wystąpił nawrót lub progresja choroby (tab. 1.).

Badania II fazy nad bortezomibem jako lekiem pojedynczym lub w połączeniu z innymi lekami w przypadkach uprzednio nieleczonych MM

W związku z niezwykle sukcesem terapeutycznym i akceptowalnym profilem toksyczności bortezomibu w lekoopornym lub nawrotowym MM, zaprojektowano liczne badania kliniczne, ukierunkowane na ocenę działania i toksyczności tego leku w terapii pierwszego rzutu u młodszych chorych oraz u pacjentów w podeszłym wieku, z *de novo* rozpoznaną chorobą. W tych badaniach analizowano rolę bortezomibu, jako jedynego leku w terapii lub częściej w połączeniach z innymi lekami (tab. 2.) [47, 48]. Szczególnie wiele wysiłku poświęcono stworzeniu, opartych na bortezomibie, schematów ukierunkowanych na zwiększenie odsetka, szybkości i wielkości odpowiedzi u chorych będących kandydatami do autologicznego przeszczepu komórek pnia. Oprócz odpowiedzi, ważne punkty końcowe tych badań obejmowały także bezpieczeństwo i profil toksyczności, ze szczególnym uwzględnieniem pozyskiwania komórek macierzystych krwi obwodowej (PBSCs).

Działania niepożądane, zwłaszcza neurologiczne oraz aktywność bortezomibu w dawce standardowej (1,3 mg/m²), jako leku pojedynczego oceniano u uprzednio nieleczonych chorych w badaniu fazy II (tab. 2.). W badaniu tym dołączenie deksametazonu do bortezomibu nie było możliwe. U 65 pacjentów ocenianych pod względem bezpieczeństwa, częstość występowania polineuropatii obwodowej, głównie stopnia 1.–2., wynosiła 55%. Co ciekawe, z zastosowaniem badań przewodnictwa nerwowego, obecność subkli-

Tabela 2. Podsumowanie badań fazy I–II nad stosowaniem bortezomibu jako leku pojedynczego lub w połączeniu z innymi lekami u uprzednio nieleczonych chorych na szpiczaka mnogiego
Table 2. Summary of phase II–III trials of bortezomib alone or in combination with other agents in previously untreated patients with multiple myeloma

Badanie/leczenie	Schemat i dawki	Pacjenci	Odpowiedź	Piśmiennictwo
bortezomib	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. w cyklach 3-tygodniowych	n=66	CR+PR=38%	Richardson i wsp. (2005)
bortezomib± deksametazon	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. przez maks. 6 cykli 3-tygodniowych Dex: 20 mg dodawano w dniu i dzień po każdej dawce B, jeśli stwierdzono <PR po 2 cyklach lub <CR po 4 cyklach	n=50	CR+PR=90% ≥ nCR=20%	Jaganath i wsp. [48]
bortezomib+ deksametazon	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. przez 4 cykle 3-tygodniowe Dex: 40 mg w dni 1–4. i 9–12. przez cykle 1. i 2.; 40 mg w dni 1–4. przez cykle 3. i 4.	n=48	CR+PR=67% CR=17%	Harousseau i wsp. (2005)
bortezomib+ doksorubicyna+ deksametazon (PAD)	B: 1,3 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. przez 4 cykle 3-tygodniowe Dox: dawki wzrastające (0; 4; 5; 9; 0 mg/m ²) w dni 1–4. Dex: 40 mg w dni 1–4., 8–11. i 15–18. w cyklu 1.; w dni 1–4. w cyklach 2., 3. i 4.	n=21	CR+PR=95% CR=24% nCR=5% VGPR=33%	Oakervee i wsp. [47]
PAD	B: 1 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. przez 4 cykle 3-tygodniowe Dox: 9 mg/m ² w dni 1–4. Dex: 40 mg w dni 1–4., 8–11. i 15–18. w cyklu 1.; w dni 1–4. w cyklach 2., 3. i 4.	n=19	CR+PR=89% CR=11% nCR=5% VGPR=26%	Popat i wsp. (2005)
bortezomib +talidomid +deksametazon (VTD)	B: 1–1,9 mg/m ² w dni 1., 4., 8. i 11. przez 2 lub 3 cykle 4-tygodniowe T: 100–200 mg/dobę Dex: 20 mg/m ² w dni 1–4., 9–12. i 17–20.	n=38	CR+PR=92% CR=18%	Wang i wsp. (2005)
bortezomib+melfalan +prednizon (V-MP)	B: 1 mg/m ² (kohorta 1.: w dni 1., 4., 8. i 11., 22., 25., 29. i 32.); zwiększenie do 1,3 mg/m ² (kohorta 2.), maks. 4 cykle 6-tygodniowe, a następnie maks. 5 cykli 5-tygodniowych M: 9 mg/m ² w dni 1–4. (obie kohorty) P: 60 mg/m ² w dni 1–4. (obie kohorty)	n=60	CR+PR=88% CR=32% nCR=11%	Matteo i wsp. (2005)

Skróty: B – bortezomib, CR – odpowiedź całkowita, Dex – deksametazon, M – melfalan, nCR – odpowiedź prawie całkowita, P – prednizon, PR – odpowiedź częściowa, T – talidomid, VGPR – bardzo dobra odpowiedź częściowa

nicznej polineuropatii małych włókien stwierdzono wyjściowo u 17 spośród 34 pacjentów (50%), co sugeruje, że zasadnicza polineuropatia obecna w MM występuje częściej niż się powszechnie uważa. U 60 możliwych do oceny pacjentów odsetek odpowiedzi (≥ PR) po dwóch lub więcej cyklach wynosił 28%, w tym 10% CR. U dodatkowych 25% pacjentów obserwowano ponadto MR.

W innym badaniu II fazy, u chorych z nowo rozpoznany MM, którzy nie odpowiadali pozytywnie na terapię bortezomibem w standardowej dawce (1,3 mg/m²), jako lekiem pojedynczym, dozwolone było podawanie deksametazonu (40 mg) w dniu i po każdej dawce bortezomibu. Włączono 50 pacjentów, z których 48 oceniano pod względem uzyskanych odpowiedzi. Spośród tych 48 chorych, 12 podawano bortezomib jako lek pojedynczy, a 36 otrzymywało bortezomib w połączeniu z deksametazonem (tab. 2.). Najlepszy całkowity odsetek odpowiedzi (≥ PR) wynosił 90% (w tym 20% ≥ nCR) i obserwowano go po 2 cyklach u 50% pacjentów, po 4 cyklach u 79%, a po 6 cyklach u 90% pacjentów. Dołączenie deksametazonu do bortezomibu prowadziło do poprawy odpowiedzi u 64% chorych, z czego większość stanowiła poprawa albo z choroby stabilnej, albo z MR na PR. U 49 pacjentów ocenianych pod względem efektów toksycznych, polineuropatię czuciową stopnia ≥2. i stopnia 3., obserwowano odpowiednio u 37 i 12% badanych.

Połączenie bortezomibu w dawce 1,3 mg/m² z deksametazonem jako leczenie pierwszego rzutu, w ramach przygotowania do autologicznego przeszczepu komórek pnia, oceniano następnie w badaniu przeprowadzonym przez Francuską Grupę Szpiczakową (tab. 2.). U 48 ocenianych pacjentów całkowity odsetek odpowiedzi (≥ PR) wynosił 67%, w tym 17% CR i 13% bardzo dobrej PR. Polineuropatię obwodową obserwowano u 29% pacjentów (u 9% była ona stopnia 3.). Jeden z pacjentów wymagał przerwania leczenia z powodu polineuropatii.

Nowy schemat składający się z połączenia bortezomibu w dawce 1,3 mg/m² z deksametazonem i zwiększających się dawek doksorubicyny (0–9 mg/m²) (określany jako PAD), badano w grupie 21 pacjentów z nowo rozpoznany MM, będących kandydatami do wykonania autologicznego przeszczepu komórek pnia (tab. 2.) [47].

Całkowity odsetek odpowiedzi wynosił 95%. Odsetek \geq nCR zwiększył się z 29% po cyklu PAD do 57% po wykonaniu przeszczepu autologicznego. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi były polineuropatia czuciowa (wiążąca się z bólem), która występowała u ok. 48% pacjentów. U wszystkich pacjentów, z wyjątkiem jednego, efekty neurotoksyczne były stopnia 1. W celu zmniejszenia częstości występowania polineuropatii, w następnej grupie 19 pacjentów zmniejszono dawkę bortezomibu z 1,3 do 1 mg/m², podczas gdy doksorubicynę podawano w tych samych, zwiększających się dawkach (tab. 2.). Odpowiedź na zredukowany schemat PAD była porównywalna do tej obserwowanej uprzednio w przypadku schematu z wyższą dawką; nie obserwowano polineuropatii 3.–4. stopnia.

Skuteczność i bezpieczeństwo bortezomibu w dawce 1–1,9 mg/m², talidomidu w dawce 100–200 mg dziennie i deksametazonu (VTD), badano w grupie 38 kolejnych nowo zdiagnozowanych chorych na MM (tab. 2.). Większość spośród pacjentów było kandydatami do wykonania następnego przeszczepu autologicznego. Bortezomib podawano w dawce początkowej 1,3 mg/m² u 45% chorych, 1,5 mg/m² u 29% chorych i \geq 1,6 mg/m² u pozostałych 26% pacjentów. Całkowity odsetek odpowiedzi w przypadku wszystkich dawek wynosił 92% (w tym 18% CR) i nie wpływała na niego dawka bortezomibu. Co ważne, czas do uzyskania odpowiedzi wynosił \leq 1,5 mies., a więc do przygotowania chorego do następnego przeszczepu autologicznego konieczne były 2 cykle VTD. Z powodu krótkiego trwania leczenia, działania niepożądane były umiarkowane i odwracalne.

Dalszej oceny połączenia VTD jako leczenia pierwszego rzutu indukującego remisję u chorych z nowo rozpoznany MM, dokonano w kontekście programu Barlogiego *Total Therapy 3* (TT3). W tym badaniu schemat VTD dołączono do 4-dniowych ciągłych wlewów cisplatyny, doksorubicyny, cyklofosfamid i etopozydu (PACE), w ramach przygotowania do podwójnego przeszczepu autologicznego. W porównaniu z obejmującym talidomid (n=314 pacjentów), wcześniejszym badaniem [*Total Therapy 2* (TT2)], program TT3 był bardziej skuteczny w indukowaniu \geq nCR (odpowiednio 64 vs 81%), częściowo z powodu większego odsetka pacjentów otrzymujących zamierzone 2 przeszczepy (odpowiednio 68 vs 78%). Umieralność związana z przeszczepem po 12 mies. nie różniła się pomiędzy oboma badaniami.

W oparciu o obserwowane *in vitro* i *in vivo* działania synergistyczne bortezomibu i melfalanu, grupa PETHEMA (*Spanish Myeloma Group*) zaprojektowała badanie fazy I–II ze zwiększaniem dawki nad bortezomibem w połączeniu z melfalanem i prednizonem (V-MP) jako leczeniem pierwszego rzutu u osób w podeszłym wieku (\geq 65 lat). Ci pacjenci nie byli kandydatami do otrzymania autologicznego przeszczepienia komórek pnia (tab. 2.). Badanie obejmowało fazę I, ukierunkowaną na ustalenie optymalnej dawki bortezomibu (1 lub 1,3 mg/m²) i następną fazę II, mającą na celu ocenę toksyczności i skuteczności V-MP (tab. 2.). W fazie I nie obserwowano DLT, a zalecaną dawką bortezomibu dla fazy II było 1,3 mg/m². Włączono 60 pacjentów, z których 53 było możliwych do oceny pod względem skuteczności. Po 7 cyklach całkowity odsetek najlepszej odpowiedzi (\geq PR) wynosił 88% (w tym 43% \geq nCR). Najczęstsze niepożądane działania toksyczne stopnia 3.–4. u chorych

otrzymujących \geq 3 cykle, obejmowały neutropenię (24%) i małopłytkowość (17%). Ciężką polineuropatię obwodową obserwowano w 6% przypadków.

Wpływ bortezomibu na pozyskiwanie i przeszczepianie komórek pnia

W ciągu ostatniej dekady, leczenie pierwszego rzutu z zastosowaniem winkrystyny, doksorubicyny i deksametazonu (VAD) lub samego deksametazonu było standardem terapeutycznym u młodszych chorych, u których planowano autologiczny przeszczep komórek pnia. Postępy w stosowaniu cyklu VAD lub schematów VAD-podobnych w takiej sytuacji obejmowały odsetek oraz szybkość odpowiedzi i, co ważniejsze, brak działań toksycznych na prawidłowe hematopoetyczne komórki pnia. Niedawno dostępne stały się nowe leki ukierunkowane zarówno na klon komórek szpiczaka, jak i mikrośrodowisko szpiku kostnego, co dostarczyło podstaw do rozwoju alternatywnych terapii, zmniejszających masę komórek nowotworowych w ramach przygotowania do przeszczepu autologicznego [49–51]. Nowe sposoby leczenia można uważać za właściwe, jeśli odpowiedź jest maksymalna, profil toksyczności niski oraz brak niekorzystnego efektu na następne pozyskiwanie komórek pnia. Ta ostatnia kwestia ma szczególne znaczenie i stanowiła jeden z najważniejszych punktów końcowych, przeprowadzonych dotychczas badań nad bortezomibem jako lekiem pojedynczym lub w połączeniach z innymi specyfikami, w ramach terapii pierwszego rzutu stosowanej u pacjentów z nowo rozpoznany MM (tab. 3.) [47, 48].

W niedawnym badaniu oceniano pozyskiwanie komórek pnia z zastosowaniem czynnika wzrostu granulocytów (G-CSF) w dawce 10 μ g/kg/dobę u 40 pacjentów, którym podawano dwa 3-tygodniowe cykle bortezomibu, jako leku pojedynczego w dawce 1,3 mg/m² po wcześniejszej terapii deksametazonem lub VAD, z ewentualnym dodatkiem talidomidu. 38 pacjentów przeszło pozytywnie mobilizację PBSCs i 37 osiągnęło minimalną dawkę progową 2,5x10⁶/kg komórek CD34+ w jednym (n=29) lub dwóch pobraniach (n=7). W pierwszej aferezie pozyskano średnio 4,24x10⁶/kg CD34+ komórek. W dwóch innych badaniach, w których bortezomib podawano jako leczenie pierwszego rzutu, albo jako lek pojedynczy lub w połączeniu z deksametazonem, sprawdzano możliwość mobilizacji i przeszczepienia komórek pnia po leczeniu [48]. W pierwszym badaniu wykazano, że możliwe jest zastosowanie jako leczenia indukującego przed autologicznym przeszczepem komórek pnia, bortezomibu w dawce 1,3 mg/m² z deksametazonem lub bez deksametazonu [48]. 23 pacjentów przeszło skuteczną mobilizację komórek pnia z zastosowaniem samego G-CSF, przy uzyskanej ilości komórek CD34+ mobilizowanych w ciągu 2–3 dni pobierania 12,55x10⁶/kg (mediana 5,11–40,37x10⁶/kg). Potransplantacyjne wszczepienie było natychmiastowe u wszystkich chorych. W drugim badaniu, 53 uprzednio nieleczonych pacjentów, będących kandydatami do autologicznego przeszczepienia komórek pnia, otrzymywało cztery 3-tygodniowe cykle bortezomibu w dawce 1,3 mg/m² z następnym pozyskaniem komórek pnia z zastosowaniem samego G-CSF. Mobilizacja PBSCs była skuteczna u 42 spośród 45 chorych, którzy przeszli tę procedurę, a mediana pobranych komórek

Tabela 3. Mobilizacja komórek macierzystych krwi obwodowej po leczeniu pierwszego rzutu bortezomibem jako lekiem pojedynczym lub w połączeniu z innymi lekami

Table 3. Collection of peripheral blond stem cells following front-line therapy with bortezomib alone or in combination with other agents

Badanie/leczenie	Pacjenci						Piśmiennictwo
bortezomib	n=38	2	G-CSF (10 µg/kg)	2,5	1	4,24	Uy i wsp. (2005)
bortezomib ±deksametazon	n=23	6	G-CSF (NR)	NR	0	12,6	Jagannath i wsp [48]
bortezomib +deksametazon	n=45	4	G-CSF (NR)	2,0	6	6,7	Harousseau i wsp. (2005)
bortezomib +doksorubicyna +deksametazon (PAD)	n=21	4	CTX (1,5 g/m ²) G-CSF (263 µg/dobę)	2,0	14	3,75	Oakervee i wsp [47]
VTD	n=12	2–3	G-CSF (NR)	20,0	łatwe pozyskanie		Alexanian i wsp. (2004)
VTD-PACE	n=41		G-CSF (10 µg/kg)		–	–	
	n=5	1 (2 dawki) ^a			0	31,0 (średnia)	Cottler-Fox i wsp. (2004)
	n=3	1 (3 dawki) ^a			0	52,4 (średnia)	
	n=3	1 (4 dawki) ^a			0	45,3 (średnia)	
	n=3	2 (4 dawki+2 dawki) ^b			33,3	22,9 (średnia)	
	n=3	2 (4 dawki+3 dawki) ^b			0	44,8 (średnia)	
	n=3	2 (4 dawki+4 dawki) ^b			0	36,1 (średnia)	
	n=24	2 (4 dawki+4 dawki) ^b			25	17,5 (średnia)	

CTX – cyklofosfamid; G-CSF, czynnik wzrostu granulocytów; NR – nie relacjonowano; PACE – cisplatyna, doksorubicyna, cyklofosfamid, etopozyd; VTD – bortezomib, talidomid, deksametazon

^apojedynczy cykl VTD-PACE z liczbą dawek bortezomibu podaną w nawiasach

^bdwa cykle VTD-PACE z liczbą dawek bortezomibu na każdy cykl podaną w nawiasach

CD34+ wynosiła 6,7x10⁶/kg. Liczbę komórek pnia wystarczającą na dwa przeszczepy pozyskano u 78,5% pacjentów.

Wydajność pozyskiwania PBSCs po czterech 3-tygodniowych cyklach PAD relacjonowano w grupie 21 pacjentów [47]. U 20 spośród tych chorych mobilizowano skutecznie komórki CD34+ z zastosowaniem cyklofosfamidu i G-CSF; u 3 chorych nie osiągnięto optymalnej ilości komórek pnia, definiowanej jako uzyskanie >2x10⁶/kg komórek macierzystych. U 18 pacjentów, którzy otrzymali następową, wysoko dozowaną chemioterapię oraz wykonano przeszczep, mediana okresu czasu do regeneracji granulocytów obojętnych i płytek krwi wynosiła odpowiednio 15,5 dnia (1–24) i 13 dni (10–33).

W dwóch innych badaniach, łatwo pozyskiwano PBSCs, z zastosowaniem samego G-CSF, u chorych leczonych pierwotnie samym VTD lub dołączonym do PACE (4-dniowy ciągły wlew cisplatyny, doksorubicyny i etopozydu). W badaniu TT3, grupy pacjentów otrzymywały wzrastające dawki bortezomibu w I i II cyklu leczenia. Wszystkich 11 pacjentów, u których przeprowadzano mobilizację w I cyklu leczenia osiągnięto wartość docelową pozyskiwania ≥2x10⁶/kg komórek CD34+. Przeciwnie, spośród 24 chorych otrzymujących dwa cykle leczenia, z których każdy zawierał 4 dawki bortezomibu, u 6 (25%) nie uzyskano odpowiedniej mobilizacji. W porównaniu z obejmującym talidomid wcześniejszym badaniem (TT2), u chorych leczonych VTD-PACE w ramach TT3, stwierdzano większe ilości pozyskanych komórek CD34+ (20 vs 27x10⁶/kg).

Działania niepożądane i toksyczne

Epizody ciężkich działań ubocznych, odnotowane przy stosowaniu bortezomibu w formie pojedynczej lub w połączeniach z innymi lekami, w ramach leczenia nowo rozpoznane-

go MM, były umiarkowane i możliwe do opanowania. Obwodowa polineuropatia czuciowa 3.–4. stopnia lub ból neuropatyczny relacjonowano u ok. 16% pacjentów [47, 48]. Częstość występowania jest podobna do tej z poprzednich badań, przeprowadzonych u uprzednio intensywnie leczonych pacjentów, z zaawansowaną chorobą lekooporną lub nawrotową [35, 37]. Chociaż obserwacja ta może dziwić w związku z krótkim trwaniem schorzenia i brakiem wcześniejszej ekspozycji na leki neurotoksyczne, takie jak winkrystyna i talidomid, to nie można nie zwrócić uwagi na fakt, iż u ok. 50% nowo zdiagnozowanych pacjentów z MM stwierdza się subkliniczną polineuropatię małych włókien. Podobnie, jak to się obserwuje u pacjentów z chorobą zaawansowaną, u chorych uprzednio nieleczonych następuje z biegiem czasu poprawa w zakresie objawów neurologicznych lub ich zanikanie. W porównaniu z polineuropatią, ciężkiej małopłytkowości nie obserwowano w większości badań [47, 48], co prawdopodobnie odzwierciedla większą rezerwę szpiku kostnego u chorych uprzednio nieleczonych. Zakażenia nie związane z neutropenią obserwowano u mniej niż 10% chorych. Relacjonowano jednak występowanie epizodów półpaśca u 19% pacjentów leczonych schematem PAD [47], co sugeruje konieczność właściwej profilaktyki, przynajmniej w przypadku chorych otrzymujących bortezomib i leki cytotoksyczne.

Wnioski

W ciągu ostatniej dekady liczne spostrzeżenia dotyczące biologii szpiczaka mnogiego dostarczyły podstaw do rozwoju nowych terapii ukierunkowanych na pokonanie lekooporności. Szczególnie zrozumienie kluczowej roli mikrośrodowiska szpiku kostnego w sprzyjaniu wzrostowi przeżycia, lekooporności i migracji komórek szpiczakowych, pozwoliło na wyzna-

czenie swoistych strategii terapeutycznych ukierunkowanych na interakcje pomiędzy patologicznymi plazmocytami a komórkami zrębowymi gospodarza i wydzielanie cytokin oraz ich rolę w mikrośrodkowisku szpiku kostnego. Pierwszy lek z klasy inhibitorów proteasomów – bortezomib, jest doskonałym przykładem nowej kategorii leków, która stanowi owoc szybkiego przełożenia wiedzy laboratoryjnej na praktykę kliniczną. Nadzwyczajna aktywność, obserwowana w przypadku bortezomibu jako leku pojedynczego w zaawansowanym lekoopornym/nawrotowym MM potwierdziła, że proteasom jest skutecznym celem leczenia przeciwnowotworowego i doprowadziła do zatwierdzenia stosowania bortezomibu u chorych, u których zawiodły inne terapie. W oparciu o dane przedkliniczne i kliniczne wykazujące, że bortezomib zwiększa aktywność przeciwszpiczakową innych leków (w tym deksametazonu, leków uszkadzających DNA, talidomidu i lenalidomidu), rozpoczęto badania dotyczące terapii łączonych u chorych zarówno z lekoopornym/nawrotowym, jak i nowo rozpoznany MM. Badania te dostarczą ważnych informacji, dotyczących najlepszej kolejności i połączenia tych leków oraz, jak mamy nadzieję, ujawnią optymalne strategie terapeutyczne, które pozwolą w niedalekiej przyszłości poprawić rokowanie u chorych na MM, a być może całkowicie wyleczyć tę chorobę.

Piśmiennictwo

- Ciechanover A, Orian A, Schwartz AL. Ubiquitin-mediated proteolysis: biological regulation via destruction. *Bioessays* 2000; 22: 442-51.
- Zwickl P, Voges D, Baumeister W. The proteasome: a macromolecular assembly designed for controlled proteolysis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354: 1501-11.
- Kisselev AF, Goldberg AL. Proteasome inhibitors: from research tools to drug candidates. *Chem Biol* 2001; 8: 739-58.
- Voorhees PM, Dees EC, O'Neil B, Orlowski RZ. The proteasome as a target for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 6316-25.
- Palombella VJ, Rando OJ, Goldberg AL, Maniatis T. The ubiquitin-proteasome pathway is required for processing the NF-kappa B1 precursor protein and the activation of NF-kappa B. *Cell* 1994; 78: 773-85.
- Almond JB, Cohen GM. The proteasome: a novel target for cancer chemotherapy. *Leukemia* 2002; 16: 433-43.
- Spataro V, Norbury C, Harris AL. The ubiquitin-proteasome pathway in cancer. *Br J Cancer* 1998; 77: 448-55.
- Li B, Dou QR. Bax degradation by the ubiquitin/proteasome-dependent pathway: involvement in tumor survival and progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3850-5.
- Hideshima T, Richardson P, Chauhan D, Palombella UJ, Elliott PJ, Adams J, Anderson KC. The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells. *Cancer Res* 2001; 61: 3071-6.
- Ma MH, Yang HH, Parker K, et al. The proteasome inhibitor PS-341 markedly enhances sensitivity of multiple myeloma tumor cells to chemotherapeutic agents. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1136-44.
- Mitsiades N, Mitsiades CS, Richardson PG, et al. The proteasome inhibitor PS-341 potentiates sensitivity of multiple myeloma cells to conventional chemotherapeutic agents: therapeutic applications. *Blood* 2003; 101: 2377-80.
- Russo SM, Tepper JE, Baldwin AS Jr, Liu R, Adams J, Elliott P, Cusack H Jr. Enhancement of radiosensitivity by proteasome inhibition: implications for a role of NF-kappaB. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 50: 183-93.
- Delic J, Masdehors P, Omura S, Cosset JM, Dumont J, Binet H, Magdelenat H. The proteasome inhibitor lactacystin induces apoptosis and sensitizes chemo- and radioresistant human chronic lymphocytic leukaemia lymphocytes to TNF-alpha-initiated apoptosis. *Br J Cancer* 1998; 77: 1103-7.
- Masdehors P, Omura S, Merle-Beral H, Mentz F, Cosset JM, Dumont J, Magdelenat H, Delic J. Increased sensitivity of CLL-derived lymphocytes to apoptotic death activation by the proteasome-specific inhibitor lactacystin. *Br J Haematol* 1999; 105: 752-7.
- Orlowski RZ, Eswara JR, Lafond-Walker, Grever MR, Orlowski M, Dang CV. Tumor growth inhibition induced in a murine model of human Burkitt's lymphoma by a proteasome inhibitor. *Cancer Res* 1998; 58: 4342-8.
- Richardson PG, Hideshima T, Anderson KC. Bortezomib (PS-341): a novel, first-in-class proteasome inhibitor for the treatment of multiple myeloma and other cancers. *Cancer Control* 2003; 10: 361-9.
- Adams J, Behnke M, Chen S, et al. Potent and selective inhibitors of the proteasome: dipeptidyl boronic acids. *Bioorg Med Chem Lett* 1998; 8: 333-8.
- Adams J, Palombella VJ, Sausville EA, et al. Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents. *Cancer Res* 1999; 59: 2615-22.
- Hideshima T, Chauhan D, Richardson P, Anderson KC. Identification and validation of novel therapeutic targets for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6345-50.
- Chauhan D, Uchiyama H, Akbarali Y, Urashima M, Yamamoto K, Libermann TA, Anderson KC. Multiple myeloma cell adhesion-induced interleukin-6 expression in bone marrow stromal cells involves activation of NF-kappa B. *Blood* 1996; 87: 1104-12.
- Chauhan D, Pandey P, Hideshima T, et al. SHP2 mediates the protective effect of interleukin-6 against dexamethasone-induced apoptosis in multiple myeloma cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 27845-50.
- Dankbar B, Padro T, Leo R, et al. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in paracrine tumor-stromal cell interactions in multiple myeloma. *Blood* 2000; 95: 2630-6.
- Gupta D, Treon SP, Shima Y, et al. Adherence of multiple myeloma cells to bone marrow stromal cells upregulates vascular endothelial growth factor secretion: therapeutic applications. *Leukemia* 2001; 15: 1950-61.
- Lichtenstein A, Tu Y, Fady C, Vescio R, Berenson J. Interleukin-6 inhibits apoptosis of malignant plasma cells. *Cell Immunol* 1995; 162: 248-55.
- Hideshima T, Chauhan D, Richardson P, et al. NF-kappa B as a therapeutic target in multiple myeloma. *J Biol Chem* 2002; 277: 16639-47.
- LeBlanc R, Catley LP, Hideshima T, et al. Proteasome inhibitor PS-341 inhibits human myeloma cell growth in vivo and prolongs survival in a murine model. *Cancer Res* 2002; 62: 4996-5000.
- Anderson KC. Targeted therapy for multiple myeloma. *Semin Hematol* 2001; 38: 286-94.
- Hideshima T, Chauhan D, Schlossman R, Richardson P, Anderson KC. The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of human multiple myeloma: therapeutic applications. *Oncogene* 2001; 20: 4519-27.
- Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, et al. Molecular sequelae of proteasome inhibition in human multiple myeloma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 14374-9.
- Hideshima T, Mitsiades C, Akiyama M, et al. Molecular mechanisms mediating antimyeloma activity of proteasome inhibitor PS-341. *Blood* 2003; 101: 1530-4.
- Berenson JR, Ma HM, Vescio R. The role of nuclear factor-kappaB in the biology and treatment of multiple myeloma. *Semin Oncol* 2001; 28: 626-33.
- Feinman R, Koury J, Thames M, Barlogie B, Epstein J, Siegel DS. Role of NF-kappaB in the rescue of multiple myeloma cells from glucocorticoid-induced apoptosis by bcl-2. *Blood* 1999; 93: 3044-52.
- Pham LV, Tamayo AT, Yoshimura LC, Lo P, Ford RJ. Inhibition of constitutive NF-kappa B activation in mantle cell lymphoma B cells leads to induction of cell cycle arrest and apoptosis. *J Immunol* 2003; 171: 88-95.
- Orlowski RZ, Stinchcombe TE, Mitchell BS, et al. Phase I trial of the proteasome inhibitor PS-341 in patients with refractory hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4420-7.
- Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N Engl J Med* 2003; 348: 2609-2617.
- Jagannath S, Barlogie B, Berenson J, et al. A phase 2 study of two doses of bortezomib in relapsed or refractory myeloma. *Br J Haematol* 2004; 127: 165-72.

37. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 2005; 352: 2487-98.
38. Blade J, Samson D, Reece D, et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. *Br J Haematol* 1998; 102: 1115-23.
39. Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, et al. Clinical factors predictive of outcome with bortezomib in patients with relapsed, refractory multiple myeloma. *Blood* 2005; 106: 2977-81.
40. Berenson JR, Jagannath S, Barlogie B, et al. Safety of prolonged therapy with bortezomib in relapsed or refractory multiple myeloma. *Cancer* 2005; 104: 2141-8.
41. Jagannath S, Barlogie B, Berenson JR, et al. Bortezomib in recurrent and/or refractory multiple myeloma. Initial clinical experience in patients with impaired renal function. *Cancer* 2005; 103: 1195-200.
42. Lonial S, Waller EK, Richardson PG, et al. Risk factors and kinetics of thrombocytopenia associated with bortezomib for relapsed, refractory multiple myeloma. *Blood* 2005; 106: 3777-84.
43. Berenson JR, Yang HH, Sadler K, et al. Phase I/II trial assessing bortezomib and melphalan combination therapy for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2006; 6: 937-44.
44. Orlowski RZ, Voorhees PM, Garcia RA, et al. Phase 1 trial of the proteasome inhibitor bortezomib and pegylated liposomal doxorubicin in patients with advanced hematologic malignancies. *Blood* 2005; 105: 3058-65.
45. Small GW, Somasundaram S, Moore DT, Shi YY, Orlowski RZ. Repression of mitogen-activated protein kinase (MAPK) phosphatase-1 by anthracyclines contributes to their antiapoptotic activation of p44/42-MAPK. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307: 861-9.
46. Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, et al. Apoptotic signaling induced by immunomodulatory thalidomide analogs in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Blood* 2002; 99: 4525-30.
47. Oakervee HE, Popat R, Curry N, et al. PAD combination therapy (PS-341/bortezomib, doxorubicin and dexamethasone) for previously untreated patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* 2005; 129: 755-62.
48. Jagannath S, Durie BG, Wolf J, et al. Bortezomib therapy alone and in combination with dexamethasone for previously untreated symptomatic multiple myeloma. *Br J Haematol* 2005; 129: 776-83.
49. Cavo M, Zamagni E, Tosi P, et al. Superiority of thalidomide and dexamethasone over vincristine-doxorubicin-dexamethasone (VAD) as primary therapy in preparation for autologous transplantation for multiple myeloma. *Blood* 2005; 106: 35-9.
50. Rajkumar SV, Blood E, Vesole D, Fonesca R, Greipp PR, Eastern Cooperative Oncology Group. Phase III clinical trial of thalidomide plus dexamethasone compared with dexamethasone alone in newly diagnosed multiple myeloma: a clinical trial coordinated by the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2006; 24: 431-6.
51. Rajkumar SV, Hayman SR, Lacy MQ, et al. Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma. *Blood* 2005; 106: 4050-3.

Adres do korespondencji

dr med. Artur Jarczyszyn
Klinika Hematologii
Collegium Medicum UJ
ul. Kopernika 17
31-501 Kraków
tel./faks +48 12 424 74 26
e-mail: mmjarczy@cyf-kr.edu.pl