

Słowa kluczowe: rak jelita grubego, nowotworowe komórki macierzyste, analogi witaminy D, Imatinib, Sunitynib

Konwencjonalna chemioterapia preferencyjnie eliminuje zróżnicowane komórki nowotworowe, ale oszczędza komórki nowotworowe o fenotypie macierzystym (ang. *cancer stem cells*: CSC) inicjujące wznowę nowotworu. Plastyczność komórek nowotworowych sprawia, że fenotyp CSC może również zostać nabyty przez komórki nowotworowe przetrwałe po konwencjonalnej chemioterapii. Dlatego potrzebne jest opracowanie nowych strategii terapeutycznych skierowanych nie tylko przeciwko szybko dzielącym się, zróżnicowanym komórkom nowotworowym, ale też przeciwko komórkom nowotworowym o cechach komórek macierzystych aby przeciwdziałać wznowie nowotworu. Celem badań była ocena przydatności inhibitorów receptorowych kinaz tyrozynowych; imatinibu i sunitinibu oraz hipokalcemicznych analogów $1\alpha,25$ -dihydroksywitaminy D_2 ($1,25D_2$) i $1\alpha,25$ -dihydroksywitaminy D_3 ($1,25D_3$) do wyciszenia lub eliminacji komórek raka jelita grubego przetrwałych po leczeniu konwencjonalnym lekiem cytotoksycznym i zdolnych do inicjowania wznowy nowotworu. Na modelu mysim opracowano schemat dwustopniowej terapii z sekwencyjnym zastosowaniem doksorubicyny (DOX) w celu selekcji mysich komórek raka jelita grubego linii CT-26 opornych na DOX, które następnie hodowano z imatinibem. Imatinib silnie hamował proliferację i klonogenność komórek CT-26 preselekcjonowanych DOX (CT-26/DOX) w normoksji i w hipoksji *in vitro*. Na modelu *in vitro/in vivo* przeszczepialnego raka jelita grubego z użyciem linii CT-26 syngenicznej dla myszy szczepu BALB/c wykazano, że imatinib nie przeciwdziałał formowaniu guzów przez podskórnie wszczepione chemionaiwne komórki CT-26, ale opóźniał powstawanie i wzrost guzów u 50% myszy oraz zapobiegał powstawaniu guzów u pozostałych 50% myszy, którym wszczepiono komórki CT-26/DOX. Strategię sekwencyjnego stosowania konwencjonalnego leku cytotoksycznego i leków skierowanych przeciwko komórkom inicjującym wznowę nowotworu weryfikowano następnie w badaniach *in vitro* ludzkich komórek raka jelita grubego. Komórki umiarkowanie zróżnicowanej linii HT-29 oraz słabo zróżnicowanej linii HCT-116 ekspozowano na 5-fluorouracyl (5-FU), a następnie komórki przetrwałe po ekspozycji na 5-FU (HT-29/5-FU i HCT-116/5-FU) hodowano w obecności imatinibu albo sunitinibu lub w obecności analogów witamin D. Imatinib i sunitinib, jak też wszystkie spośród badanych analogów $1,25D_2$ oraz $1,25D_3$, hamowały proliferację i zmniejszały klonogenność komórek nowotworowych przetrwałych po preselekcji 5-FU, ale w różny sposób regulowały ekspresję genów w tych komórkach. Ekspresja wielu genów związanych z macierzystością wzrastała w komórkach

nowotworowych preselekcjonowanych 5-FU. Imatinib obniżał ekspresję genów związanych z macierzystością w komórkach HT-29/5-FU i HCT-116/5-FU w trakcie ich odnowy. Sunitinib obniżał ekspresję tej grupy genów w komórkach HCT-116/5-FU, ale podwyższał ich ekspresję w komórkach HT-29/5-FU. Dlatego imatinib, w przeciwieństwie do sunitinibu, mógłby zostać użyty do przeciwdziałania wzrostowi nowotworu po konwencjonalnej chemioterapii i do obniżenia ekspresji genów macierzystości w komórkach przetrwałych po leczeniu cytoredukcyjnym. Zmiana fenotypu komórek przetrwałych po leczeniu cytoredukcyjnym przez sunitinib uwydatniająca w nich cechy macierzystości może powodować zwiększenie się ryzyka nawrotu nowotworu. 1,25D2, jej analogi PRI-1907 i PRI-1917, a także 1,25D3 i jej analog PRI-2191, obniżały ekspresję genów związanych z utrzymaniem macierzystości w komórkach raka jelita grubego przetrwałych po ekspozycji na 5-FU. Inne analogi 1,25D2, PRI-1906 oraz PRI-1916 zwiększały lub nie obniżały ekspresji tej grupy genów w takim stopniu jak analogi PRI-1907 i PRI-1917. PRI-2205, analog 1,25D3, powodował jedynie zwiększenie ekspresji genów związanych z różnicowaniem. PRI-2191 pogłębiał wywołane przez imatinib obniżanie się poziomu ekspresji genów związanych z macierzystością i proliferacją w trakcie odnowy komórek linii HCT-116/5-FU, zaś PRI-1906 przeciwdziałał regulacji ekspresji tych genów przez imatinib. Spośród zbadanych analogów witamin D rozgałęzione w łańcuchu bocznym analogii 1,25D2 (PRI-1907 i PRI-1917) i analog 1,25D3 (PRI-2191) mogłyby być zastosowane do wywoływania obniżenia ekspresji genów związanych z macierzystością w komórkach przetrwałych po konwencjonalnej chemioterapii cytotoksycznej i hamowania proliferacji tych komórek. Łączenie imatinibu z PRI-2191 mogłoby skuteczniej zapobiegać wznowie nowotworu po konwencjonalnej chemioterapii niż sam imatinib i jednocześnie kompensować niedobór aktywnej formy witaminy D wywoływany przez imatinib.