

Modulación de las cinasas dependientes de ciclinas como nueva estrategia terapéutica

Cyclin dependent kinase modulation as a new therapeutic approach

U. Lertxundi, B. Corcóstegui, J. Peral, O. Ibarra, MJ. Martinez.

Servicio de Farmacia. Hospital de Galdakao. Galdakao. Bizkaia. España UE.

RESUMEN

Muchas neoplasias humanas tienen su origen en una hiperactividad de las cinasas dependientes de ciclinas (CDKs), lo que conduce a un desajuste del ciclo celular. Por lo tanto, el desarrollo de inhibidores específicos de dichas proteínas es una estrategia muy atractiva en la prevención y tratamiento del cáncer. El flavopiridol y el UCN-01 son los primeros moduladores de las CDKs que se han introducido en ensayos clínicos. Los resultados obtenidos hasta el momento no han sido del todo satisfactorios, pero es posible que la combinación con agentes antineoplásicos clásicos y el desarrollo de agentes más selectivos les permita demostrar todo el potencial que se le supone a este nuevo grupo terapéutico. Palabras claves: ciclina, cinasa, terapia, cáncer.

ABSTRACT

Hyperactivation of the key regulators of the cell cycle, the cyclin dependent kinases (CDKs), occurs in many human neoplasms. Therefore, modulation of these proteins may have an important use for cancer therapy and prevention. Flavopiridol and UCN-01 are the first compounds to enter clinical trials. Although results haven't been as good as expected so far, combination with classic chemotherapeutic agents and the development of more selective agents will probably produce better results. Key words: cyclin, kinase, therapy, cancer.

LABURPENA

Giza neoplasia ugarrak ziklinen (CDK-k) mende diren zinasen hiperaktibitatean dute jatorria, eta horrek ondorio gisa ziklo zelularren desdortzea dakar. Beraz, proteina horien inhibitzaile berriak garapena oso estrategia erakargarria da minbiziaren prebentzioa eta tratamendua egiteko. Flabopiridola eta UCN-01a entsegu klinikoetan sartu diren CDK-en lehen modulatuzaileak dira. Orain arte lortu diren emaitzak ez dira erabat egokiak izan, baina litekeena da eragile antineoplásikoekin konbinatuz gero eta eragile selektiboagoak garatuz gero, talde terapeutiko berri horretatik espero den potentzial guztia frogatzen lagunduko diela.

INTRODUCCIÓN

En el año 2001, Hartwell L.H., Hunt R.T. y Nurse P.M. recibieron el premio Nobel de Medicina/Fisiología. Habían descubierto los reguladores clave del ciclo celular: las "cinasas dependientes de ciclinas" (CDKs). En los últimos años se ha puesto de manifiesto que la causa de muchas neoplasias humanas radica precisamente en una alteración en la función de las CDKs. La aparición de fármacos que modulasen este sistema era cuestión de tiempo.

El ciclo celular consta de 4 fases, denominadas G1, S, G2, y M. A lo largo de la fase G1, la célula sintetiza las proteínas necesarias para poder duplicar su ADN, lo que sucede en la fase S, mientras que durante la fase G2 se producen las proteínas que posteriormente harán posible la mitosis.

Existen varios puntos de control o "checkpoints" para garantizar que este proceso ocurre con la máxima precisión posible. El primero ocurre al final de la fase G1, donde la célula decide entrar en la fase latente Go o progresar hacia la fase S. El otro punto de control que tiene lugar al final de la fase G2 permite a la célula reparar el daño producido en el ADN antes de entrar en la mitosis (1).

En estos puntos de control es donde actúan las CDKs. Estas serina/treonina cinasas fosforilan, entre otras, la proteína producto del gen del retinoblastoma (pRb). Esta fosforilación, que inactiva la proteína derivada del citado gen supresor de tumores, hace que se liberen factores de transcripción (E2F) que facilitarán la transcrip-

Correspondencia: Unax Lertxundi
Servicio de Farmacia.
Hospital de Galdakao.
Bº Labeaga s/n
48960 Galdakao, Bizkaia. España UE.
Teléfono 944 007 000
Correo electrónico
Enviado 5-04-2004
Aceptado 17-12-2004

ción de los genes necesarios para que la célula duplique su material genético (2). En ausencia de CDKs activas, la pRb se encarga de frenar la proliferación celular.

Hasta ahora se han descubierto al menos 9 CDKs (1-9) y 15 ciclinas (A-T). Cada CDK se une de forma no covalente a su correspondiente ciclina para formar complejos 1:1 (tabla 1). Una misma CDK puede interactuar con varias ciclinas y una misma ciclina con varias CDKs (3).

TABLA1.

Interacción de las CDKs con sus respectivas ciclinas.

CDK1	Ciclina A, Ciclinas B1-3
CDK2	Ciclina A, Ciclina E
CDK3	Desconocido
CDK4	Ciclinas D1-3
CDK5	Ciclinas D1-3, p35
CDK6	Ciclinas D1-3
CDK7	Ciclina H
CDK8	Ciclina C
CDK9	Ciclina K, Ciclina T

La CDK4 y la CDK6, junto con las diferentes ciclinas D, hacen que la célula progrese desde la fase G1 a la fase S y duplique su ADN. Por otro lado, la CDK1 junto con las ciclinas A y B hace que la célula pase de la fase G2 a la fase M (**Figura 1**). Finalmente, el complejo CDK2-ciclina A regula el transcurso de la fase S.

La expresión de las diferentes ciclinas varía a lo largo del ciclo celular, mientras que la cantidad de las CDKs se mantiene más o menos constante.

A su vez, la actividad de las CDKs está estrechamente regulada por procesos de fosforilación y desfosforilación. Además, necesitan de las ciclinas para ser activas. Asimismo, el com-

plejo CDK7-ciclina H (CDK activadora de CDKs) activa al resto de las CDKs mediante una fosforilación que ocurre en el residuo de treonina de la posición 160/161. Esta fosforilación multiplica la actividad de la CDK por cien.

Las CDKs también están reguladas negativamente por al menos dos familias de inhibidores endógenos (4):

La familia de las INK4a: p16^{INK4a}, p15^{INK4b}, p18^{INK4c} y p19^{INK4d}, que inhiben específicamente a la CDK4 y la CDK6. Estas proteínas se unen a la CDK antes de que éstas se unan a la ciclina. De todas ellas la p16 parece ser la de mayor relevancia.

·La familia de las Cip/Kip : p21^{cip1}, p27^{kip1} y p57^{kip}. Estas son menos específicas que las anteriores e inhiben prácticamente a todas las CDKs, una vez que éstas se han unido a su correspondiente ciclina.

La denominada “vía del Rb” (ciclina D1/CDK4/ p16^{INK4a} /Rb) está frecuentemente alterada en neoplasias humanas. Aunque raras veces es el propio gen Rb el que está alterado, la mayoría de los tumores presentan una disminución de la actividad de la pRb, debido a una hiperactivación de las CDKs. Esto puede ser debido a un aumento de la subunidad catalítica (cinasa), del cofactor (ciclina), o a una pérdida de actividad de los inhibidores endógenos.

Por lo tanto, la modulación mediante fármacos de la actividad de las diferentes CDKs constituye una estrategia muy atractiva en la lucha contra el cáncer. En este sentido, el flavopiridol y el UCN-01 son los primeros compuestos que se han estudiado en humanos.

FLAVOPIRIDOL

El flavopiridol (L86-8275, HMR 1275 ó NSC 649890) es un flavonoide derivado semisintético de la rohitukina que se extrae de la corteza de la planta india *Dysoxylum binectariferum*, de la familia *Meliaceae* (**Figura 2**).

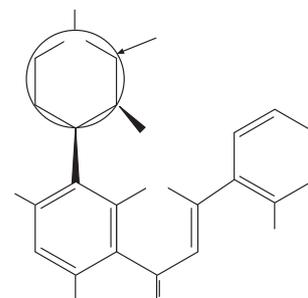


Figura 2. Estructura química del flavopiridol

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción del flavopiridol es complejo (5). A altas concentraciones (del rango mM) este flavonoide es un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y de la proteína cinasa A. Por el contrario, a concentraciones más bajas (rango nM) es un inhibidor de la proliferación celular.

Inhibición de las CDKs

El flavopiridol inhibe a todas las CDKs en general y por eso se le conoce como un “pan-inhibidor” de las mismas. Esta inhibición la produce de dos formas diferentes. Por una parte, compite con el ATP por el lugar de unión de éste al enzima (el ATP es el sustrato que usan las CDKs para fosforilar otras proteínas). A las sustancias que inhiben a las CDKs de esta forma se las conoce como inhibidores directos. Por otra parte, también las inhibe al inhibir a la CDK7 (cinasa activadora de las CDKs), de forma no competitiva con el ATP.

Una de las CDKs inhibida por el flavopiridol es la CDK5, que se expresa pre-

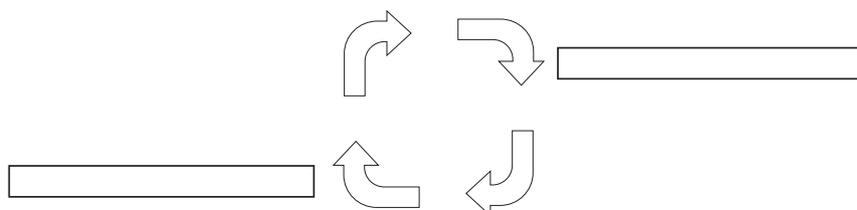


Figura 1. Ciclo celular (se destacan con un asterisco los principales puntos de control).

ferentemente en neuronas. La actividad de la CDK5 se encuentra aumentada en la enfermedad de Alzheimer, por lo que su inhibición por el flavopiridol podría tener cierto interés clínico (6).

Igualmente, el flavopiridol inhibe al complejo CDK9-ciclinaT (también llamado “factor positivo de elongación de la transcripción”), de forma no competitiva con el ATP. Como resultado de esta inhibición, se impide la transcripción de la ARN polimerasa II (entre otras proteínas).

Depleción de ciclina D1

El flavopiridol inhibe la transcripción del oncogen ciclina D1, mediante una disminución de la producción del ARNm. Esta inhibición parece estar relacionada con la inhibición del complejo CDK9-ciclina T descrita en el anterior apartado.

Inhibición de la transcripción

El flavopiridol, al inhibir el complejo CDK9-ciclina T, inhibe la transcripción de numerosas proteínas, entre las que se encuentran algunas proteínas necesarias para la transcripción del genoma del VIH, con lo que se inhibe su replicación (7).

Inhibición de la angiogénesis

En un estudio realizado en monocitos (8) se demostró que el flavopiridol inhibe el aumento de la expresión del factor de crecimiento vascular endotelial (VGEF) inducido por la hipoxia. No está claro que este efecto esté relacionado con la inhibición de las CDKs.

Inducción de la apoptosis

El flavopiridol induce apoptosis en numerosas líneas celulares. El mecanismo mediante el cual induce la apoptosis no está claro y no se sabe si está mediado por la inhibición de las CDKs (9).

Inducción de la diferenciación celular

También se ha observado que el flavopiridol estimula la diferenciación de ciertas líneas celulares de cáncer de pulmón. Una vez más no se sabe si esto es debido a la inhibición de las CDKs (10).

Farmacocinética

El flavopiridol se une a proteínas plasmáticas en un 94% y se distribuye ampliamente en el organismo, con un volumen de distribución (Vd) que oscila entre 24 y 162 L/m². Se elimina por metabolismo hepático mediante reacciones de glucuronidación (**Figura 3**), en las que participan diferentes isoformas de la UDP- glucuronil-transferasa (UGT) (11, 12). Tanto el flavopiridol como sus principales metabolitos 7-O-b-glucopiranosil-flavopiridol (98,5%) y 5-O-b-glucopiranosil-flavopiridol (1,5%), son posteriormente eliminados por vía biliar. Su aclaramiento plasmático es de 11-16 L/h/ m².

Ensayos clínicos

El flavopiridol es el primer inhibidor de las CDKs que se ha introducido en ensayos clínicos (13). En el primer ensayo llevado a cabo en el Instituto Nacional del Cáncer de los EE.UU (NCI) se obtuvieron unos resultados esperanzadores, lo que ha impulsado a que se inicien numerosos estudios probando diferentes esquemas de dosificación y diferentes combinaciones con otros fármacos antineoplásicos.

MONOTERAPIA

Se han ensayado diferentes regímenes de dosificación en distintas patologías intentado lograr el balance beneficio/riesgo más favorable (**Tabla 2**).

Infusiones de 72 horas

En el primer ensayo realizado en el NCI, 76 pacientes con diferentes neoplasias en estadio avanzado recibieron una infusión de 72 horas de flavopiri-

Figura 3. Principales rutas metabólicas del flavopiridol.

dol cada 2 semanas (14). Este esquema de dosificación se escogió en base al efecto citostático que se había observado en la fase preclínica. El objetivo era frenar la progresión del tumor más que provocar una regresión del mismo. En este sentido, se logró una respuesta completa en un paciente con carcinoma renal metastásico y tres respuestas menores en pacientes con linfoma no hodgkin, cáncer colorectal y carcinoma renal.

En este estudio la dosis máxima tolerada (DMT) fue de 50mg/m²/día, siendo la diarrea secretora la toxicidad limitante de dosis (TLD). Esta diarrea la produce el fármaco libre que actúa directamente en la luz intestinal provocando una modificación en la secreción de iones cloruro (15). Este hecho limita la posibilidad de administración oral del compuesto. La dosis se pudo incrementar hasta 78 mg/m²/día usando profilaxis anti-diarréica con resinolectiramina y loperamida. El flavopiridol es el único flavonoide conocido que presenta diarrea secretora como TLD. Este hecho podría estar relacionado con el anillo de piperidina que presenta en su molécula (**Figura 2**). Este anillo está también presente en el irinotecan, otro fármaco que produce diarrea severa. La administración del antibiótico aminoglucósido neomicina a pacientes que reciben irinotecan, elimina de la flora intestinal las bacterias responsables de la actividad b-glucuronidasa, evitando así que la pared intestinal quede expuesta al fármaco libre, responsable de la diarrea (18). Este mismo razonamiento podría aplicarse en el caso del flavopiridol.

Con el aumento de dosis a 78 mg/m²/día, la TLD fue la hipotensión y un síndrome proinflamatorio (fiebre, fatiga, anorexia, modificación de reactantes de fase aguda), que parece estar relacionado con el nivel de interleucina 6 (16).

En un artículo publicado recientemente (17) se analizaron los datos obtenidos en el anterior ensayo clínico (14), y no lograron encontrar ninguna

relación entre la dosis o la concentración y la toxicidad. Los picos post-infusión observados se asociaron a la existencia de circulación enterohepática. Por otro lado, se detectó una no linealidad en el aclaramiento plasmático al subir la dosis por encima de 50 mg/m²/día, pero esto podría ser debido a que estos pacientes recibieron resinolectiramina como profilaxis anti-diarréica, lo que hace que el flavopiridol se elimine en heces.

En otro estudio fase I (19) en el que se reclutaron 37 pacientes con diferentes neoplasias en estadio avanzado la DMT se estableció en 40 mg/m²/día cada 2 semanas. Lo más reseñable fue que un paciente con carcinoma gástrico con metástasis hepáticas obtuvo una respuesta completa que duró más de dos años. Además de la diarrea los pacientes presentaron fatiga y trombosis vascular.

En base a estos resultados, se decidió emprender un ensayo fase II (20) en 14 pacientes con diagnóstico de carcinoma gástrico metastásico. Solo uno de ellos obtuvo una respuesta menor en las metástasis hepáticas, mientras el tumor primario progresaba. Se concluyó que el flavopiridol es inefectivo en el tratamiento del carcinoma gástrico metastásico, al menos en monoterapia.

El flavopiridol ha sido ensayado también en el tratamiento del carcinoma renal metastásico. En un estudio fase II (21) que incluía 35 pacientes, tan sólo se consiguieron dos respuestas parciales. Además, concluyeron que el riesgo de sufrir diarrea está inversamente relacionado con el grado de glucuronidación del flavopiridol. Posteriormente se han identificado polimorfismos genéticos en esta metabolización, de forma que los pacientes que presentan una baja glucuronidación del fármaco presentan un mayor riesgo de sufrir diarrea secretora (18).

A diferencia de lo ocurrido en los estudios realizados en fase I, en varios estudios en fase II (20 - 22) se

observó que la incidencia de trombosis vascular era notablemente superior. Los mecanismos fisiopatológicos subyacentes están aún en estudio.

Por otro lado, en un estudio fase II realizado en 20 pacientes con cáncer de pulmón no microcítico (22), no se logró ninguna respuesta objetiva aunque 6 pacientes lograron estabilizar su enfermedad (> 3 meses) con una supervivencia global de 7 meses.

Parecidos resultados se obtuvieron en un estudio fase II realizado en 20 pacientes con carcinoma colorectal (23), en el que no se logró ninguna respuesta objetiva, pese a que se consiguió estabilizar la enfermedad en 5 pacientes. Concluyeron que el flavopiridol en monoterapia no es eficaz para el tratamiento del carcinoma colorectal.

Los mejores resultados obtenidos por el flavopiridol en monoterapia se han logrado en un estudio fase II con 33 pacientes diagnosticados de linfoma del manto que fueron tratados con flavopiridol (24). En este caso, 20 de los 33 pacientes tratados lograron estabilizar su enfermedad (3,3 meses de media) y 3 pacientes obtuvieron una respuesta parcial.

Infusiones de 1 hora

Como se deduce de los resultados expuestos con anterioridad, el régimen de 72 horas ha resultado ser relativamente ineficaz. Por lo tanto, y con el objetivo de lograr concentraciones plasmáticas más elevadas se han llevado a cabo diversos ensayos infundiendo una nueva dosis de flavopiridol en tan sólo 1 hora.

De esta forma, se realizó un estudio fase I en el que 56 pacientes con diversas neoplasias recibieron una infusión de flavopiridol de 1 hora durante 5 días consecutivos, cada 3 semanas (25). La DMT fue de 37,5 mg/m²/día y las TLD fueron neutropenia, fatiga y diarrea. Las concentraciones obtenidas mediante este

Tabla 2.
Resumen de los resultados obtenidos en los ensayos clínicos del flavopiridol en monoterapia.

REFERENCIA	PATOLOGÍA	NºPAC	FASE	DMT (mg/m ² /día)	Régimen	Css/Cmax (mM)	EFICACIA	TOXICIDAD
Senderowicz et al 1998 (14)	Neoplasias en estadio avanzado	76	I	50	Infusión de 72h, cada 2 semanas	0,271	1 RC (renal) 3 RM (LNH, colon, renal)	Diarrea
Thomas et al 1998 (19)	Neoplasias en estadio avanzado	37	I	40	Infusión de 72h, cada 2 semanas	0,3-0,5	1 RC (gástrico)	Diarrea
Zhai et al 2000 (25)	Neoplasias refractarias	56	I	37,5	Infusión de 1h durante 5 días consecutivos, cada 3 semanas	1,7	No respuestas objetivas. 11 pacientes enfermedad estable	Neutropenia fatiga, diarrea
Senderowicz et al 2000 (26)	Neoplasias en estadio avanzado	12	I	62,5	Infusión de 1 h 1 día, cada 3 semanas	3,9	No respuestas objetivas. 3 pacientes enfermedad estable	Neutropenia, diarrea, fatiga, hepatotoxicidad
				50	Infusión de 1h 3 días, cada 3 semanas	3,2		
Tan et al 2002 (27)	Neoplasias en estadio avanzado	55	I	62,5	Infusión de 1 h 1 día, cada 3 semanas	3,9	12 pacientes enfermedad estable >3 meses (media de 6 meses). síndrome proinflamatorio	Neutropenia, náuseas, vómitos,
				50	Infusión de 1h 3 días, cada 3 semanas	3,2		
				37,5	Infusión de 1h durante 5 días consecutivos, cada 3 semanas	1,7		
Schwartz et al 2001 (20)	Carcinoma gástrico avanzado	14	II	50	Infusión de 72h, cada 2 semanas	0,38	1 RM	Fatiga, diarrea trombosis
Stadler et al 2000 (21)	Carcinoma renal metastásico	35	II	50	Infusión de 72h, cada 2 semanas	0,3-0,6	2 RP	Fatiga, diarrea trombosis
Shapiro et al 2001 (22)	Cáncer de pulmón no microcítico en estadio IV previamente no tratado	20	II	50	Infusión de 72h, cada 2 semanas	0,2	6 pacientes enfermedad estable	Fatiga, diarrea trombosis
Akliu et al 2003 (23)	Carcinoma colorectal avanzado previamente no tratado	20	II -	50	Infusión de 72h, cada 2 semanas		5 pacientes enfermedad estable durante 7 semanas. Sin respuestas objetivas	Diarrea, fatiga, hiperglucemia
Kourokis et al 2003 (24)	Linfoma del manto en recaída o previamente no tratado	33	II -	50	Infusión de 72h, cada 2 semanas		3 RP 20 pacientes enfermedad estable	Diarrea, fatiga, náuseas y vómitos

RC: Respuesta completa. RP: Respuesta parcial. RM: Respuesta menor. Css: Concentración en equilibrio estacionario (infusiones de 72 h). Cmax: Concentración máxima (infusiones de 1h). DMT: Dosis máxima tolerada. LNH: Linfoma no hodgkin150

régimen de dosificación fueron de alrededor de 1,7mM (5 veces mayores que con el régimen de 72 horas). No se lograron respuestas objetivas.

Para conseguir concentraciones aún más altas, se infundieron 50 mg/m²/día durante 3 días consecutivos cada 3 semanas y 62,5 mg/m²/día durante 1 día cada tres semanas (26). Las concentraciones obtenidas de este modo rondaron los 4mM. La toxicidad observada fue: neu-

tropenia y diarrea principalmente. Aunque no se lograron respuestas objetivas, este esquema logró estabilizar la enfermedad en 3 de los 12 paciente: un paciente con linfoma de células del manto, otro con cáncer de pulmón no microcítico y otro con melanoma.

Finalmente se ha realizado un ensayo fase I en el que diferentes dosis de flavopiridol se han administrado a 55 pacientes con distintas neoplasias en estadio avanzado (27), en el que se

logró estabilizar la enfermedad en 12 de ellos (**Tabla 2**).

Cabe resaltar que al lograr concentraciones plasmáticas más altas que con el régimen de 72 horas la neutropenia pasa a ser la TLD del flavopiridol.

Aún se están llevando a cabo algunos ensayos clínicos del flavopiridol en monoterapia en el NCI (**Tabla 3**).

TABLA 3.
Ensayos clínicos en realización actualmente (28).

FASE	PATOLOGÍA
I	Linfoma del manto, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de mama invasivo
I	Leucemia linfocítica crónica de células B o linfoma linfocítico de células pequeñas (previamente no tratadas)
I	Sarcoma de Kaposi en pacientes VIH+
II	Cáncer de células escamosas de cabeza y cuello
II	Mieloma múltiple refractario o en recaída

COMBINACIÓN CON ANTINEOPLÁSICOS CONVENCIONALES

En los ensayos clínicos en monoterapia el flavopiridol no ha conseguido desarrollar todo el potencial que se le supuso en un principio. Debido a su novedoso mecanismo de acción, combinarlo con agentes citostáticos convencionales parecía lógico. Estos esquemas se basan en los estudios preclínicos en los que se observó un máximo beneficio cuando el agente citotóxico se administra previamente al flavopiridol (29,30).

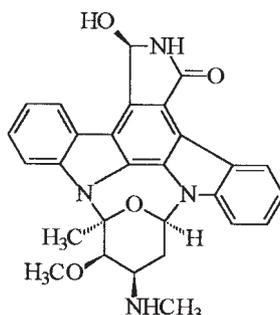
Este es el caso del paclitaxel, ya que cuando este se administra antes que el flavopiridol, el beneficio es máximo. Por esta razón se llevó a cabo un estudio en fase I con 48 pacientes que presentaban diferentes tumores sólidos en estadios avanzados. Se consiguió una respuesta completa, una respuesta parcial y una respuesta menor en pacientes con cáncer esofágico. Además un paciente con adenocarcinoma pulmonar obtuvo una respuesta menor. Asimismo, se logró estabilizar la enfermedad en varios pacientes con patologías diversas. La

TLD observada fue la neutropenia y toxicidad pulmonar (31).

Otros muchos ensayos estudiando diferentes combinaciones de fármacos en diferentes patologías están en marcha (Tabla 4) (28).

UCN-01

El UCN-01 (7-hidroxiestausporina, NSC6388850) es un derivado de la stauporina, un antibiótico que se obtiene de la bacteria *Streptomyces stauporeus* (Figura 4).

**Figura 4.** Estructura química del UCN-01**TABLA 4.**
Ensayos clínicos con el flavopiridol en combinación con otros agentes convencionales que se están llevando a cabo actualmente en el NCI (28)

FASE	FÁRMACOS	DESCRIPCIÓN
I	Flavopiridol + docetaxel	Tumores sólidos avanzados
I	Flavopiridol + imatinib mesilato	Leucemia mieloide crónica Bcr/Abl+
I	Flavopiridol + radioterapia tras gemcitabina	Cáncer pancreático localmente avanzado
I	Flavopiridol+ rituximab + fludarabina	Desórdenes linfoproliferativos de células B o linfoma de células del manto
I	Flavopiridol + fluorouracilo + leucovorín cálcico (con o sin Irinotecan)	Neoplasias malignas avanzadas
I	Flavopiridol + irinotecan + cisplatino	Tumores sólidos avanzados
I	Flavopiridol + fluorouracilo + leucovorín cálcico + irinotecan	Tumores sólidos localmente avanzados o metastásicos
I	Flavopiridol + gemcitabina	Tumores sólidos
I	Flavopiridol + trastuzumab	Cáncer de mama metastásico con HER2+
I/II	Flavopiridol + citarabina+ mitoxantrone	Neoplasias hematológicas de bajo riesgo

Mecanismo de acción

Al igual que ocurre con el flavopiridol el mecanismo de acción del UCN-01 es también bastante complejo y no se conoce en su totalidad.

Inhibición de Proteína cinasa C (PKC)

En un principio, tanto la stauporina como su derivado el UCN-01 eran conocidos por ser inhibidores de las PKC. Concretamente, el UCN-01 inhibe a las PKC calcio dependientes a unas concentraciones menores (30 nM), que las que necesita para inhibir a las PKC calcio independientes (600 nM) (32).

Modulación de las CDKs

Independientemente de la inhibición de las diferentes formas de las PKC arriba expuesta, se ha descubierto que el UCN-01 posee un efecto antiproliferativo que se explica en parte debido a su interacción con las CDKs (33). En este sentido, inhibe algunas CDKs y paradójicamente activa otras, conduciendo a reclutamiento celular o apoptosis según el caso. A concentra-

ciones del rango nM produce un reclutamiento celular en la fase G1. El mecanismo mediante el cual provoca este efecto se encuentra aún en estudio pero parece que la inducción de diversos inhibidores endógenos de las CDKs como el p21waf1 y el p27kip1 está implicada. A concentraciones más altas el UCN-01 inhibe directamente a las CDK1 y CDK2.

Cuando el ADN está dañado, como por ejemplo ocurre tras la administración de agentes alquilantes, se activa el punto de control al final de la fase G2, para permitir a la célula reparar su material genético antes de entrar en la mitosis. De esta forma las células tumorales evitan la apoptosis. El UCN-01 provoca que la célula se “salte” este punto de control entrando en la mitosis con el ADN dañado, lo que provoca su muerte (por debajo de este proceso subyace un complejo mecanismo de acción (32), en el que están implicados numerosos mediadores, como el Cdc25C, la fosfatasa activadora de la CDK1, etc).

El hecho de que el UCN-01 permita a la célula entrar en la mitosis con el ADN dañado hace que la idea de combinar el UCN-01 con fármacos que dañan el material genético celular sea sumamente interesante.

Ensayos clínicos

El primer ensayo clínico llevado a cabo con el UCN-01 se publicó en el año 2001 (34). El UCN-01 se administró en infusiones de 72 horas cada 2 semanas a 47 pacientes con diversas neoplasias refractarias. Curiosamente, en los 9 primeros pacientes a los que se administró el fármaco la semivida biológica ($t_{1/2}$) resultó ser del orden de 100 veces superior a la esperada. Las concentraciones obtenidas eran de aproximadamente 4-7 mM (concentraciones superiores a 1mM habían resultado mortales en experimentación animal). Este fenómeno ha sido posteriormente explicado por la gran afinidad del UCN-01 por la α -glicoproteína ácida humana (35,36), lo que conlleva una mayor permanencia del fármaco en el organismo.

Debido a las enormes diferencias que se observaron en el valor de la $t_{1/2}$, el régimen de administración tuvo que ser revisado y modificado para adecuarlo a las características farmacocinéticas del fármaco en humanos, por lo que el período entre ciclo y ciclo se amplió de 2 a 4 semanas.

La TLD fue: náuseas/vómitos, hiperglucemia sintomática (al parecer debido a resistencia a la insulina) y toxicidad pulmonar. La $t_{1/2}$ fue de 588h de media y las concentraciones oscilaron en el rango de 30-40 mM. Por el contrario, tanto las concentraciones del fármaco libre obtenidas en saliva como en plasma ultracentrifugado (libre de proteínas) fueron del orden de 100 nM, rango en el cual el UCN-01 expresa su capacidad antiproliferativa.

En lo que a resultados se refiere, un paciente con melanoma obtuvo una respuesta parcial, mientras que un paciente con un linfoma anaplásico de célula grande refractario alk positivo obtuvo una respuesta completa (34).

Al igual que con el flavopiridol se están ensayando otros esquemas de dosificación (37) y otras combinaciones con citotóxicos convencionales (Tabla 5).

Al igual que con el flavopiridol se están ensayando otros esquemas de dosificación (37) y otras combinaciones con citotóxicos convencionales (Tabla 5).

OTROS MODULADORES DE LAS CDKs

Además del flavopiridol y el UCN-01 existen otras familias de compuestos que modulan la actividad de las CDKs (Figura 5). Es importante señalar que debido a la importante similitud existente entre las proteínas cinasas el inhibir una de ellas de forma específica es sumamente complejo y dificulta la aparición de fármacos en el mercado. Sirva de ejemplo que entre los 100 fármacos de mayor éxito comercial en los EEUU, tan solo el sirolimus o rapamicina es un inhibidor de cinasas. En el caso de los inhibidores que compiten con el ATP existe el problema añadido de que los grupos análogos han de ser polares y sin embargo al mismo tiempo han de atravesar membranas, ya que las CDKs actúan a nivel intracelular.

Entre el resto de los diferentes grupos de compuestos inhibidores de CDKs cabe destacar los siguientes:

Paullonas

Las paullonas fueron descubiertas buscando compuestos con un perfil similar al del flavopiridol. La desventaja que presentan es su escasa capacidad de acceso al interior de las células.

TABLA 5
Ensayos clínicos con el UCN-01 que se están llevando a cabo actualmente en el NCI (28).

FASE	FÁRMACOS	DESCRIPCIÓN
I	UCN-01 + carboplatino	Tumores sólidos avanzados
I	UCN-01 + cisplatino	Tumores sólidos avanzados
I	UCN-01+ fludarabina	Linfomas recurrentes/refractarios de bajo grado o indolentes
I	UCN-01 + gemcitabina	Adenocarcinoma de páncreas metastásico o inoperable
I	UCN-01 + irinotecan	Tumores sólidos avanzados
I	UCN-01 + irinotecan	Tumores sólidos resistentes
I	UCN-01 + prednisona	Tumores sólidos o linfomas refractarios
I	UCN-01 + topotecan	Cáncer de ovario epitelial recurrente, de trompa de falopio, primario de la cavidad peritoneal
I/II	UCN-01+ fludarabina	Leucemia linfocítica crónica de células B o linfoma linfocítico de células pequeñas
II	UCN-01 + fluorouracilo	Cáncer de páncreas metastásico resistente a gemcitabina
II	UCN-01 + topotecan	Cáncer de ovario epitelial, de trompa de falopio, primario de la cavidad peritoneal

las. Algunos representantes son la alterspaullona y la kenpaullona (38).

Indirubina

La indirubina se descubrió al analizar un remedio de la medicina tradicional china para la leucemia mieloide crónica (39). Se trata de un isómero del índigo. El derivado con el grupo monoxima presenta una mejor solubilidad.

Purinas

Las purinas son los compuestos más estudiados, entre los que tenemos a la roscovitina y el purvalol B. Una ventaja importante de estos compuestos es que son fáciles de sintetizar (40).

Varios

Numerosas moléculas han demostrado tener cierta actividad inhibitoria de las CDKs, entre las que cabría destacar a las estatinas hipolipemiantes lovastatina y mevastatina, el alquilfosfolípido perifosina y el BMS 387032.

CONCLUSIÓN

Muchas neoplasias humanas tienen su origen en una hiperactividad de las CDKs, lo que conduce a un desajuste del ciclo celular. Por lo tanto, el desarrollo de inhibidores específicos de dichas proteínas es una estrategia muy atractiva en la prevención y tratamiento del cáncer.

El flavopiridol y el UCN-01 son los primeros moduladores de las CDKs que se han introducido en ensayos clínicos. Los resultados obtenidos en monoterapia no han cumplido con las expectativas iniciales, y sin embargo es probable que la combinación con agentes antineoplásicos clásicos les permita demostrar todo el potencial que se les supone. Además es posible que la aparición de moduladores de las CDKs más selectivos mejore su balance beneficio/riesgo.

Harán falta más estudios para determinar cuál es el esquema de dosificación y la combinación más favorable en cada patología concreta y sólo el tiempo aclarará cuál es el lugar que ocupan los moduladores de las CDKs en el arsenal farmacoterapéutico disponible en la lucha contra el cáncer (41, 42, 43, 44).

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer los consejos y el apoyo recibido por parte de los compañeros del Servicio de Farmacia. De no haber sido por ellos, nunca me hubiese animado a escribir este artículo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vermeulen K, Van Bockstaele D, Berneman Z. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Prolif.* 2003;36:131-49.
2. Harbour JW, Luo RX, Dei Santi A et al. Cdk phosphorylation triggers sequential intramolecular interactions that progressively block Rb functions as cells move through G1. *Cell.* 1999;98:859-869.
3. Morgan DO. Principles of CDK regulation. *Nature.* 1995;374:131.
4. Zindy F, Cunningham J, Sherr C, Jogle S, Smeyne R. Postnatal neuronal proliferation in mice lacking INK4d and KIP1 inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96: 13462.
5. Sedlacek HH. Mechanisms of action of flavopiridol. *Crit Rev Oncol Hematology.* 2001;38:139-70.
6. Maccioni RB, Otth C, Concha II et al. The protein kinase Cdk5. Structural aspects, roles in neurogenesis and involvement in Alzheimer's pathology. *Eur J Biochem.* 2001;268:1518.
7. Chao SH, Fujinaga K, Marion JE et al. Flavopiridol inhibits P-TEFb and blocks HIV-1 replication. *J Biol Chem.* 2000;275:28345.
8. Melillo G, Sausville EA, Cloud K et al. Flavopiridol, a protein kinase inhibitor, down-regulates hypoxic induction of vascular endothelial growth factor expression in human monocytes. *Cancer Res.* 1999;59:5433.
9. Brusselbach S, Nettelbeck DM, Sedlacek HH et al. Cell cycle-independent induction of apoptosis by the anti-tumor drug flavopiridol in endothelial cells. *Int J Cancer.* 1998;77:146.
10. Lee HR, Chang TH, Tebalt MJ et al. Induction of differentiation accompanies inhibition of Cdk2 in a non-small cell lung cancer cell line. *Int J Oncol.* 1999;15:161.
11. Hagenauer B, Salamon A, Thalhammer T, et al. In Vitro Glucuronidation of the Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor Flavopiridol by Rat and Human Liver Microsomes: Involvement of UDP-Glucuronosyltransferases 1A1 and 1A9. *Drug Metab Dispos.* 2001;29:407.
12. Ramirez J, Iyer, L Journault K, et al. In Vitro Characterization of Hepatic Flavopiridol Metabolism Using Human Liver Microsomes and Recombinant UGT Enzymes. *Pharmaceutical Research.* 2002;19:588.
13. Senderowicz AM. Flavopiridol: the first cyclin-dependent kinase inhibitor in human clinical trials. *Invest New Drugs.* 1999;17:313.
14. Senderowicz AM, Headlee D, Stinson SF et al. Phase I trial of continuous infusion flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in patients with refractory neoplasms. *J Clin Oncol.* 1998;16:2986.

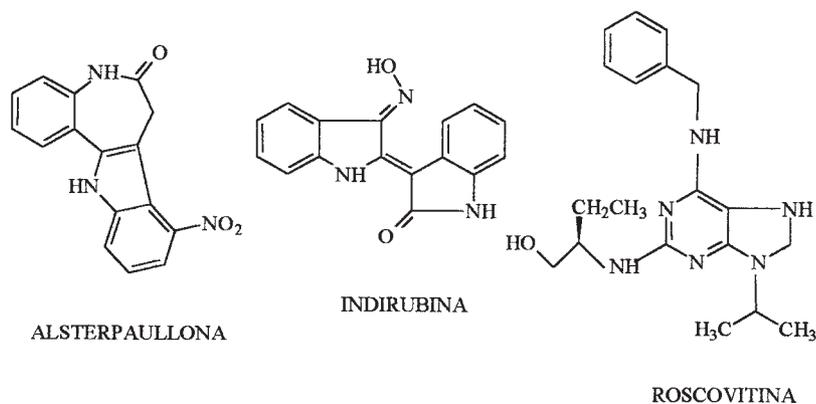


FIGURA 5. Estructura química de algunos moduladores de las CDKs.

15. Kahn ME, Senderowicz A, Sausville EA et al. Possible mechanisms of diarrheal side effects associated with the use of a novel chemotherapeutic agent, flavopiridol. *Clin Cancer Res.* 2001;7:343.
16. Messmann RA, Ullmann CD, Lahusen T et al. Flavopiridol-related proinflammatory syndrome is associated with induction of interleukin-6. *Clin Cancer Res.* 2003;9:562.
17. Rudek MA, Bauer K, Lush R. Clinical pharmacology of flavopiridol following a 72 hour continuous infusion. *Ann Pharmacother.* 2003;37:1369.
18. Innocenti F, Stadler WM, Iyer L et al. Flavopiridol metabolism in cancer patients is associated with the occurrence of diarrhea. *Clin Cancer Res.* 2000;6:3400.
19. Thomas J, Cleary J, Tutsch K et al. Phase I clinical and pharmacokinetic trial of flavopiridol. *Proc Am Assoc Cancer Res.* 1997;38:222.
20. Schwartz GK, Ilson D, Saltz L et al. Phase II study of the cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol administered to patients with advanced gastric carcinoma. *J Clin Oncol.* 2001;19:1985.
21. Stadler WM, Vogelzang NJ, Amato R et al. Flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in metastatic renal cancer: a University of Chicago Phase II Consortium study. *J Clin Oncol.* 2000;18:371.
22. Shapiro GI, Supko JG, Patterson A et al. A phase II trial of the cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol in patients with previously untreated stage IV non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2001;7:1590.
23. Aklilu M, Kindler HL, Donehower RC. Phase II study of flavopiridol in patients with advanced colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2003;14:127.
24. Kouroukis C, Belch A, Crump M, et al. Flavopiridol in untreated or relapsed mantle-cell lymphoma: results of a phase II study of the national cancer institute of Canada trials group. *J Clin Oncol.* 2003;21:1740.
25. Zhai S, Sausville EA, Senderowicz AM et al. Clinical pharmacology and pharmacogenomics of flavopiridol 1h-iv infusion in patients with refractory neoplasms. *Anticancer drugs.* 2003;14:125.
26. Senderowicz AM, Messmann R, Arbusck S et al. A phase I trial of 1 hour infusion of flavopiridol (FLA), a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in patients with advanced neoplasms. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2000;204^a.
27. Tan A, Messmann R, Sausville E et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of flavopiridol administered as a daily 1-hour infusion in patients with advanced neoplasms. *J Clin Oncol.* 2002; 20: 4074-82.
28. Cancer.gov. National Cancer Institute. Clinical trials. 10 Octubre 2003 Disponible en web: www.nci.nih.gov/clinicaltrials/.
29. Bible KC, and Kaufmann SH. Cytotoxic synergy between flavopiridol (NSC 649890, L86-8275) and various antineoplastic agents: the importance of sequence of administration. *Cancer Res.* 1997;57:3375.
30. Grant S, and Roberts J. The use of cyclin dependent kinase inhibitors alone or in combination with established cytotoxic drugs in cancer chemotherapy. *Drug Resist Updat.* 2003;6:15.
31. Schwartz GK, Kaubisch A, Saltz L et al. Phase I trial of sequential paclitaxel and the cyclin dependent kinase inhibitor flavopiridol. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 1999;160^a.
32. Seynaeve CM, Kazanietz MG, Blumberg PM et al. Differential inhibition of protein kinase C isozymes by UCN-01, a staurosporine analogue. *Mol Pharmacol.* 1994;45:1207.
33. Busby EC, Leistritz DF, Abraham RT et al. The radiosensitizing agent 7-hydroxystaurosporine (UCN-01) inhibits the DNA damage checkpoint kinase hChk1. *Cancer Res.* 2000;60:2108.
2. Sausville EA, Arbusck SG, Messmann R et al. Phase I trial of 72-hour continuous infusion UCN-01 in patients with refractory neoplasms. *J Clin Oncol.* 2001;19:2319.
35. Sausville EA, Lush RD, Headlee D et al. Clinical pharmacology of UCN-01: initial observations and comparison to preclinical models. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1998;42 (suppl):S54-S59.
36. Fuse E, Tani H, Kurata N et al. Unpredicted clinical pharmacology of UCN-01 caused by specific binding to human alpha1-acid glycoprotein. *Cancer Res.* 1998;58:3248-3253.
37. Tamura T, Sasaki Y, Minami H et al. Phase I study of UCN-01 by 3-hour infusion. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 1999;18:159^a.
38. Zaharevitz DW, Gussio R, Leost M, Senderowicz A, Lahusen T, Kunick C, Meijer L and Sausville EA. Discovery and initial characterization of the paullones, a novel class of small-molecule inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Cancer Res.* 1999;59:2566.
39. Hoessel R, Leclerc S, Endicott J, et al. Indirubin, the active component of a Chinese anti-leukemia medicine, inhibits cyclin dependent kinases. *Nat Cell Biol* 1999;1:60.
40. Havlicek L, Hanus J, Vesely J, et al. Cytokinin-Derived Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor: Synthesis and cdc2. Inhibitory Activity of Olo-moucine and Related Compounds; *J. Med. Chem.* 1997;40:408.
41. Senderowicz AM. Cyclin dependent kinases as new targets for the prevention and treatment of cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2002;16:1229.
42. Senderowicz AM. Cyclin dependent kinases as targets for cancer therapy. *Cancer Chemother Biol Response Modif.* 2002;20:169.
43. Senderowicz AM. Novel direct and indirect cyclin-dependent kinase modulators for the prevention and treatment of human neoplasms. *Cancer Chemother Pharm.* 2003;52:61.
44. Senderowicz AM. Small molecule cyclin-dependent kinases modulators. *Oncogene.* 2003;22:6609.

PREMIO
“ONCOLOGÍA 2004”
del Laboratorio Schering-Plough, S.A.

Urgencias en oncología.
 R. Barceló, A. Muñoz, P. Rodríguez, T. Pérez.

Servicio de Oncología Médica. Hospital de Cruces. Barakaldo. Bizkaia.

Gac. Med. Bilbao 2004, 101: 11-6