

Zuzanna SENDEROWSKA<sup>1</sup>  
Areta HEBANOWSKA<sup>2</sup>  
Jacek SEIN ANAND<sup>3</sup>  
Iwona RYBAKOWSKA<sup>1</sup>

## Dichloroocetan – lecząca toksyna czy toksyczny lek?

Dichloroacetate – a healing toxin or a toxic drug?

<sup>1</sup>Zakład Biochemii i Fizjologii Klinicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego p.o. kierownik:  
Dr n. med. Iwona Rybakowska

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Biochemii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego  
Kierownik:  
Prof. dr hab. Julian Świerczyński

<sup>3</sup>Zakład Toksykologii Klinicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego  
Kierownik:  
Dr hab. med. Jacek Sein Anand

### Dodatkowe słowa kluczowe:

nowotwór  
kompleks dehydrogenazy pirogronianowej  
HIF-1 $\alpha$

### Additional key words:

cancer  
complex of pyruvate dehydrogenase  
HIF-1 $\alpha$

**Dichloroocetan (DCA) jest związkiem, którego działaniu przyglądają się zarówno toksykolodzy doświadczalni, jak i kliniczni. DCA będąc ubocznym produktem chlorowania wody jest substancją toksyczną dla wielu narządów, takich jak wątroba, nerki czy układ nerwowy. Wykazano jednak, że ze względu na swój metabolizm substancja ta może być stosowana także jako lek m.in. w przypadku różnego typu nowotworów.**

### Wstęp

Mająca obecnie miejsce ogromna ingerencja człowieka w środowisko rodzi wiele niebezpieczeństw. Organizm ludzki codziennie narażony jest na szereg substancji, które mogą mieć szkodliwe, a nawet toksyczne działanie. Wiele źródeł wody zawiera związki organiczne, które reagują z chlorem podczas procesu chlorowania wody.

Przykładem związku, który jest ubocznym efektem tego zabiegu jest dichloroocetan (DCA). DCA należy do pochodnych węglowodorów halogenowych, halogenoocetanów, który jest produktem powstałym z trichloroocetanu (TCA), któremu zresztą często towarzyszy.

Oba te związki mogą również postawać *in vivo* w wyniku metabolizmu trichloroetyleny, który jest rozpuszczalnikiem przemysłowym i jednym z zanieczyszczeń wody [1].

Badania na gryzoniach dowiodły, że DCA jest toksyczny dla wątroby, nerek, układu immunologicznego i rozrodczego [2]. Jednak od kilku lat związek ten znajduje się w kręgu zainteresowania nie tylko toksykologów, ale również onkologów jako lek o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym [3].

### Toksyczne działanie dichloroocetanu

DCA jako uboczny produkt chlorowania wody pitnej stał się obiektem badań naukowych. Stwierdzono, że wchłanianie się on szybko, cechując dużą biodostępnością, jest transportowany w osoczu, skąd bez problemu dostaje się do komórki.

W komórce za pomocą systemu transportującego pirogronian dostaje się do mitochondrium, gdzie może być kumulowany.

Dodatkowo DCA łatwo przekracza barierę krew-mózg. W mitochondrium środek ten jest metabolizowany do glikoksyłanu za pomocą transferazy glutationowej Z 1 (GSTZ1) [3].

GSTZ1 posiada taką samą aktywność jak izomeraza maleiloacetoocetanu (MAAI), która katalizuje przedostatni etap w katabolizmie fenyloalaniny i tyrozyny [2,4]. MAAI

**Dichloroacetate (DCA) is a compound which activity is observed by experimental and clinical toxicologists. DCA is a by-product of chlorination of water, it is toxic to many organs, such as liver, kidneys or nervous system. In a view of its metabolism it is also demonstrated that this substance may be treated as a drug in various medical conditions, such as different types of tumors for example.**

jest również aktywna wobec maleiloacetonu (MA), bardziej stabilnego produktu dekarboksylacji maleiloacetoocetanu (MAA).

Zarówno MA jak MAA są znane jako związki alkilujące, które wiążą glutation i inne tiole. DCA jest nieodwracalnym inhibitorem tych dwóch enzymów (hamuje własny metabolizm), co skutkuje ich obniżoną aktywnością, akumulacją DCA, MA, MAA oraz zahamowaniem metabolizmu tyrozyny [2-4].

Mechanizm ten może być jedną z przyczyn toksyczności tego związku dla różnych tkanek i narządów. Zakłócenie metabolizmu tyrozyny powoduje zwiększenie ilości jej reaktywnych metabolitów, takich jak MAA, MA, które jak się uważa, są odpowiedzialne za toksyczność względem układu nerwowego, wątroby, a także innych narządów (Ryc. 1) [2,4].

O tym jak duże konsekwencje kliniczne ma zablokowanie tego szlaku świadczą następstwa tyrozinemii typu 1. W zaburzeniu tym, dochodzi do inhibicji hydrolazy fumariloacetoocetanu (FAA), który jest końcowym enzymem w metabolizmie fenyloalaniny i tyrozyny.

W wyniku tego, dochodzi do nagromadzenia MAA i FAA, które poprzez swoje toksyczne działanie na hepatocyty, powodują wielokrotne zwiększenie ryzyka wystąpienia raka wątroby u małych dzieci. Inną, ważną konsekwencją tyrozinemii typu 1 jest zaburzona synteza hemu i nagromadzenie  $\delta$ -aminoleuulinianu, który jest neurotoksyną [4]. Nie jest jeszcze jasne, czy DCA wpływa na hematopoezę [5].

Badania na myszach potwierdzają, że DCA powoduje nowotwory wątroby, jej powiększenie, akumulację glikogenu oraz ogniska martwicze. Dodatkowo DCA indukuje peroksydację lipidów, uszkadza DNA i stymuluje makrofagi do produkcji anionu nadadtlenkowego, który jest jedną z reaktywnych form tlenu, powodując stres oksydacyjny i uszkodzenie tkanek [6]. Sądzi się również, że DCA może być kancerogeny w wyniku hamowania apoptozy, jednak

Adres do korespondencji:

Jacek Sein Anand  
Zakład Toksykologii Klinicznej  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
ul. Kartuska 4/6  
80 - 104 Gdańsk  
E-mail: jacek.anand@gmail.com

mechanizm ten nie jest jeszcze dokładnie poznany [7].

### Wpływ dichloroocetanu na kompleks dehydrogenazy pirogronianowej

DCA jest strukturalnym analogiem pirogronianu, przez co stymuluje kompleks dehydrogenazy pirogronianowej (PDC). PDC to kompleks enzymatyczny zlokalizowany w macierzy mitochondrialnej, który poprzez pirogronian katalizuje utlenienie glukozy, alaniny i mleczanu do acetylo CoA. PDC nieodwracalnie dekarboksyluje pirogronian, przez co jest pośrednikiem między glikolizą, cyklem Krebsa i fosforylacją oksydacyjną.

DCA stymuluje PDC poprzez dwa mechanizmy. Pierwszym z nich jest inhibicja kinazy dehydrogenazy pirogronianowej. Zahamowanie aktywności tego enzymu skutkuje utrzymaniem PDC w formie niefosforylowanej, która jest formą aktywną.

Drugim mechanizmem powodującym wzrost aktywności PDC jest zahamowanie rozpadu tego kompleksu enzymatycznego poprzez jego stabilizację [3].

### Zastosowanie dichloroocetanu w leczeniu niektórych chorób

Ze względu na swoje właściwości metaboliczne, DCA jest przedmiotem badań klinicystów. Uważa się, że może mieć znaczenie terapeutyczne w kilku stanach chorobowych, takich jak choroby mitochondrialne, nadciśnienie płucne, a także nowotwory [4].

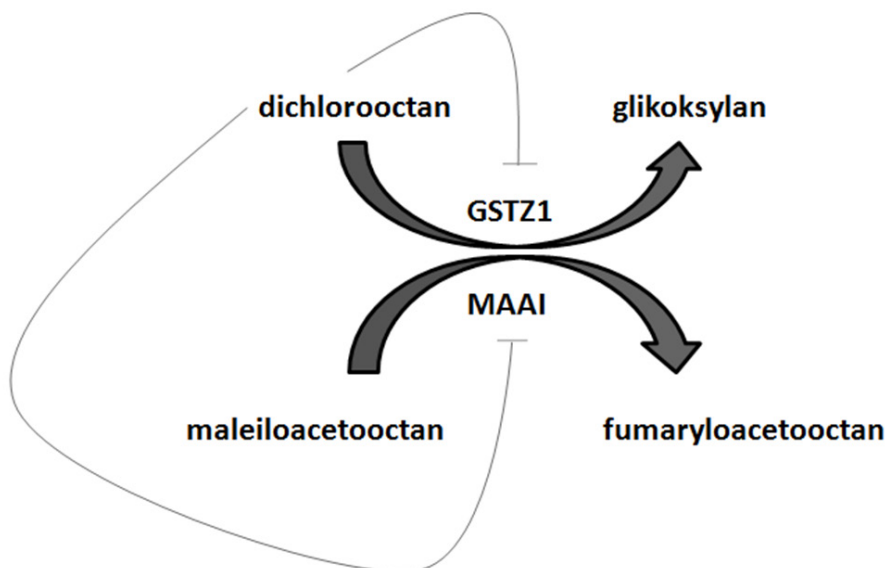
Komórki nowotworowe czerpią większość energii z glikolizy, nie zaś z oksydacyjnego metabolizmu mitochondriów. Fenomen ten nazywany jest efektem *Warburga*. Jego nazwa pochodzi od nazwiska naukowca, który po raz pierwszy opisał to zjawisko ponad 80 lat temu.

Proces ten zachodzi również przy dostatecznej podaży tlenu [3,5]. Efekt ten jest prawdopodobnie związany z transaktywacją błonowych transporterów glukozy, enzymów glikolitycznych i kinazy dehydrogenazy pirogronianowej (PDK). Poprzez zahamowanie PDK w komórkach nowotworowych DCA stymuluje PDC i fosforylację oksydacyjną, co skutkuje obniżeniem stężenia mleczanu, inicjuje szlak zależny od kaspazy i kieruje komórkę nowotworową na drogę apoptozy (Ryc. 2).

Działanie to wydaje się być wybiórcze i ograniczone jedynie do komórek guza [4,5]. Przesunięcie metabolizmu komórkowego nowotworu w stronę oksydacyjnego metabolizmu glukozy generuje również reaktywne formy tlenu, które są dla niego toksyczne [5]. Udowodniono również, że DCA obniża aktywność HIF-1 $\alpha$  (*Hypoxia induced factor*).

HIF-1 $\alpha$  jest dimeryczną cząstką kontrolującą metabolizm oraz ścieżki regulacji pH w hipoksji lub w nowotworach, w których ekspresja tego czynnika transkrypcyjnego nie jest zależna od ilości tlenu obecnej w mikrośrodkowisku guza. Wydaje się, że DCA ma zdolność do zwiększenia ekspresji supresorowego białka p53, które wiążąc się do HIF-1 $\alpha$  promuje jego rozkład. Takie działanie jest również czynnikiem hamującym proliferację komórek nowotworowych [3,8].

Przez lata badano DCA jako potencjalny



**Rycina 1**  
Reakcje katalizowane przez transferazę glutationową Z 1 oraz izomerazę maleiloacetoocetanu, które hamowane są przez dichloroocetan.

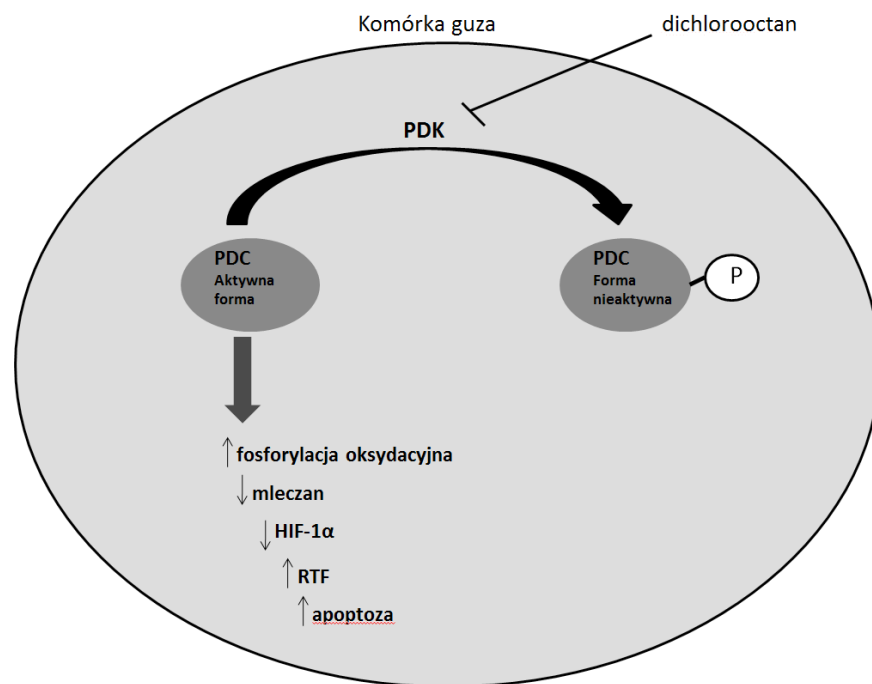
GSTZ1- transferaza glutationowa Z 1

MAAI- izomeraza maleiloacetoocetanu

Reactions catalyzed by glutathione transferase zeta 1 and maleylacetoacetate isomerase, both inhibited by dichloroacetate.

GSTZ1- glutathione transferase zeta 1

MAAI- maleylacetoacetate isomerase



**Rycina 2**  
Wpływ dichloroocetanu na komórkę guza. Dichloroocetan hamując aktywność kinazy dehydrogenazy pirogronianowej zapobiega fosforylacji dehydrogenazy pirogronianowej i utrzymuje ją w postaci aktywnej.

PDK – kinaza dehydrogenazy pirogronianowej

PDC – kompleks dehydrogenazy pirogronianowej

HIF-1 $\alpha$ - czynnik transkrypcyjny indukowany hipoksją

RTF – reaktywne formy tlenu

The impact of dichloroacetate on tumor cell. Dichloroacetate inhibits the activity of pyruvate dehydrogenase kinase and prevents phosphorylation of pyruvate dehydrogenase which maintains the enzyme in active form.

PDK – pyruvate dehydrogenase kinase

PDC – pyruvate dehydrogenase complex

HIF-1  $\alpha$  – hypoxia induced factor 1

RTF – reactive oxygen species

lek w chorobach mitochondrialnych, także takich z niedoborem PDC. Ze względu na swoje właściwości farmakokinetyczne, a także na metabolizm duże nadzieje, z

zastosowaniem DCA, wiąże się w leczeniu różnych typów nowotworów.

W związku z tym, iż DCA łatwo przekracza barierę krew-mózg przeprowadzono

badania kliniczne na grupie chorych ze złośliwym guzem mózgu i stwierdzono, że przewlekłe zażywanie DCA w dawkach używanych w leczeniu dzieci z chorobami mitochondrialnymi jest dosyć bezpieczne [8]. Prowadzone są również badania na innych typach komórek nowotworowych, także w połączeniu tego środka z innymi lekami (np. cisplatyna) [3].

Dichloroocetan jest związkiem z którym można spotkać się w środowisku. Wykazuje on toksyczność w stosunku do niektórych narządów, ale także do komórek nowotworowych. Ze względu na swój metabolizm może być nadzieją w leczeniu niektórych nowotworów, w związku z tym istotnym wydaje się prowadzenie dalszych badań nad tym związkiem oraz ocena zarówno wpływu terapeutycznego, jak i jego toksycznego działania.

#### Piśmiennictwo

- Hassoun EA, Cearfoss J, Musser B, Krispinsky S, Al-Hassan N, Liu MC:** The induction of phagocytic activation by mixtures of the water chlorination by-products, Dichloroacetate and Trichloroacetate, in mice after subchronic exposure. *J Biochem Molecular Toxicol.* 2013; 27: 237-242.
- Cornett R, James MO, Henderson GN, Cheung J, Shroads AL, Stacpoole PW:** Inhibition of glutathione S-transferase  $\delta$  and tyrosine metabolism by Dichloroacetate: a potential unifying mechanism for its altered biotransformation and toxicity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 262: 752-756.
- Kankotia S, Stacpoole PW:** Dichloroacetate and cancer: New home for orphan drug? *Biochim Biophys Acta* 2014; 1846: 617-629.
- Stacpoole PW:** The dichloroacetate dilemma: environmental hazard versus therapeutic goldmine – both or neither? *Environ Health Biochem.* 2011; 119: 155-158.
- Kumar A, Kant S, Sinhg SM.** Antitumor and chemosensitizing action of dichloroacetate implicates modulation of tumor microenvironment: a role of reorganized glucose metabolism, cell survival regulation and macrophage differentiation. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2013; 273: 196-208.
- Hassoun E, Dey S:** Dichloroacetate and trichloroacetate-induced phagocytic activation and production of oxidative stress in the hepatic tissues of mice after exposure. *J Biochem Molecular Toxicol.* 2008; 22: 27-34.
- Stauber AJ, Bull RJ, Thrall BD:** Dichloroacetate and Trichloroacetate promote clonal expansion of anchorage - independent hepatocytes in vivo and in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1998; 150: 287-294.
- Dunbar EM, Coats BS, Shroads AL, Langae T, Lew A, et al:** Phase 1 trial of dichloroacetate (DCA) in adults with recurrent malignant brain tumors. *Invest New Drugs.* 2014; 32: 452-464.