

Valproát – antiepileptikum s protinádorovými účinky

Valproic Acid – Antiepileptics with Antineoplastic Effects

Souhrn

Valproát je antiepileptikum se širokým spektrem účinku a nízkou toxicitou uvedené poprvé na trh v roce 1967 ve Francii. Významný je v klinické praxi i pro své další indikace, a to v oblasti terapie bolesti hlavy, afektivních bipolárních poruch a spinální svalové atrofie. V posledních letech se valproát dostává do popředí zájmu i na poli neuroonkologie. Jako inhibitor histonových deacetyláz způsobuje hyperacetylaci a reexpresi růstových regulačních genů, a tím následně navozuje apoptózu. Při dávkách užívaných v epileptologii byl prokázán jeho vliv na snížení schopnosti proliferace a migrace nádorových buněk a zvýšení jejich imunogenicity. Mozkové nádory jsou často spojeny s výskytem symptomatické epilepsie v závislosti na histologickém typu nádoru a jeho lokalizaci, epilepsie bývá nezářídka farmakorezistentní. Současným využitím antiepileptických a antitumorálních účinků valproátu se nám otevírají nové možnosti rozšiřující jeho indikaci v léčbě symptomatické epilepsie u nádorů mozku, a to v kontextu onkologické terapie. Jeho indikace jako antiepileptika s protinádorovým účinkem však bude vyžadovat další studie.

Abstract

Valproic acid is a broad-spectrum antiepileptic drug with low toxicity profile. It has been marketed since 1967, firstly brought out in France. Its importance in the clinical practice is augmented by the use in other indications. Valproic acid is also prescribed in the treatment of headache, affective disorders and spinal muscular atrophy. Recently, valproic acid has appeared in the focus of attention in the neurooncology field as well. As histone deacetylase inhibitor it causes hyperacetylation and reexpression of growth regulatory genes and as a consequence induces apoptosis. In preclinical studies it has been proved that valproic acid is able to inhibit cell proliferation and migration and increases the immunogenicity of tumoral cells. Brain tumors are often accompanied by the symptomatic epileptic seizures depending on the histology and localisation of the tumor. The epilepsy is not seldom farmacoresistant. Being able to take advantage of antiepileptic and antitumoral effect of valproic effect, we get a specific option in the treatment of symptomatic seizures in brain tumors. With our present knowledge the indication of valproic acid as an antiepileptic drug with antitumoral effects needs more investigations.

P. Cahová, H. Ošlejšková

Klinika dětské neurologie LF MU
a FN Brno



MUDr. Pavlína Cahová
Klinika dětské neurologie
LF MU a FN Brno,
Centrum pro epilepsie Brno
Černopolní 9
613 00 Brno
e-mail:
pavlina.cahova@seznam.cz

Přijato k recenzi: 27. 11. 2008

Přijato do tisku: 20. 3. 2009

Klíčová slova

valproát – antiepileptikum – onkologie

Key words

valproic acid – antiepileptic drug –
oncology

Úvod

Valproát (VPA, kyselina valproová) je 8C-mastná kyselina, jež je již řadu let užívána v epileptologii jako širokospektré antiepileptikum [1–5]. VPA byl poprvé syntetizován v roce 1882 Burtonem [6], ale až objevením antikonvulzivní aktivity se dostal do klinické praxe. Ta byla zjištěna náhodně v roce 1962 Pierrem Eymardem v laboratoři G. Carraze, když byl VPA používán jako lipofilní rozpouštědlo při testování antikonvulzivní aktivity nových látek. Protože výzkumy ukazovaly pozitivní výsledek i v kontrolním souboru, byl VPA testován sám jako antikonvulzivum. První klinické studie se sodnou solí valproátu byly publikovány v roce 1963 Carrazem et al [7] a v roce 1967 se VPA dostává na trh ve Francii. V epileptologii své farmakodynamické účinky uplatňuje několika mechanismy [1,5]. Existují důkazy, že VPA zvyšuje syntézu a uvolňování gama-aminomáselné kyseliny, a tím potencuje gabaergní transmisí ve specifických mozkových oblastech. Dále bylo zjištěno, že VPA snižuje uvolňování excitační aminokyseliny beta hydroxymáselné a snižuje neuronální excitaci zprostředkovanou aktivací N-metyl-D-aspartát glutamátových receptorů. Uplatňuje také přímý efekt na excitačních membránách, a to blokádu napěťově řízených sodíkových kanálů. Byla prokázána jeho účinnost jak u primárně generalizovaných epilepsií, tak i fokálních epilepsií se sekundární generalizací anebo bez ní, dále u věkově vázaných epileptických syndromů u dětí, jako je Westův syndrom, Lenox-Gastautův syndrom, epilepsie s dominujícími myoklonickými záchvaty (benigní myoklonická epilepsie, myoklonicko-astatická epilepsie, epilepsie s myoklonickými absencemi, juvenilní myoklonická epilepsie, a řada dalších neklasifikovatelných epilepsií, kde myoklonické záchvaty dominují), u fotosenzitivních epilepsií [1–5]. Intravenózní podání VPA se užívá v léčbě konvulzivních a non-convulzivních epileptických států [1,5]. Jeho další indikací v neurologii je spinální muskulární atrofie (SMA). Jedná se o autozomálně recesivní nervosvalové onemocnění, kde dochází k progresivní degeneraci míšních motoneuronů způsobené homozygotní ztrátou genu SMN1, téměř identická kopie tohoto genu SMN2 odpovídá za tíži onemocnění. VPA zde své účinky uplatňuje na genové úrovni v procesu genové transkripce, kde zvyšuje aktivaci SMN2 promotoru a navozuje správné

spojování SMN2 pre-mRNA, a tím zvyšuje hladinu SMN proteinu [8,9]. V řadě studií byl prokázán efekt valproátu v terapii migrény [10–12], jak chronické, tak akutní ataky. Pozorován byl také efekt u chronické tenzní bolesti hlavy [12], i když ve srovnání s léčbou migrenózní bolesti hlavy nižší. V psychiatrii se užívá jeho efektu na modulaci serotoninergní a dopaminergní transmise v léčbě bipolárních afektivních poruch.

V posledním desetiletí stojí v popředí zájmu vliv valproátu na nádorový růst, invazi a diferenciaci tumorů. Článek přehledně shrnuje poznatky, jež podporují antitumorózní efekt VPA, především v oblasti neuroonkologie. Diskutuje se o mechanismech účinku VPA na úrovni genové transkripce a nitrobuněčné signalizační kaskády.

Valproát a jeho antitumorózní účinky u nádorů CNS

1.1. Inhibice histonových deacetyláz

Regulace transkripce je zásadní pro zástavu buněčného růstu, diferenciaci a apoptotickou buněčnou smrt transformovaných buněk in vivo a in vitro. Jedním z regulačních mechanismů transkripce je modulace přístupnosti transkripčních faktorů k cílovým DNA segmentům. Nukleozomální integrita je regulována acetylačním stavem histonů. V hypoacetylovaném stavu jsou nukleozomy kompaktní a nepřístupny transkripci. Naopak při acetylaci histonů jsou nukleozomy relaxovány a transkripce je umožněna. Acetylační status histonů je řízen rovnováhou mezi aktivitou histonových acetyltransferáz a histonových deacetyláz [13].

VPA jako inhibitor histonových deacetyláz byl sledován v řadě studií. Navozuje hyperacetylaci a zasahuje do regulace genové transkripce. Tento efekt byl pozorován např. u vysoce rizikových embryonálních tumorů centrálního nervového systému v dětském věku, kde inhiboval růst meduloblastomu, neuroblastomu a rhabdoidních tumorů in vitro [14]. Výsledkem inhibice histonových deacetyláz je hyperacetylace, reexprese růstových regulačních genů, a tím následně navozená apoptóza (reaktivace proapoptotického genu CASP8).

Dragunow et al [15] dokazují, že VPA v terapeutických koncentracích indukuje apoptózu v myších mikrogliaálních buněčných liniích BV-2. Po 24hodinové inku-

baci bylo sledováno snížení počtu buněk, typická apoptotická morfologie buněk a zvýšení štěpení kaspázy 3. Tyto výsledky poukazují na potenciální neuroprotektivní efekt VPA v terapii neurodegenerativních onemocnění spojených s mikrogliaální aktivací, jako HIV demence, Alzheimerova choroba, Parkinsonova nemoc a cévní mozkové příhody, stejně tak ale tento apoptotický efekt byl pozorován v krysích buněčných liniích hepatomu a v lidských leukemických buňkách.

Na buněčných liniích meduloblastomu a supratentoriálního primitivního neuroektodermálního tumoru (sPNET) bylo zjištěno [16,17], že VPA je schopen cestou inhibice histonových deacetyláz regulace exprese inhibitoru cyklin-dependentní kinázy p21, a tím indukuje zástavu buněčného cyklu, a zabraňuje tak buněčné proliferaci. Dále způsobuje obnovení cesty p16/CDK4 uplatňující se v G1 fázi buněčného cyklu a supresi exprese CMYC protoonkogenu. Zvýšená exprese CMYC je často detekována v buňkách meduloblastomu a je asociována s kratší dobou přežití a nádorovou anaplazií [16].

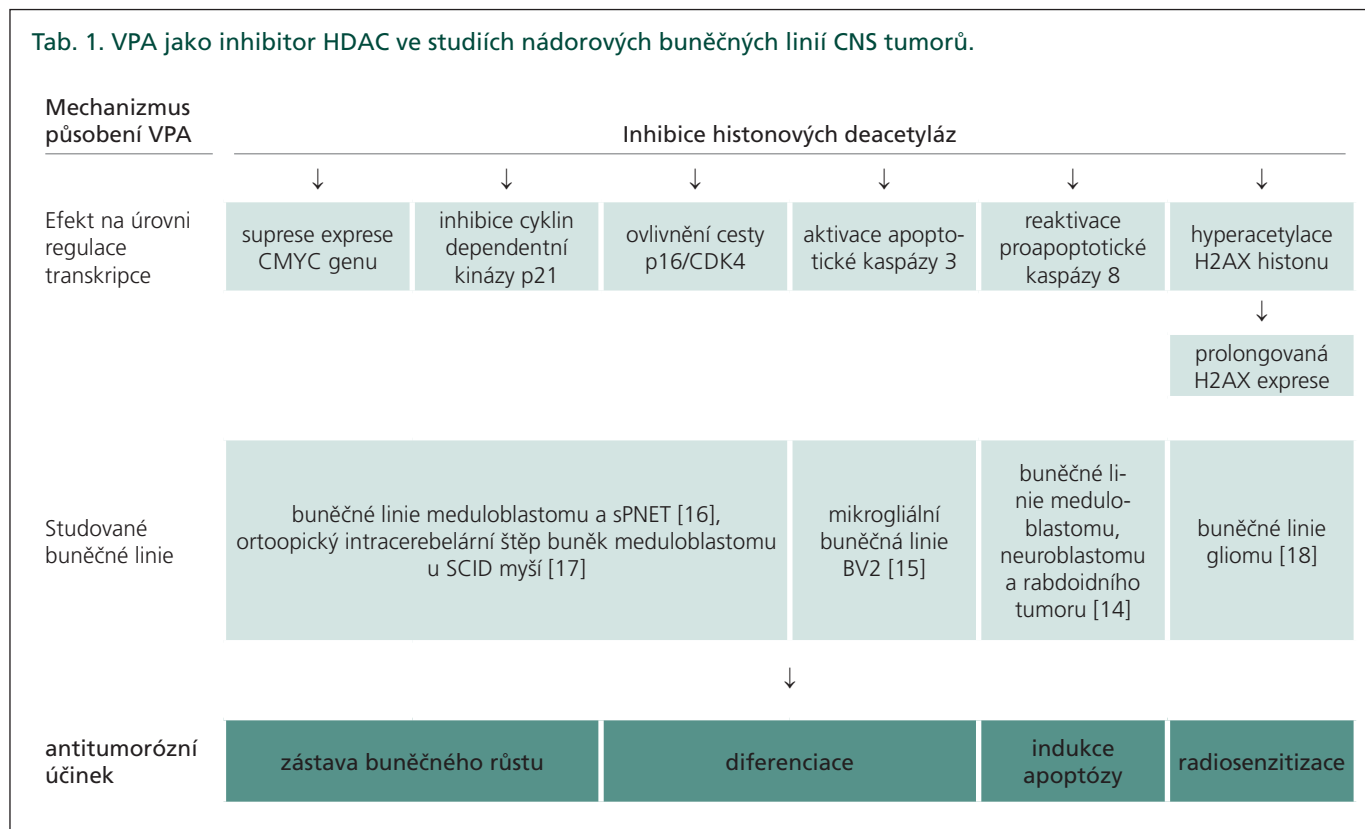
Mechanismem inhibice histonových deacetyláz může být vysvětlen i radiosenzitizační účinek VPA [18]. HDI uvolňují chromatinové struktury a modifikují genovou expresi. Tyto poznatky podporují in vitro experimenty studující souvislost mezi valproátem indukovanou radiosenzitizací a histonovou hyperacetylací. I když ionizující záření indukuje množství DNA poškození, jsou to právě zlomy dvoušroubovice, které jsou považovány za nejdůležitější na buněčném přežití. Fosforylace histonu H2AX se považuje za nejcitlivější ukazatel zlomů dvoušroubovice. Možným mechanismem radiosenzitizace je valproátem způsobená hyperacetylace histonů, včetně H2AX a prolongovaná H2AX exprese [18]. Mechanismus, jakým VPA zvyšuje radiosenzitivitu, není zatím plně objasněn (tab. 1).

1.2. Další účinky VPA na úrovni nitrobuněčné signalizační kaskády a genové transkripce

Knupfer et al uveřejnili několik studií týkajících se účinků VPA na proliferaci a migraci buněk maligního gliomu in vitro [19,20].

Byly sledovány účinky VPA na lidské buněčné linie T98G, A172, 85HG66 a 86HG39. Výsledky ukazují, že VPA snižuje proliferaci všech buněčných linií s vý-

Tab. 1. VPA jako inhibitor HDAC ve studiích nádorových buněčných linií CNS tumorů.



jimkou T98G. Co se týče efektu VPA na migraci buněk, v této otázce jeho účinek jasný není. VPA stimuloval migraci 86HG39A, migrace T98G a 85HG66 byla snížena, buňky linie A172 zůstaly beze změny [20].

V další studii byl zjišťován antitumorózní efekt VPA na buňky maligního gliomu sledováním buněčné proliferace a exprese CD56 a CD44 ve čtyřech lidských buněčných liniích T98G, A172, 85HG39, 86HG39 a krysí buněčné linii C6. Výsledky opět ukazují významnou růstovou inhibici buněk gliomu koncentracemi VPA bez toxického efektu na buňky, a to ve všech sledovaných buněčných liniích kromě T98G, kde buněčný růst zůstal beze změny. Tato pozorování byla provázena zvýšením počtu receptorů CD56 a snížením počtu receptorů CD44 na povrchu buněk.

CD56 (N-CAM, adhezivní molekula nervových buněk) je důležitá molekula nádorových buněk sloužící k jejich rozpoznání NK buňkami a k neuroektodermálnímu zrání.

CD44 (molekula hyaluronového receptoru) je důležitá v invazi gliomových buněk a metastazování [19,21].

Další pozorování ukazují, že gliomové buňky se zvýšenou expresí N-CAM (CD56)

jsou spojeny s downregulací metaloproteinů 1 a 9 a in vivo rostou méně invazivně a mají nižší růstový potenciál [22,23]. Jiné vysvětlení efektu zvýšení počtu receptorů CD56 ukazuje studie, kde byl sledován efekt VPA na neuroblastomové buňky, v nichž byla pozorována snížená exprese N-myc onkoproteinu a zvýšená exprese N-CAM. Tyto fenomény byly dávány do souvislosti se zvýšenou senzitivitou buněk na LAK buněčnou lýzu [24]. Zvýšená N-CAM exprese spolu se zvýšenou LAK buněčnou lýzou ukazují na sníženou schopnost metastazování a zvýšenou imunogenicitu u VPA léčených neuroblastomových buněk [24].

Mechanismus účinku, jakým VPA působí zvýšení počtu receptorů CD56 a snížení počtu receptorů CD44 na povrchu buněk, zůstává nejasný. Jedním z možných vysvětlení je zásah do lipidového metabolismu modulací prodloužení řetězce, protože VPA a další mastné kyseliny jsou schopny konjugovat koenzym A [25]. Dalším možným vysvětlením je schopnost proteinové prenylace a ovlivnění metabolické cesty mevalonové kyseliny [26]. Tím může VPA zasahovat do syntézy cholesterolu a prenylace p21 ras a dalších proteinů zapojených do regulace buněčného růstu.

Jedním z dalších z významných pozorování je efekt VPA na úrovni aktivace mitogen-aktivovaných proteinkináz, a to extracelulárně regulovanou kinázu (ERK), jež na subcelulární úrovni vede k aktivaci transkripčního faktoru AP1. Ten je schopen vazbou na DNA vázající místo pro AP1 aktivovat transkripci řady regulačních genů uplatňujících se v regulaci buněčné proliferace a diferenciace a apoptózy [13,27].

Existují kazuistická pozorování popisující diferenciaci supratentoriálního primitivního neuroektodermálního tumoru (sPNET) směrem k astrocytárnímu tumoru (ztráta malobuněčného fenotypu, nízký proliferací index, výrazná exprese GFAP) u pacienta užívajícího sedm měsíců VPA jako antiepileptikum v léčbě symptomatické epilepsie. Nutno zde brát ale v úvahu i základní onkologickou terapii, i když souvislost mezi indukci diferenciace nádoru a užíváním VPA nelze opomenout [28]. Pro schopnost indukce diferenciace buněk svědčí i pozorování zvýšení hladiny fetálního hemoglobinu u pacientů užívajících VPA [29].

Povzbudivé výsledky preklinických studií umožnily zahájit klinickou část výzkumu, kde je v současné době hodnocena toxi-

cita a farmakokinetika VPA u pacientů s mozkovým nádorem [30] a míra hyperacetylace periferních monocytů v závislosti na dávce VPA.

Valproát a jeho antitumorózní účinky u nádorů mimo CNS

Výše uvedené studie se zabývají studiem antitumorózních účinků VPA na buněčných liniích nádorových buněk mozkových tumorů. Výzkum probíhá ale i v jiných oblastech onkologie. Jako HDAC inhibitor je VPA slibný především v hematonekologii, protože právě několik s leukemií asociovaných fuzních genů inhibuje genovou transkripci prostřednictvím HDAC. Již v roce 2004 Kuendgen et al [31,32] publikovali výsledky klinických studií na pacientech s myelodysplastickým syndromem léčených VPA v monoterapii nebo VPA v kombinaci s all-trans retinovou kyselinou (ATRA), kde odpověď na léčbu byla 35 %. O rok později publikovali studii u pacientů s akutní myeloidní leukemií opět léčených VPA v monoterapii nebo v kombinaci s ATRA. V závislosti na zvolených kritériích AML byla odpověď na léčbu 5, resp. 16 %, především došlo k zlepšení hematologickému a stabilizaci onemocnění, což odráží i zlepšení kvality života.

Dále byl prokázán efekt VPA na buněčných liniích mnohočetného myelomu [33], kde se opět uplatňuje jako HDAC inhibitor. Působením VPA došlo k významnému zvýšení inhibitoru cyklin dependentní kinázy p21 a k inhibici buněčného růstu a proliferace. Dále nastala inhibice produkce VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), růstového faktoru významného pro angiogenezi, a tím i nádorový růst.

Na buněčných liniích karcinoidu, neuroendokrinního nádoru GIT, plic a dalších orgánů, VPA způsobuje aktivaci Notch1 signalizace [34,35], která vede k supresi produkce neuroendokrinních nádorových markerů ASCL1 a chromograninu A. Dále vede k indukci p21 exprese, a tím k zástavě buněčného dělení. Na podkladě těchto výsledků byla zahájena fáze II klinické studie u pacientů s pokročilým stádiem karcinoidu.

Účinky VPA, a to především jako HDAC inhibitoru, jsou sledovány u celé řady dalších nádorů, např. u karcinomu děložního čípku [36], adenokarcinomu tlustého střeva, karcinomu pankreatu [37] atd.

Diskuze

V preklinické části výzkumu byla předložena řada důkazů o účincích valproátu na

zástavu buněčného růstu a proliferace, indukci diferenciaci a apoptózy a řady dalších. Pozitivní výsledky jsou sledovány jak na buněčných liniích mozkových nádorů, tak i u solidních nádorů mimo CNS a v oblasti hematonekologie, kde jsou již i povzbudivé výsledky i ve fázi klinické.

Díky výsledkům dosavadních preklinických studií se stává valproát velkou výzvou pro neuroonkology, kde se nabízí jeho využití jako antiepileptika s protinádorovými účinky. Na podkladě preklinických studií byl prokázán protinádorový efekt na buněčných liniích především maligních nádorových buněk [14,16,17,19–21,24]. Zdá se tedy, že protinádorový efekt valproátu by mohl být výraznější právě v této skupině nádorů. Pokud se účinky valproátu uplatňují na úrovni genové exprese, regulace transkripce růstových regulačních genů, protoonkogenů a supresorových genů, potom je logické, že svůj efekt bude uplatňovat především u buněk s velkým růstovým potenciálem, což maligní buňky bezesporu jsou. Stejně tak lépe u maligních buněk uplatní svůj efekt na inhibici adheze buněk a jejich schopnosti metastazovat [19,20]. V souvislosti s maligními nádory je vhodné připomenout, že existují i kazuisťická pozorování, jež dávají do souvislosti užívání valproátu s indukci diferenciaci nádorových buněk [28].

Benigní mozkové nádory nejsou v popředí zájmu výzkumu tak jako nádory maligní, a důkazů o protinádorovém efektu valproátu tedy existuje podstatně méně. V této skupině nádorů se tudíž uplatní především jeho účinek jako širokospektrého antiepileptika. Jeho užití u pacientů s prognosticky příznivějšími nádory je tedy převážně v indikaci antiepileptické, ale jeho potenciální protektivní efekt na zábranu dediferenciaci a malignizaci biologicky benigních nádorů lze v současné době předpokládat a dle našich dostupných informací neexistují studie, jež by tuto hypotézu vyvracely.

Pokud by byl valproát zvažován jako vhodný kandidát v léčbě symptomatické epilepsie u mozkových nádorů s uplatněním i svých protinádorových účinků popsaných výše, nesmíme opomenout i jeho účinky hematologické. Řada pacientů v rámci komplexní onkologické terapie podstupuje neurochirurgickou resekci nádoru a potenciální riziko krvácení by samozřejmě mohlo být život ohrožující. Byla publikována řada studií, jež se zabývají účinky

valproátu na krevní destičky a na jednotlivé faktory kaskády krevního srážení. Valproát indukuje trombocytopenii [38–41], alteruje agregaci trombocytů [38–40], indukuje získanou von Willebrandovu chorobu [40], navozuje hypofibrinogemii a deficit faktoru XIII [40,42]. Klinický dopad těchto pozorování je však značně nejednotný. Verotti et al [39] poukazují na to, že hematologické abnormality způsobené VPA nejsou spojeny s klinickými krvácivými symptomy. Stejně tak Ward et al [38] potvrzují obdobný efekt, a to u pacientů po temporální lobektomii v rámci epileptochirurgického výkonu. Cannizzaro et al [43] předkládají kazuisťiky čtyř dětských pacientů užívajících valproát, u kterých byly popsány těžké krvácivé komplikace v postoperačním období a nitrolební krvácení. Zvýšená krevní ztráta byla nalezena u pacientů užívajících VPA, jež podstoupili bilaterální femorální osteotomii [44]. Nejednoznačnost těchto pozorování nás nutí ke zvýšené opatrnosti u pacientů užívajících VPA a podstupujících chirurgický výkon. Neexistuje jednotný postup a přístup jednotlivých neurochirurgických pracovišť je rozdílný. V každém případě je však u těchto pacientů zvýšená opatrnost na místě.

Přes slibné výsledky preklinických studií byly v nedávné době publikovány i výsledky svědčící proti valproátu v protinádorové léčbě. V I.–II. fázi klinického výzkumu u pacientů s pokročilým maligním melanomem byl valproát podáván ke standardní imunochemoterapii. Kombinace valproátu se standardní chemoimuniterapií nepřinesla výsledky příznivější než ve skupině pacientů se standardní léčbou a jeho nežádoucí účinky také nebyly nevýznamné [45].

Závěr

Zhruba 35 let po objevení antiepileptického potenciálu valproátu se objevují studie poukazující i na jeho antitumorózní efekt. Zda bude možno valproát zavést do standardizované protokolární terapie nádorů mozku, ať již v monoterapii či v kombinované terapii, ukáží výsledky dalších studií. Dosavadní výsledky v tuto chvíli pouze poukazují na jeho potenciální efekt jako antiepileptika s protinádorovými účinky. Z obou těchto hledisek jej lze po vyloučení všech kontraindikací zvažovat u pacientů s mozkovým nádorem, kde je antiepileptická léčba indikována.

Seznam použitých zkratk

AML	akutní meloidní leukemie
ATRA	All-Trans Retinal Acid, all-trans retinová kyselina
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ERK	Extracelulární Regulated Kinase, extracelulárně regulovaná kináza
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein, gliální fibrilární kyselý protein
HDAC	histonová deacetyláza
HDI	Histone Deacetylase Inhibitor, inhibitor histonových deacetyláz
LAK	Lymfokine-Activated Killer, lymfokiny aktivovaný zabíječ
N-CAM	Neural Cell Adhesion Molecule, adhezivní molekula nervových buněk
PNET	Primitive Neuroectodermal Tumor, primitivní neuroektodermální nádor
SMA	spinální muskulární atrofie
SMN1	Survival of Motor Neuron 1
SMN2	Survival of Motor Neuron 2
SPNET	supratentorial Primitive Neuroectodermal Tumor, supratentoriální primitivní neuroektodermální nádor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor, cévní endoteliální růstový faktor
VPA	Valproic Acid, kyselina valproová

Literatura

- Löscher W. Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs* 2002; 16(10): 669–694.
- Sýkora P. Léčba epileptických syndromů v detství věku s nepříznivou prognózou. *Neurol pro praxi* 2007; 8(2): 91–93.
- Komárek V. Léčba věkově vázaných epileptických syndromů s příznivější prognózou. *Neurol pro praxi* 2007; 8(2): 87–90.
- Komárek V. Léčba epileptických syndromů u dětí. *Cesk Slov Neurol N* 2007; 70(103(5)): 473–487.
- Guerrini R. Valproate as a mainstay of therapy for pediatric epilepsy. *Paediatr Drugs* 2006; 8(2): 113–129.
- Burton BS. On the propyl derivatives and decomposition products of acetoacetic ester. *Am Chem J* 1882; 3: 385–395.
- Meunier H, Carraz G, Meunier Y, Eymard P, Aimard M. Propriétés pharmacodynamiques de l'acide n-dipropylacétique. *Thérapie* 1963; 18: 435–438.
- Wirth B, Brichta L, Hahnen E. Spinal muscular atrophy: from gene to therapy. *Semin Pediatr Neurol* 2006; 13(2): 121–131.
- Brichta L, Hofmann Y, Hahnen E, Siebsehnrubl FA, Raschke H, Blumcke I et al. Valproic acid increases the SMN2 protein level: a well-known drug as a potential therapy for spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet* 2003; 12(19): 2481–2489.
- Yurekli VA, Akhan G, Kutluhan S, Uzar E, Koyuncuoglu HR, Gultekin F. The effect of sodium valproate on chronic daily headache and its subgroups. *J Headache Pain* 2008; 9(1): 37–41.
- Fujita M, Fujiwara J, Maki T, Shigeta M, Shibasaki K, Takahashi N et al. The efficacy of sodium valproate and MRA fading in confusional migraine. *Brain Dev* 2007; 29(3): 178–181.
- Reiter PD, Nickisch J, Merritt G. Efficacy and tolerability of intravenous valproic acid in acute adolescent migraine. *Headache* 2005; 45(7): 899–903.
- Blaheta RA, Cinatl J Jr. Anti-tumor mechanisms of valproate: a novel role for an old drug. *Med Res Rev* 2002; 22(5): 492–511.
- Furchert SE, Lanvers-Kaminsky C, Juergens H, Jung M, Loidl A, Frühwald MC. Inhibitors of histone deacetylases as potential therapeutic tools for high risk embryonal tumors of the nervous system of childhood. *Int J Cancer* 2007; 120(8): 1787–1794.
- Dragunow M, Greenwood JM, Cameron RE, Narayan PJ, O'Carroll SJ, Pearson AG et al. Valproic acid induces caspase 3-mediated apoptosis in microglial cells. *Neuroscience* 2006; 140(4): 1149–1156.
- Li XN, Shu Q, Men-Feng Su J, Perlaky L, Blaney SM, Lau CC. Valproic acid induces growth arrest, apoptosis, and senescence in medulloblastomas by increasing histone hyperacetylation and regulating expression of p21Cip1, CDK4, and CMYC. *Mol Cancer Ther* 2005; 4(12): 1912–1922.
- Shu Q, Antalffy B, Su JM, Adesina A, Ou CN, Pietsch T et al. Valproic acid prolongs survival time of severe combined immunodeficient mice bearing intracerebellar orthotopic medulloblastoma xenografts. *Clin Cancer Res* 2006; 12(15): 4687–4694.
- Camphausen K, Cerna D, Scott T, Sproull M, Burgan WE, Cerra MA et al. Enhancement of in vitro and in vivo tumor cell radiosensitivity by valproic acid. *Int J Cancer* 2005; 114(3): 380–386.
- Knüpfer MM, Hernáiz-Driever P, Poppenborg H, Wolff JE, Cinatl J. Valproic acid inhibits proliferation and changes expression of CD44 and CD56 of malignant glioma cells in vitro. *Anticancer Res* 1998; 18(5A): 3585–3590.
- Knüpfer MM, Pulzer F, Schindler I, Hernáiz-Driever P, Knüpfer H, Keller E. Different effects of valproic acid on proliferation and migration of malignant glioma cells in vitro. *Anticancer Res* 2001; 21(1A): 347–352.
- Driever PH, Knüpfer MM, Wolff JE. Valproic acid for the treatment of pediatric malignant glioma. *Klin Padiatr* 1999; 211(4): 323–328.
- Edvardsen K, Chen W, Rucklidge G, Walsch FS, Obrink B, Bock E. Transmembraneneural cell adhesion molecule (NCAM), but not glycosyl-phosphatidylinositol-anchored N-CAM, down-regulates secretion of matrix metalloproteinases. *Proc Nat Acad Sci USA* 1993; 90(24): 1146–11467.
- Fantini J, Guo XJ, Marvaldi J, Rougon G. Suramin inhibits proliferation of rat glioma cells and alters NCAM cell surface expression. *Int J Cancer* 1990; 45(3): 554–561.
- Cinatl J Jr, Cinatl J, Scholz M, Driever PH, Henrich D, Kabickova H et al. Antitumor activity of sodium valproate in cultures of human neuroblastoma cells. *Anticancer Drugs* 1996; 7(7): 766–773.
- Smith S, Stern A. The effect of aromatic CoA esters on fatty acid synthetase: biosynthesis of w-phenyl fatty acids. *Arch Biochem Biophys* 1983; 222(1): 259–265.
- Prasanna P, Thibault A, Liu L, Samid D. Lipid metabolism as a target for brain cancer therapy: synergistic activity of lovastatin and sodium phenylacetate against human glioma cells. *J Neurochem* 1996; 66(2): 710–716.
- Chen G, Yuan P, Hawver DB, Potter WZ, Manji HK. Increase in AP-1 transcription factor DNA binding activity by valproic acid. *Neuropsychopharmacology* 1997; 16(3): 238–245.
- Driever PH, Wagner S, Hofstädter F, Wolff JE. Valproic acid induces differentiation of a supratentorial primitive neuroectodermal tumor. *Pediatr Hematol Oncol* 2004; 21(8): 743–751.
- Kieslich M, Schwabe D, Cinatl J Jr, Driever PH. Increase of fetal hemoglobin synthesis indicating differentiation induction in children receiving valproic acid. *Pediatr Hematol Oncol* 2003; 20(1): 15–22.
- Masoudi A, Elope M, Amini E, Nagel ME, Ater JL, Gopalakrishnan V et al. Influence of valproic acid on outcome of high grade gliomas in children. *Anticancer Res* 2008; 28(4C): 2437–2442.
- Kuendgen A, Strupp C, Aivado M, Bernhardt A, Hildebrandt B, Haas R et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with valproic acid alone or in combination with all-trans retinoic acid. *Blood* 2004; 104(5): 1266–1269.
- Kuendgen A, Schmid M, Schlenk R, Knipp S, Hildebrandt B, Steidl Ch et al. The histone deacetylase (HDAC) inhibitor valproic acid as monotherapy or in combination with all-trans retinoic acid in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer* 2006; 106(1): 112–119.
- Kaiser M, Zavrski I, Sterz J, Jakob Ch, Fleissner C, Kloetzel PM et al. The effects of the histone deacetylase inhibitor valproic acid on cell cycle, growth suppression and apoptosis in multiple myeloma. *Haematologica* 2006; 91(2): 248–251.
- Greenblatt DY, Vaccaro AM, Jaskula-Sztul R, Ning L, Haymart M, Kunnimalaiyaan M et al. Valproic acid activates Notch-1 signaling and regulates the neuroendocrine phenotype in carcinoid cancer cells. *Oncologist* 2007; 12(8): 942–951.
- Greenblatt DY, Cayo MA, Adler JT, Ning L, Haymart MR, Kunnimalaiyaan M et al. Valproic acid activates Notch1 signaling and induces apoptosis in medullary thyroid cancer cells. *Ann Surg* 2008; 247(6): 1036–1040.
- Sami S, Höti N, Xu HM, Shen Z, Huang X. Valproic acid inhibits the growth of cervical cancer both in vitro and in vivo. *J Biochem* 2008; 144(3): 357–362.
- Jones J, Bantas W, Blaheta RA, Makarevic J, Hudak L, Wedel S et al. Modulation of adhesion of colon and pancreatic cancer cells by the histone deacetylase inhibitor valproic acid. *Int J Mol Med* 2008; 22(3): 293–299.
- Ward MM, Barbaro NM, Laxer KD, Rampil JJ. Preoperative valproate administration does not increase blood loss during temporal lobectomy. *Epilepsia* 1996; 37(1): 98–101.
- Verotti A, Greco R, Matera V, Altobelli E, Morgese G, Chiarelli F. Platelet count and function in children receiving sodium valproate. *Pediatr Neurol* 1999; 21(3): 611–614.
- Koenig S, Gerstner T, Keller A, Teich M, Longin E, Dempfle CE. High incidence of valproate-induced coagulation disorders in children receiving valproic acid: a prospective study. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008; 19(5): 375–382.
- Nasreddine W, Beydoun A. Valproate-induced thrombocytopenia: a prospective monotherapy study. *Epilepsia* 2008; 49(3): 438–445.
- Teich M, Longin E, Dempfle CE, König S. Factor XIII deficiency associated with valproate treatment. *Epilepsia* 2004; 42(2): 187–189.
- Cannizzaro E, Alibisetti M, Wohlrab G, Schmutz M. Severe bleeding complications during antiepileptic treatment with valproic acid in children. *Neuroepidemiology* 2007; 38(1): 42–45.
- Carney BT, Minter CL. Is operative blood loss associated with valproic acid? Analysis of bilateral femoral osteotomy in children with total involvement cerebral palsy. *J Pediatr Orthop* 2005; 25(3): 283–285.
- Rocca A, Minucci S, Tosti G, Croci D, Contegno F, Ballarini M et al. A phase I-II study of the histone deacetylase inhibitor valproic acid plus chemioimmunotherapy in patients with advanced melanoma. *Br J Cancer* 2009; 100(1): 28–36.