

Perspektivní směry protinádorové chemoterapie

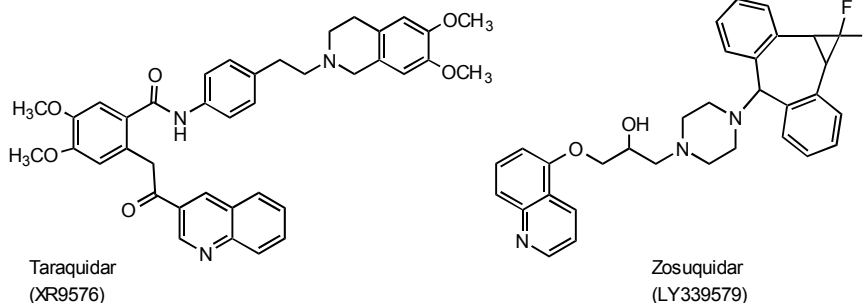
V druhé polovině minulého století se chemoterapie přiřadila k chirurgickým zásahům a radioterapii jako jeden ze základních způsobů léčby rakoviny. Byly objeveny nové účinné protinádorové léky a byly nalezeny způsoby, jak tyto léky nejlépe aplikovat a jak potlačit jejich nežádoucí toxicitu. Přes nesporné úspěchy klasické chemoterapie se však od 90. let minulého století dostává stále více do předí její omezení.

Počet nových cytostatik s osvědčenými mechanismy účinku sice nadále roste, do terapeutické praxe se jich však dostává stále méně. K překonání omezení dosavadní chemoterapie je třeba zvýšit selektivitu a účinnost protinádorových léčiv.

Překonávání rezistence nádorových buněk

Jedním z hlavních problémů dosavadní chemoterapie je vznik **rezistence nádorových buněk** vůči používaným cytostatikům. Příčin rezistence je více, jednou je nadměrná exprese glykoproteinu P (P-gp), který transportuje léčiva ven z buňky i proti koncentračnímu gradientu. P-gp přitom nepůsobí specificky, ale může čerpat ven z buňky různá cytostatika s odlišnou strukturou a mechanismem účinku. Výsledkem jeho působení je tzv. „mnohočetná“ rezistence (multidrug resistance, MDR), kdy přestává být účinná léčba hned několika cytostatiky.

Překonat rezistenci bakterií vůči antibiotikům typu penicilinů a cefalosporinů se do značné míry daří současným podáváním antibiotika a inhibitoru β -laktamasy, enzymu, který antibiotika inaktivuje štěpením β -laktamového kruhu. Podobné pokusy o překonání rezistence nádorových buněk vůči cytostatikům inhibicí P-gp přinášely však v minulosti spíše zklamání. Vývoj inhibitorů P-gp byl zahájen, když se ukázalo, že některá léčiva, např. cyklický oligopeptid cyklosporin A (používaný při transplantacích k překonání odmítání transplantovaného orgánu příjemcem) nebo verapamil (blokátor vápníkového kanálu používaný k léčbě onemocnění srdce) mohou aktivní transport cytostatik ven z buňky brzdit. Jejich širšímu využití v protinádorové léčbě však bránily jejich vlastní účinky. Inhibitory P-gp druhé generace, jako PSC-833 (analog cyklosporinu) nebo birikodar, byly v tomto směru vhodnější. Jejich aplikaci ale brzdily nevýhodné farmakokinetické vlastnosti, ovlivnění metabolismu cytostatik prostřednictvím interakcí s cytochromem P450 3A4 a malá specifita – inhibitory blokovaly i další transportní proteiny. Úspěch by však mohly přinést inhibitory P-gp třetí generace (tarakvidar, zosuquidar, lanikvidar, elakvidar a další), které se v současné době klinicky zkouší v kombinaci s některými cytostatiky



Cílená terapie

Základní charakteristikou nádorů je rychlý růst a nekontrolované množení jejich buněk. Dosavadní protinádorové léky byly nazvány cytostatiky, protože růst a množení buněk potlačovaly. Hlavně sice působily na rychle rostoucí nádorové buňky, avšak do jisté míry bránily růstu a množení i pomaleji rostoucích tkáňových buněk. Z toho vyplývaly jejich nežádoucí vedlejší účinky. Výzkum nových protinádorových léčiv se proto zaměřil na hledání možností selektivnějšího zásahu zacíleného pouze na nádorové buňky. Zvyšovat selektivitu protinádorové léčby umožnil zejména prudký rozvoj poznání příčin vzniku nádorů založený na poznacích molekulární biologie a genetiky. Zrodil se pojem **cílené terapie** (targeted therapy), který se stal nejen frekventovaným pojmem v pracích o nových protinádorových léčivech, ale také účinným nástrojem propagace nových, obvykle velmi drahých, léčiv. Pro cílenou terapii mohou být využívány různé nízkomolekulární látky, ve stále rostoucí míře se však přitom uplatňují různé biopolymery. Někdy se proto hovoří o tzv. **biologické terapii** nádorových onemocnění, která někdy je považována za bezpečný protiklad chemoterapie. Obecně platí, že přínosy cílené nebo biologické terapie pro protinádorovou léčbu jsou velké, ani na tuto skupinu léčiv však nelze nahlížet zcela nekriticky.

Nová „cílená“ nebo „biologická“ léčiva („biofarmaka“) jsou sice podstatně selektivnější než klasická cytostatika, **zcela selektivní však nejsou** a stále mají řadu nežádoucích vedlejších účinků. Vážným problémem je zejména možnost poškození funkce srdce a cévního systému, což se např. ukazuje u inhibitorů angiogenese. Jiná cílená léčiva narušují svými vedlejšími účinky činnost jater a vyvolávají poruchy v zažívacím traktu, svědění a další nežádoucí kožní projevy, v některých případech léčby protilátkami, které nejsou zcela lidské („humanizované“), může docházet k nežádoucím imunitním reakcím. Vysoce selektivní by mohla být genová terapie založená na náhradě poškozených tumorsupresorových genů za geny plně funkční, přitom však problémem může být používání virových vektorů pro vnesení genu do buněk.

Borová neutronová záchyťová terapie

Jedním ze způsobů selektivní terapie nádorových onemocnění je tzv. **borová neutronová záchyťová terapie** (boron neutron capture therapy, BNCT).

Tento způsob terapie se používá při léčbě glioblastomu multiforme, agresivního nádoru mozku se špatnou prognózou, zkouší se v terapii zhoubného melanomu a nádorů jater. K léčbě glioblastomu byl k dispozici jen chirurgický zákrok nebo radio-terapie. Tyto zásahy byly však spojeny s velkým rizikem a šance na vyléčení jen malá. Nádorové buňky glioblastomu jsou schopné kumulovat sloučeniny boru. Když se pacientovi aplikuje sloučenina obsahující izotop ^{10}B , jako je 4-boronofenylalanin nebo sodná sůl merkaptododekaborátu a pak se nádor ozáří filtrovaným svazkem neutronů z reaktoru, zachytí atomy boru neutrony. Přitom vznikne izotop ^{11}B , který se rozpadá za vyzáření částice α na lithium. Částice α má jen velmi malý dolet, ale vysokou energii. Poškodí proto jen ty buňky, v nichž je obsažena sloučenina boru. Díky tradici výzkumu a výroby sloučenin boru v Ústavu anorganické chemie AV ČR v Řeži patří ČR mezi několik málo zemí na světě, kde tato metoda může být aplikována. Komericializaci výsledků ÚACh AV ČR se zabývá česká firma Katchem, která se stala předním světovým dodavatelem sloučenin boru pro BNCT. Předností borové neutronové záchyťové terapie je poměrně krátká doba léčení – celá terapie vyžaduje jen 3 dny hospitalizace a jedno 30minutové ozáření, zatímco konvenční radioterapie až 30 ozáření a pobyt v nemocnici trvající asi 5 týdnů. Po léčbě přežívá po 5 letech od léčby 58% pacientů, zatímco u pacientů léčených jiným způsobem to bylo pouze 1%. Nevýhodou však je omezená dostupnost zdroje neutronů – vhodného reaktoru.

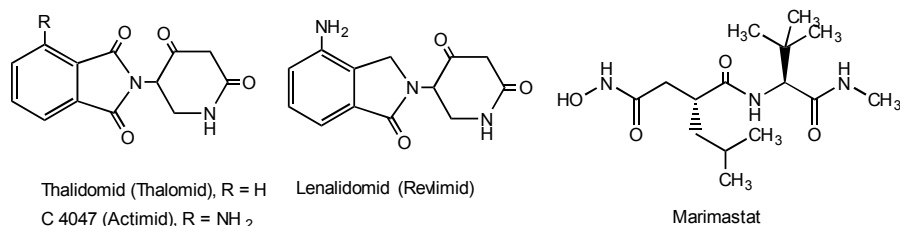
Antiangienní terapie

Významnou skupinu cílených léčiv představují **antiangienní látky**, které blokují vznik nových cév zásobujících nádory krví. Inhibitory angiogenese nádor neeliminují, ale zamezí, aby byl vyživován. Nádor se pak zmenšuje a může být snáze likvidován buď samotným imunitním systémem organismu nebo chemoterapií, popř. radioterapií. Často se proto používají v kombinaci.

Výhodou antiangienních léčiv je, že efektivní terapie zacílená na cévy v nádoru může být jednotná u různých druhů rakoviny, protože všechny cévy vyživující nádory jsou v podstatě stejné u všech typů solidních nádorů. Další výhodou je, že podat léčivo do cév je podstatně snazší, než zajistit, aby proniklo do nádorových buněk. Antiangienní léčiva by také neměla být příčinou vzniku rezistence nádorových buněk, která často vede k neúspěchu léčby konvenčními cytostatiky.

Na druhé straně mohou antiangienní látky blokovat vznik nových cév tam, kde to je žádoucí. Jejich podání je proto vyloučeno v těhotenství při růstu embrya. V dospělém organismu mohou inhibitory angiogenese blokovat hojení ran. Pro léčbu některých cévních problémů jsou dokonce vyvíjeny některé angienní látky, které naopak vznik nových cév podporují.

Přirozené regulátory angiogenese byly izolovány z krevních destiček a chrupavek. Největší pozornost vzbudily proteiny angiostatin a endostatin, po jejichž kombinovaném podání došlo u myši k vymizení i poměrně velkých nádorů. Klinické zkoušky u lidí však zatím tyto výsledky nepotvrdily. Přirozené antiangienní látky měly obsahovat extrakty žraločích chrupavek. Výsledky jejich klinických zkoušek u pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním plic, prostaty a prsu nereagujícím na předchozí chemo- nebo radioterapii však nebyly uspokojivé. Z praktického hlediska bylo významné zjištění, antiangienní účinky má celá řada nízkomolekulárních látek. Patří mezi ně plísňový metabolit fumagilin a jeho polosyntetický derivát AGM-1470 (zatím nejúčinnější nízkomolekulární inhibitor angiogenese), další plísňový metabolit epone-mycin, antibiotika minocyclin a neomycin, kombretastatin A4 izolovaný z kůry africké keřovité vrby *Combretum caffrum*, skvalamin, metabolit estradiolu 2-methoxyestradiol, jed hada ploskolebce kontortrostatin a řada dalších přirozených látek. Ze syntetických inhibitorů angiogenese je snad nejzajímavější thalidomid. Kromě antiangienních účinků může thalidomid modulovat i účinky některých cytokinů, zejména faktoru nekrózy nádorů TNF α , jehož hladina je zvýšena při zánětlivých onemocněních. Je proto řazen mezi „imunomodulační léky“, (immunomodulatory drugs, ImiDs). Původně byl vyvinut jako sedativum (Contergan), jeho používání bylo však po snad největším lékovém skandálu 20. století zastaveno. Těhotným ženám, které jej během prvních měsíců těhotenství používaly k potlačení ranní nevolnosti se rodily "Conterganové děti" s nevyvinutými končetinami. Příčinou bylo právě antiangienní účinek thalidomidu, který blokoval vznik cév v rostoucím embryu. Před několika léty se však thalidomid (Thalomid, Celgene) do terapie vrátil jako lék proti leprě a byl úspěšně využit zejména v kombinacích s platinovými cytostatiky i při chemoterapii nádorových onemocnění. Nově byla vyvinuta analoga thalidomidu s vyšší účinností, jako je CC 4047 (Actimid, Celgene) a lenalidomid (Revlimid, Celgene), který byl nedávno schválen jako lék „sirotek“ pro terapii mnohočetného myelomu a myelodysplastického syndromu.



Vzhledem k nebezpečí, které představuje teratogenita této skupiny léčiv, smí být antiangiogenní léčiva podávána jen za určitých podmínek – např. ženy v reprodukčním věku mohou být léčeny pouze v případě, že během terapie lenalidomidem a také nejméně 4 týdny před a 4 týdny po terapii používají účinnou antikoncepci.

Antiangiogenní a současně antimetastatickou účinek mají **inhibitory matricových metaloproteinás**.

Matricové metaloproteinasy, MMP, jsou zinek obsahující enzymy, které degradují bílkoviny extracelulární matrice tvořící „kostru“ tkání. Tím umožňují jak vznik nových cév, tak i únik nádorových buněk z primárního nádoru, jejich šíření krevním oběhem a vznik metastáz. Inhibitory MMP proto brání zásobování primárního nádoru krví i vznik sekundárních nádorů v jiných tkáních. Před několika lety byl proto jejich výzkum považován za velmi perspektivní. Klinicky byl zkoušen především marimastat, většinou v kombinaci s platinovými cytostatiky. Výsledky sice byly určitým zklamáním, výzkum marimastatu i dalších inhibitorů MMP (prinomastat, batimastat), vesměs derivátů kyseliny hydroxamové, však pokračuje.

Blokování přenosu signálů k buněčnému dělení

Signály k dělení, mitose, předávají buňkám různé **mitogenní látky**, zejména **růstové faktory** svými interakcemi s receptory na povrchu buňky.

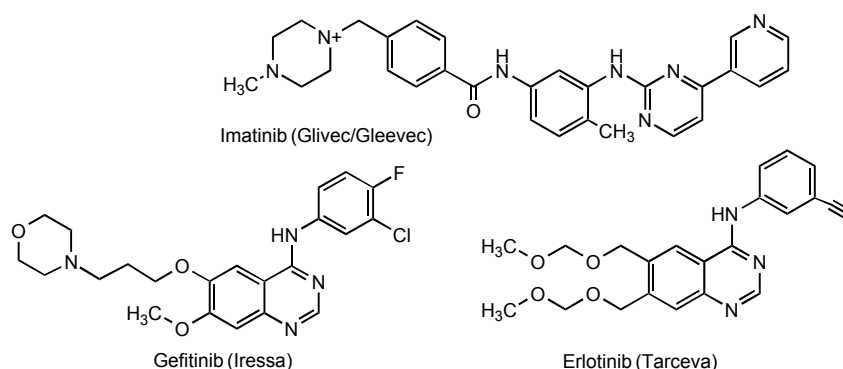
Signál ke vzniku nových cév je předáván vaskulárním endoteliálním růstovým faktorem, VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). Důležitými růstovými faktory, které ovlivňují růst a dělení nádorových buněk, jsou i epidermální růstový faktor (EGF, Epidermal Growth Factor), transformující růstové faktory (TGF- α a TGF- β , Transforming Growth Factor) a insulinu se podobající růstový faktor (IGF, Insulin-like Growth Factor). Další růstové faktory, které ovlivňují krvetvorbu, byly zmíněny mezi doplňkovými léčivými zmírňujícími dopady cytostatické léčby. Ukázalo se, že na povrchu některých nádorových buněk je nadměrně zvýšeno množství receptorů pro tyto růstové faktory. Po interakci růstového faktoru s receptorem musí být signál k růstu a dělení buněk předán až do buněčného jádra. Předání signálu zprostředkovávají proteinkinasy spřažené s receptory. Interakci růstového faktoru s receptorem je uvnitř buňky aktivována proteinkinasa spřažená s receptorem a může začít fosforylovat hydroxylové skupiny serinu, threoninu nebo tyrosinu v různých enzymech. Přitom se mění aktivita a někdy i funkce fosforylovaných enzymů.

Fosforylace hydroxylové skupiny tyrosinu obvykle aktivuje kinasy, fosforylace serinových nebo threoninových zbytků aktivuje spíše fosforylasy, které fosfátové skupiny odštěpují a tím aktivované bílkoviny převádějí zpět do neaktivního stavu.

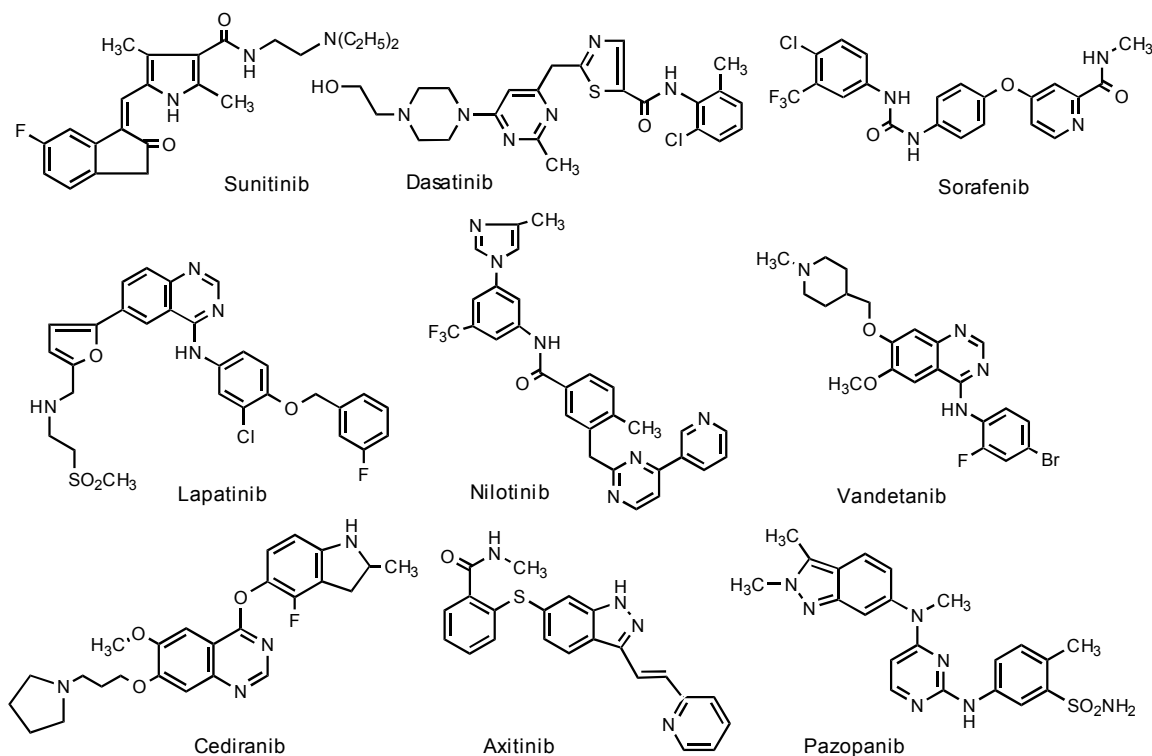
Na aktivaci tyrosinové proteinkinasy receptoru navazuje aktivace dalších enzymů fosforylací katalyzovanou kinasou. Prostřednictvím kaskády aktivačních reakcí a tvorby signalizačních molekul uvnitř buňky se pak pokyn k růstu a dělení buňky, popř. k její diferenciaci, nakonec přenesou až do buněčného jádra s jeho geny.

Vnitrobuněčný přenos signálu k dělení od tyrosinkinasy spřažené s receptorem do jádra buňky blokuje **inhibitory proteinkinasy nebo aktivátory fosforylas**. Inhibitory tyrosinových proteinkinasy (koncovka –**tinib**) působí jako „cílené“ léky především na nádorové buňky, v nichž je zvýšena kinasová aktivita. Jejich toxické účinky na tkáňové buňky v klidovém stavu jsou podstatně menší než u standardních cytostatik. Jsou vyvíjeny od 90. let minulého století a pro onkologii představují stejný průlom, jakým bylo zavedení taxanů v 80. letech.

Prvním léčivem z této skupiny byl imatinib (Gleevec, Novartis), který se používá při léčbě chronické myeloidní leukemie (CML). Toto onemocnění je způsobeno přesunem genů *abl* a *bcr* kódující bílkoviny s tyrosinkinovou resp. serin/tyrosinkinovou aktivitou mezi 9. a 22. chromosomem. Přitom se spojí části genů *abl* a *bcr*. Produktem tohoto spojení je tyrosinkinasa, která aktivuje bílkoviny regulující buněčný cyklus trvale, i bez vnějšího signálu. Buňka se pak nekontrolovaně dělí. Imatinib se váže do vazebního místa pro ATP. Přitom inhibuje jen tyrosinkinasu kódovanou *abl-bcr* a dvě další kinasy, aktivitu ostatních kinas však neovlivňuje. Imatinib může sloužit za příklad moderního racionálního přístupu k hledání nových léčiv. Nejprve byl proveden screening, kterým bylo zjišťováno, jaké látky mohou tyrosinkinasu kódovanou *abl-bcr* inhibovat. Vodítková látka byla nalezena v jednom derivátu, který měl v poloze 4 pyrimidinového jádra navázaný 3-pyridylovou a v poloze 2 fenylaminovou skupinu. Pak následovaly modifikace molekuly. Substitucí v poloze 6 (zavedení methylskupiny) byla potlačena nežádoucí inhibiční aktivita vůči proteinkinase C, zavedením vysoce polárního N-methylpiperazinového zbytku byla zvýšena rozpustnost a biologická dostupnost léčiva při orálním podání. Imatinib je povolen pro léčení leukemie, klinické zkoušky však ukazují, že by mohl být úspěšně využit i u jiných nádorových onemocnění.



V některých nádorových buňkách je nadměrně zvýšen počet receptorů pro epidermální růstový faktor. Tyto buňky tak dostávají větší počet signálů k dělení. Inhibitor tyrosinkinasy receptoru EGF gefitinib (Iressa, AstraZeneca) byl povolen pro léčbu pokročilých stadií nádorů plic. Když došlo k předčasnému úmrtí několika pacientů léčených gefitinibem, začalo být uplatnění inhibitorů tyrosinkinasy receptorů růstových faktorů široce diskutováno. Přitom se ukázalo, že ani nová cílená léčiva nejsou tak bezpečná, jak bylo předpokládáno a hlavně jak byly tyto látky propagovány. Onkologové se však stále domnívají, že přínosy „tinibů“ podstatně převyšují nevýhody a že nežádoucím vedlejším účinkům bude možné zabránit vhodnou volbou terapeutického režimu. Gefitinib je povolen v Japonsku a EU, v USA, Kanadě a Švýcarsku je povoleno jen omezené použití přípravku, protože při jeho klinickém zkoušení nebylo prokázáno signifikantní prodloužení doby přežití pacientů s nádory plic. Tyrosinkinasa EGFR je cílovou strukturou také pro erlotinib (Tarceva, OSI Pharmaceuticals) určený opět pro léčbu nádorů plic a také nádorů pankreatu (v kombinaci s gemcitabinem. V r. 2006 k dříve povoleným inhibitorům přibýly tři další. Sunitinib (Sutent, Pfizer) je určen pro léčbu stromálních nádorů GI traktu. Dasatinib (Sprycel, Bristol-Myers Squibb) je duální inhibitor, který kromě tyrosinkinasy abl-ber inhibuje také kinasy Src. Může být používán jak k léčbě chronické myelogenní leukemie, tak i akutní lymblastické leukemie. Sorafenib (Nexavar, Bayer) inhibuje kinasu receptorů pro VEGF i PDGF a také Raf kinasu, která je aktivována produktem onkogenu *Ras*. Je určen k léčbě nádorů ledvin. Novým léčivem je lapatinib (Tykerb, Tyverb, GlaxoSmithKline), který byl povolen v březnu 2007 pro léčbu nádorů prsu a plic. Je to duální inhibitor, jehož cílovými strukturami jsou tyrosinkinasy spřažené s dvěma typy receptorů pro EGF, mimo jiné receptoru ErbB2 (HER2/neu), který se vyskytuje v nadměrném množství v buňkách nádorů prsu. Klinicky zatím zkoušenými inhibitory jsou vandetanib (Zactima, AstraZeneca) určený k léčbě nádorů plic, nilotinib, který má léčit pacienty s chronickou myeloidní leukemií, u nichž se vyvinula rezistence na imatinib, axitinib zkoušený pro léčbu nemalobuněčných nádorů plic a pazopanib hydrochlorid se zatím nejasnou indikací. U cediranibu (Recentin, AstraZeneca) skončily zkoušky léčby nádorů plic neúspěchem, pokračuje však zkoušení u nádorů střev a konečníku.

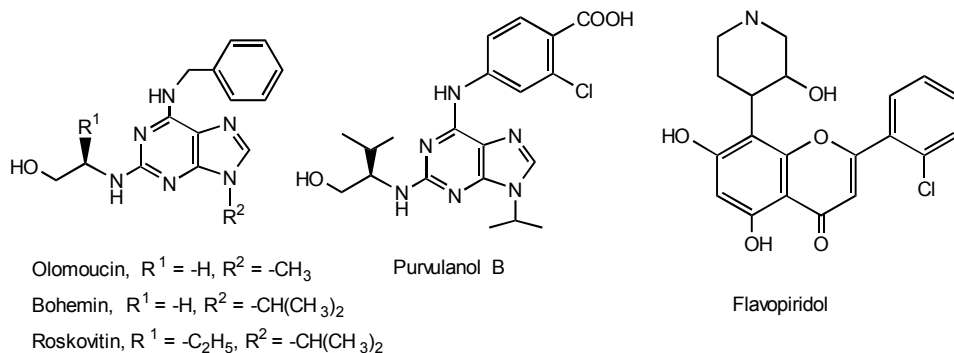


Vedle již zmíněných tyrosinkinaz spřažených s buněčnými receptory pro růstové faktory se přenosu signálů k buněčnému dělení účastní i další proteinkinasy, jako je MAK (mitogeny aktivované dinasy), kinasy IKK, proteinkinasa A a C a další. I inhibitory těchto proteinkinaz mohou být využity v protinádorové terapii.

Důležitou skupinu proteinkinaz tvoří cyklin-dependentní proteinkinasy (cdk), enzymy regulující cyklus buněčného dělení. **Inhibitory cyklin-dependentních proteinkinaz** mohou proces buněčného dělení zastavit nebo alespoň zpomalit. Jejich účinkem přitom nejsou nijak ovlivněny funkce nedělicích se buněk v klidovém stavu. Inhibitory obvykle inhibují několik typů cdk současně.

Buněčný cyklus je souborem procesů, které vedou ke zdvojení genetického materiálu a jeho následnému rozdělení do dvou dceřinných buněk. Ke zdvojení DNA dochází v tzv. syntetické fázi označované jako S, k oddělení dceřinných buněk v mitotické fázi M. Mezi těmito dvěma fázemi jsou přestávky označované jako G1 a G2 (G od *gap* = mezera). Buněčný cyklus tak je opakující se sled fází G1 – S – G2 – M. Fáze G1, kdy je buňka nedělí, jsou „v klidu“, může být velmi dlouhá (někdy se proto přestávka mezi M a S fází rozděluje na G0 a G1 fázi). K dalšímu dělení dojde až poté, co k tomu buňka dostane vhodný signál. Některé diferencované tkáňové buňky se již dále dělit vůbec nemohou a zůstávají trvale v klidovém stavu, který je někdy označován jako postmitotický stav. U dělicích se buněk řídí průběh buněčného cyklu bílkoviny nazvané cykliny, jejichž koncentrace v buňce se v různých fázích cyklu mění. Cykliny v určitých okamžicích aktivují určité typy kinas, které pak aktivují další bílkoviny fosforylací. Těchto cyklin-dependentních kinas (cdk) je podobně jako cyklinů několik typů, známo je zatím 9 a z toho se 5 účastní regulace buněčného cyklu. Důležitá je zejména cdk2, která je aktivována cyklinem E jehož syntéza je indukována na konci fáze G1. Tato aktivace vede k zahájení fáze S, kdy se spolu s genetickým materiálem syntetizuje i cyklin A. Ten pak vytváří s cdk2 komplex zodpovědný za průběh fáze G2. Další cdk se účastní regulace v jiných fázích buněčného cyklu.

Inhibitorům cdk se dostalo značné publicity v českých médiích, protože na počátku studia jednoho typu inhibitorů s purinovým skeletem stáli vědci z olomoucké filiálky Ústavu experimentální botaniky AV ČR. Ti při studiu analogů rostlinného růstového hormonu 6-benzylaminopurinu zjistili, že některé deriváty purinu růst buněk nestimulují, ale naopak potlačují. Příčinou byla inhibice cdk. První účinná látka z této skupiny, 6-benzylamino-2-(2-hydroxy-ethyl)-9-methylpurin, byla nazvána olomoucín, pak byl připraven ještě účinnější derivát bohemin. Bohužel, autoři podcenili patentoprávní stránku svého významného objevu. Při studiu purinových inhibitorů cdk2 začali spolupracovat s francouzskými badateli v Roscoffu. Teprve poté, co tam byl připraven další analog roskovitin a zapatentována skupina příbuzných látek, si olomoučtí pracovníci uvědomili svoji chybu. Dosáhli však již jen toho, že byli připsáni jako spoluautoři do patentu francouzských kolegů. Mezitím byl v USA s využitím postupů kombinatoriální syntézy připraven rozsáhlý soubor purinových inhibitorů cdk, z nichž purvulanol B měl při pokusech *in vitro* o tři řády vyšší účinnost než olomoucín. Podobným způsobem údajně postupovali i pracovníci farmaceutického koncernu Aventis. I když olomoucký kolektiv našel skulinu v patentoprávní ochraně a zapatentoval si některá další analoga, zdá se, že z jejich významného objevu zůstanou jen jména olomoucín a bohemin. Roskovitin je klinicky zkoušen, stejně jako některé další purinové inhibitory cdk. Kromě nich jsou ve vývoji i další inhibitory cdk s odlišnou chemickou strukturou (flavonoid flavopiridol, 7-hydroxystauroporin a další).



Inhibitory farnesyltransferasy

Při regulaci buněčného dělení hraje významnou roli i protoonkogen *ras*. Produkt jeho transkripce, protein *ras* hydrolyzuje GTP a tím působí jako spínač mezi aktivním a neaktivním stavem řady bílkovin regulujících buněčný růst, diferenciaci a dělení. Tyto regulační bílkoviny obsahují v aktivním stavu navázaný GTP, neaktivní forma obsahuje navázaný GDP, který vzniká hydrolýzou GTP. Mutací genu *ras* vzniká onkogen, jehož transkripce poskytuje protein, který už nemůže GTP hydrolyzovat. Signální kaskáda tak zůstává trvale zapnutá. Protein *ras* je sám aktivován farnesylovací nebo geranylovací, přenosem nenasyceného alifatického řetězce s isoprenoidní strukturou. **Inhibitory farnesyltransferasy** tuto aktivaci blokují a tím brání přenosu signálu pro buněčnou proliferaci.

Inhibiční účinek na farnesyltransferasu mají některá léčiva, např. lovastatin, látka sloužící ke snižování hladiny cholesterolu, nebo nesteroidní protizánětlivé léčivo sulindak sulfid a některé přírodní látky, jako je limonen. Vedle toho je zkoušeno několik dalších syntetických inhibitorů, které byly připraveny cíleně. Nejdále pokročilo zkoušení tipifarnibu (Zamestra, Johnson & Johnson) při léčbě mnohočetného myelomu.

Monoklonální protilátky

Přenos signálu k růstu a dělení buněk může být zastaven nebo omezen ještě před buňkou. **zabráněním kontaktu růstových faktorů s jejich receptory na povrchu buňky.** K tomu se využívají **monoklonální protilátky**, které mohou buď „neutralizovat“ růstové faktorů nebo blokovat jejich receptory.

Monoklonální protilátky, jejichž generické názvy mají koncovku –mab, od **monoclonal antibody**, *antibody* je anglicky protilátka, jsou plasmatické glykoproteiny s jednotnou strukturou a stejným účinkem, který je vysoce specifický a selektivní. Uplatnění nalezy v terapii různých onemocnění, mnohé z nich patří mezi velmi účinné protinádorové léky. Jejich výroba je velmi náročná, což se odráží v jejich mimořádně vysokých cenách. Protilátky se získávají imunizací zvířat nebo člověka antigeny, cizorodými látkami vyvolávajícími jejich tvorbu. Jejich základní jednotkou jsou **imunoglobuliny G** (IgG), glykosylované plasmatické bílkoviny o molekulové hmotnosti asi 150 kDa, které mohou vytvářet dimery (IgA) nebo i pentamery (IgM). IgG má tvar písmene Y a je tvořen dvojicemi stejných polypeptidických řetězců – „lehkých“ a „těžkých“, propojených disulfidickými můstky. Na konci lehkých řetězců jsou variabilní části, které rozpoznávají antigen. Protilátky jsou syntetizovány v lymfocytech (bílých krvinkách) typu B. Tyto lymfocyty jsou tvořeny různými populacemi (klony) buněk, takže jimi vytvářené protilátky jsou polyklonální, tj. jsou směsí příbuzných bílkovin s různou afinitou k antigenu. Když se ale po imunizaci pokusného zvířete (myš) získají ze sleziny lymfocyty B a působením polyethylenglykolu se spojí s nesmrteľnými nádorovými (myelomovými) buňkami, které ztratily schopnost protilátky vytvářet, vzniknou fúzané buňky zvané hybridomy. Ty si zachovávají některé důležité vlastnosti původních buněk – schopnost lymfocytu B vytvářet protilátky a současně i schopnost nádorové buňky neomezeně a relativně rychle růst a množit se. Jednotlivé buňky hybridomů se mohou izolovat a namnožit v oddělených tkáňových kulturách. Přitom se získají klony buněk, z nichž každý produkuje jeden druh protilátky. Klony jsou tvořeny stejnými buňkami, takže i protilátky klonem produkované jsou stejné, „monoklonální“. Po otestování na afinitu k antigenu se k další kultivaci vyberou hybridomy, které vytvářejí nejúčinnější protilátky. V diagnostice se používají hlavně myší protilátky (koncovka –**omab**). Pro terapii jsou však málo vhodné, protože v lidském organismu se chovají jako cizorodá bílkovina a samy vyvolávají tvorbu protilátek. Používají se proto jen výjimečně. Ideální by byly lidské protilátky (-**umab**) získávané z hybridomů připravených fúzí lidských buněk nebo imunizací transgenních zvířat s lidskými geny. Ani to však není bez problémů. Proto se nejčastěji používají myší protilátky upravené pomocí genového inženýrství. Přitom se nejprve připraví fragmenty DNA kódující části protilátky. Myší DNA kódující variabilní část protilátky, která rozeznává antigen, se pak spojí s lidskou DNA kódující konstantní část protilátky. U získané DNA se ještě může provést řízená mutagenese některých nukleotidů, která zajistí další „humanizaci“ rekombinantní protilátky. DNA se pak vpraví pomocí vhodného vektoru do mikrobiálních nebo i tkáňových buněk, které pak při kultivaci produkují buď „chimerické“ protilátky (-**ximab**) s lidskými těžkými řetězci a myšími lehkými řetězci protilátky nebo „humanizované“ protilátky (-**zumab**), u nichž zůstává myší jen variabilní fragment protilátky. Humanizované protilátky mohou obsahovat až 95% lidské bílkoviny. Připravené monoklonální protilátky se nakonec izolují a čistí.

Monoklonální protilátky mohou být využity v terapii buď přímo **k zablokování určitých cílových struktur** nebo nepřímo **k nasměrování léčivých přípravků do nádorové tkáně.**

Při přímém použití v terapii se využívají zejména protilátky proti různým regulačním bílkovinám a buněčným receptorům. Protilátka proti VEGF bevacizumab (Avastin, Roche) se váže na růstový faktor, který pak nemůže interagovat se svým receptorem VEGFR. Tím je inhibován přenos signálů pro růst cév v nádoru. Bevacizumab byl schválen v r. 2004 jako lék proti metastázujícímu kolorektálnímu karcinomu, používá se v kombinaci s 5-fluoruracilem. Podobný účinek má klinicky zkoušený aflibercept (VEGF Trap, Regeneron/Anofi-Aventis), konjugát extracelulárního fragmentu receptoru pro vaskulární endoteliální růstový faktor a konstantní části lidského imunoglobulinu IgG1.

Prvními protinádorovými protilátkami na trhu byly rituximab (viz další odstavec) povolený v r. 1997 a trastuzumab (Herceptin, Roche, povolen v r. 1998). Trastuzumab je monoklonální protilátka proti receptoru erbB-2 (Her2/neu), který patří do rodiny receptorů pro lidský epidermální růstový faktor. Používá se k léčbě pokročilých metastázujících nádorů prsu u pacientek, které nereagovaly na dva předchozí režimy chemoterapie. Zvýšené množství receptoru erbB-2 se vyskytuje v buňkách 20-25% nádorů prsu, ale i některých jiných nádorů. Receptory pro EGF blokuje i nedávno schválená chimérická monoklonální protilátka cetuximab (Erbix, ImClone). S touto látkou, kterou reklama označovala za zázračný protinádorový lék, byl v USA spojen skandál. Když FDA na sklonku roku 2002 oznámila, že bude žádat doplnění výsledků klinických zkoušek, manažéři ImClone tuto informaci pozdrželi a mezitím výhodně prodali akcie firmy, jejichž cena pak během krátké doby klesla z 20 na 6 \$. Tím byli poškozeni ostatní akcionáři firmy. Manažéři byli odsouzeni k odnětí svobody za zneužití informací v obchodním styku (insider trading). Přes tento skandál a následné finanční potíže se však nakonec firmě ImClone podařilo klinické zkoušky dokončit. V červenci 2004 FDA povolila cetuximab pro léčbu nádorů konečníku a střev a v březnu 2006 pro léčení nádorů hlavy a krku.

Další monoklonální protilátkou proti receptoru EGF je nimotuzumab (Theraloc, YM Biosciences), který byl, zatím jen v některých zemích, povolen pro léčbu nádorů hlavy a krku. Ve stejné indikaci je zkoušen zalutumumab (HuMax-EGFr, Genmab). Poslední (září 2006) povolenou terapeutickou protilátkou proti receptoru pro epiteliální růstový faktor je panitumumab (Vectibix, Amgen), zcela lidská protilátka určená k léčbě pacientů s jinak neléčitelnými nádory střev a konečníku. Mechanismus účinku dalších protilátek je odlišný. Rituximab (Rituxan, Mabthera) je chimérická protilátka proti nádorovému antigenu CD-20, která se osvědčila při terapii tzv. nehodgkinských lymfomů (nádorů lymfatických žláz). Alemtuzumab (Campath, Genzyme), protilátka proti antigenu CD52, který se vyskytuje na povrchu zralých lymfocytů, ale ne na povrchu kmenových buněk, z nichž lymfocyty vznikají, se používá k léčbě chronické lymfocytické leukemie a lymfomů. Zkoušen je WX-G250 (Rencarex, Wilex AG), monoklonální chimérická protilátka proti anhydrase kyseliny uhličitě IX, antigenu, který se vyskytuje na 95% buňkách nádorů ledvin, ne však na buňkách ze zdravých ledvin. WX-G250 se váže variabilní částí na antigen, zatímco jeho konstantní část interaguje s receptorem na povrchu buněk imunitního systému nazývaných přirození zabíječi (Natural Killer – NK cells). Tím se nastartuje mechanismus imunitní obrany organismu závislý na protilátce (ADCC – antipody dependent celula cytotoxicity). Terapeutická odezva při monoterapii však byla nedostatečná, nyní se WX-G250 zkouší v kombinaci s interleukinem 2. Podobným mechanismem by měl účinkovat OvaRex, další protilátka fy Wilex, tentokrát proti antigenu C-125, který se vyskytuje zejména na povrchu buněk nádorů vaječníků. Dalšími klinicky zkoušenými monoklonálními protilátkami jsou ipilimumab (Bristol-Myers Squibb), tremelimumab (Pfizer) a bavituximab (Peregrine). První dvě jsou protilátky proti antigenu 4, který se vyskytuje na povrchu cytotoxických T-lymfocytů. Jejich vazbou na antigen TLCA-4 by měl být stimulován imunitní systém organismu k zásahu proti nádorovým buňkám. Bavituximab je protilátkou proti fosfolipidu, který se má vyskytovat pouze na povrchu cév v nádorech. Jeho navázáním má být nasměrován imunitní systém organismu na likvidaci buněk cév v nádoru i nádoru samotného.

Jiné protilátky proti antigenům na povrchu nádorových buněk mohou mít na sebe také navázány toxiny, cytostatika, enzymy nebo radioizotopy emitující intenzivní záření krátkého dosahu. Specificita protilátek přitom zajišťuje, že zdravé tkáně nejsou při léčbě výrazněji poškozeny.

Z toxinů navázaných na protilátku byl zkoušen konjugát prudce jedovatého ricinu, do terapeutické praxe se však zatím nedostal. Konjugát exotoxinu A bakterií *Pseudomonas* s fragmentem monoklonální protilátky, která se váže na antigen epitelových buněk EpCAM vyskytující se zejména na povrchu buněk nádorů hlavy a krkubyl zatím povolen jako lék proti vzácným onemocněním (Proxinium, Viventia Biotech). Pod souhrnný pojem imunotoxiny jsou vedle konjugátů protilátek s toxiny řazeny i podobné konjugáty jiných bílkovin se zvýšenou afinitou vůči nádorovým buňkám. Cintredekin besudotox je konjugát interleukinu 13 (IL-13) s pseudomonádovým exotoxinem A. TransMID 107 je konjugát transferrinu se záškrto- vým toxinem, který se zkouší při léčbě gliomů, agresivních nádorů mozku. Přitom se využívá toho, že nádorové buňky mají na svém povrchu zvýšené množství receptorů pro transferrin. Při nádorově specifické radioterapii se používají myší protilátky proti nádorovému antigenu CD-20 s navázanými radioizotopy. Jsou jimi tositumomab (Bexxar), protilátka s navázaným ^{131}I , který se rozpadá za vzniku β -záření, které proniká do hloubky 2,4 mm a ibritumomab tiuxetan (Zevalin), protilátka s kovalentně navázaným chelátotvorným seskupením, kde je navázán buď izotop yttria ^{90}Y (Y90-Zevalin) vydávajícím rovněž β -záření, nebo india ^{111}In (In111-Zevalin) vydávajícím γ -záření s krátkým dosahem. Při léčbě gliomů je zkoušena i chimérická protilátka s navázaným ^{131}I , Cotara (Techniclone/Peregrine). Lék s generickým názvem gemtuzumab ozogamicin (Myotarg, Wyeth) obsahuje monoklonální protilátku proti nádorovému antigenu CD-33 s navázaným protinádorovým antibiotikem kalicheamycinem. Používá se k léčbě akutní myeloblastické leukemie. Zajímavým typem konjugátů protilátek s kopolymerem N-hydroxypropylmethakrylamidu obsahujícím doxorubicin navázaný přes peptidickou spojku jsou „cíleně směřovaná polymerní léčiva“ vyvíjená na Ústavu makromolekulární chemie a Mikrobiologickém ústavu AV ČR. Konjugáty enzymu (např. fosfatasy) a protilátky proti nádorovým antigenům se zkoušejí při způsobu léčby nesoucím zkratkou ADEPT (Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy). Protilátka se váže na nádorové buňky. Navázaný enzym pak v okolí nádorové buňky štěpí netoxické (fosforylované) profarmakum, např. fludarabin fosfát, na protinádorově účinný lék.

Monoklonálních protilátek určených pro terapii rychle přibývá. Přes relativně krátkou dobu, po níž se používají, dosáhly v r. 2007 prodeje protinádorových terapeutických protilátek 6,8 mld. USD. Vysoké číslo je ovšem ve značné míře důsledkem velmi vysokých cen, do nichž se promítá velká náročnost vývoje, přípravy, čištění i kontroly jakosti a bezpečnosti.

Např. 150 mg balení trastuzumabu (Herceptin) pro léčbu pokročilých stadií nádorů prsu stojí asi 25 tis. Kč. Doporučenou počáteční dávku činí 4 mg na 1 kg tělesné hmotnosti, udržovací dávka, která se má podávat každý týden je 2 mg/kg. Náklady na 6 léčebných cyklů u 60 kg pacientky tak dosahují asi 1,4 mil. Kč. Jiné terapeuticky používané protilátky jsou ještě dražší. Náklady na léčbu pak dosahují částek přesahujícím 2 mil. Kč za rok. Nákladovost léčby protilátkami mohou snižovat diagnostické testy, jimiž se zjišťuje, zda v nádoru dochází k nadměrné expresi genu kódujícího cílovou strukturu protilátky. Podle výsledků se pak drahá léčba nasadí jen tam, kde je šance, že protilátka pomůže. Jako první jsou zaváděny testy pro prognózu terapie trastuzumabem. Zlevnění léčby protilátkami může přinést generická konkurence, tzv. biofarmaka. O problémech jejich povolování se nyní široce diskutuje, protože dosáhnout naprosté strukturální ekvivalence složitých biopolymérů není prakticky možné.

Jinou šancí na zlevnění terapie protilátkami by údajně mohly přinést „nanoprotilátky“ (nanobodies) objevené v krvi velbloudů. Nanoprotilátky mají asi 10 x menší molekulu než lidské protilátky. Mají jednoduchou strukturu tvořenou malými „těžkými“ řetězci. „Lehké“ řetězce jim chybí, přesto jsou však plně funkční a jejich afinita k antigenům je podobná jako u běžných protilátek. Navíc jsou stálejší než běžné protilátky. Nevadí jim tolik teplo a také lépe překonávají nízké hodnoty pH. To má význam pro případné použití k léčbě nádorů gastrointestinálního traktu. Pokusy se zvířaty také ukazují, že nejsou samy o sobě imunogenní – že při jejich aplikaci nedochází k tvorbě „protilátek proti nanoprotilátkám“. Vzhledem k jednodušší struktuře by jejich cena měla být nižší. Případné léčebné využití nanoprotilátek je však zatím ještě hodně vzdálené – úspěšně bylo dosud vyzkoušeno jen u myši způsobem připomínajícím výše zmíněnou metodu ADEPT a zatím také není vůbec jasné jak se bude vůči nanoprotilátkám chovat lidský organismus.

Protinádorové vakcíny

Protinádorové vakcíny jsou tvořené polyklonálními protilátkami, tj. směsí protilátek s různou afinitou vůči antigenům na povrchu nádorových buněk, jsou. Jejich interakce s nádorovými antigeny upozorní imunitní systém organismu na přítomnost nežádoucích buněk a tím zahájí jejich likvidaci.

Interakce protilátek z vakcíny s nádorovými antigeny dává signál tzv. přirozeným zabíječům (natural killer cell) nebo jiným buňkám imunitního systému k tomu, aby nádorovou buňku zlikvidovaly. Pracovníci MBÚ AV ČR ukázali, že k označení nádorových buněk pro likvidaci zabíječskými buňkami lze kromě protilátek využít i navázání oligosacharidových ligandů na povrch buněk pomocí liposomů. Další možnost imunitní obrany představuje aktivace cytotoxicky působících T-lymfocytů, specializovaných buněk imunitního systému. Po aktivaci dojde ke specifické diferenciaci a klonálnímu pomnožení cytotoxických lymfocytů. Ty pak likvidují rozpoznané nemocné buňky. Signál k aktivaci poskytne souhra interakcí „naivního“ nediferencovaného lymfocyty, při níž klíčovou roli hrají buňky prezentující antigen. Nejúčinnějšími aktivátory přítom jsou tzv. dendritické buňky, které antigen pohltí, zpracují a pak se v lymfatických uzlinách přemění na buňky prezentující antigen. Při přípravě protinádorových vakcín se proto často izolují z krve prekurzory dendritických buněk, ty se nechají dozrát a pak inkubují s nádorovými antigeny, lyzáty nádorových buněk nebo i živými nádorovými buňkami. Nejnověji se připravují tzv. DNA vakcíny, kde se místo antigenů používá DNA kódující nádorový antigen. Použity mohou být i geneticky modifikované viry s vneseným genem kódujícím antigenní proteiny nádorových buněk (např. proteiny gp1000 a MART1 z melanomových buněk). Antigeny jsou glykoproteiny a pro organické chemiky může být zajímavá informace, že se pro úspěšný „trénink“ imunitního systému podařilo oligosacharidy antigenů syntetizovat.

V protinádorové prevenci se uplatňují i vakcíny, jejichž cílovými strukturami nejsou nádorové buňky, ale které chrání organismus proti infekcím předcházejícím vzniku nádorového onemocnění.

Infekce pohlavních orgánů lidskými papilloma viry (HPV) typu 16 a 18 má v asi 70% případů za následek vznik nádorů děložního čípku. Proti infekci HPV byly vyvinuty bivalentní vakcína Cervarix (GlaxoSmithKline) proti HPV 16 a 18 a kvadrivalentní vakcína Gardasil (Merck), která chrání i proti HPV 6 a 11, které vyvolávají vznik bradavičnatých výrůstků na genitáliích. Různé aspekty použití těchto vakcín v prevenci gynekologických nádorů byly v poslední době široce diskutovány.

Imunoterapie pomocí protinádorových vakcín by měla být vysoce selektivní a šetrná, měla by umožnit současnou léčbu primárního nádoru i jeho metastáz a dokonce i přinést možnost prevence rakoviny nebo alespoň návratu onemocnění. Zatím se však potýká s problémem nedostatečné imunitní odpovědi organismu na vakcinaci. Vývoj protinádorových vakcín je sice poměrně intenzivní, ale jeho výsledkem jsou stále ještě spíše neúspěchy než úspěchy. Účinná protinádorová preventivní vakcinace je proto ještě dosti vzdálenou perspektivou.

I když je protinádorová vakcinace obecně ještě v plenkách, u některých druhů nádorů však její uplatnění roste. Nejvíce pokročil vývoj vakcín proti melanomu, kožnímu nádoru, jehož výskyt se zvyšuje v souvislosti se snižováním tloušťky ozónové vrstvy. Vakcína Oncophage (Antigenics Inc.) je založena na využití tvorby protilátek proti antigenům z buněk získaných přímo z nádoru pacienta. Při klinických zkouškách vakcíny bylo dosaženo prodloužení doby přežití pacientů o 3,7 měsíců, celkové přežití se však nezlepšilo. Jiný typ vakcíny, Canvaxin (CancerVax) je založen polyklonálních protilátkách proti 30 antigenům tří buněčných linií nádorových buněk melanomu i jiných nádorů.

Problémem výzkumu a vývoje protinádorových vakcín je, že povrchové antigeny nádorových buněk se od antigenů na povrchu normálních tkáňových buněk liší jen nepatrně.

Při účinné vakcinaci proto může docházet k nežádoucím autoimunitním reakcím, kdy imunitní systém začne likvidovat i normální buňky. Např. po podání vakcíny proti melanomu může imunitní systém organismu napadat i normální melanocyty, kožní buňky produkující hnědé kožní barvivo melanin. To pak má za následek, že se na kůži léčeného pacienta začnou objevovat světlé skvrny (vitiligo). Závažnější autoimunitní projevy se však zatím při klinických zkouškách nevyskytly.

Malé rozdíly mezi antigeny normálních a nádorových buněk jsou však spíše příčinou toho, že imunitní odezva je jen velmi slabá, takže organismus nedokáže nádorové buňky zlikvidovat.

Paradoxně může přitom někdy docházet i k situaci, že protinádorová vakcína dokonce vyvolá imunitní toleranci proti nádorovým antigenům. V takových případech může vakcinace průběh nádorového onemocnění dokonce urychlit. Imunitní tolerance vůči nádorovým buňkám může být způsobena tím, že nádorová transformace je postupným procesem, takže si organismus může na nádorové buňky zvyknout. Zvyknout si však mohou i nádorové buňky, protože imunitní systém organismu na ně vykonává určitý selekční tlak. Množí se pak jen nejodolnější buňky, s nimiž se imunitní systém nedokáže vypořádat. Příčinou může být to, že si nádorové buňky osvojily schopnost určitých regulačních buněk bránit tomu, aby imunitní systém napadal vlastní tkáň. Nyní byl identifikován enzym označovaný jako A20, který v dendritických buňkách tlumí přenos signálu o zánětlivých procesech a tím ovlivňuje prezentaci antigenů. Při jeho nedostatku nebo po jeho inhibici produkují dendritické buňky nadměrná množství cytokinů a dalších stimulačních molekul. Důsledkem je silná imunitní odezva, kterou regulační buňky neumí potlačit. Při pokusech na myších se ukázalo, že imunitní systém, jehož hyperaktivita byla vyvolána dendritickými buňkami s deficitem A20, dokáže likvidovat nádorové buňky tam, kde současné vakcíny byly neúčinné nebo jen málo účinné. Selektivní inhibice A20 by proto mohla účinnost protinádorové vakcinace výrazně zvýšit, na druhé straně by však mohla také vést k nežádoucím projevům autoimunitních onemocnění (roztroušená skleróza, revmatoidní artritida, psoriáza apod.).

Inhibitory telomerasy

Normální buňky mají omezený potenciál růstu, po určitém počtu dělení zestárnou a odumírají. Naproti tomu nádorové buňky se mohou dělit trvale, lze je tedy považovat za nesmrtelné. Při regulaci délky života normálních diferencovaných buněk hraje důležitou roli postupné **zkracování telomerů** – specifických struktur na koncích chromosomů, k němuž dochází při dělení buněk.

Telomery obsahují mnohokrát se opakující hexanukleotidovou sekvenci TTAGGG tvořenou (u člověka) 8-14 tisíci párů nukleotidů. Při každém buněčném dělení ztrácí chromosomy určitý díl telomerické DNA. V živém organismu to je 100 - 150 párů bází za rok. Když se délka telomerů zkrátí na kritickou hodnotu, je tím dán signál k zastavení dalšího buněčného dělení zestárlé buňky.

V buňkách embrya i „nesmrtelných“ rakovinných buňkách je ztráta délky telomerů při buněčném dělení kompenzována opětným připojením nukleotidů, které katalyzuje enzym **telomerasa**.

Telomerasa je ribonukleoprotein obsahující RNA, která slouží jako templát pro syntézu telomerických nukleotidových sekvencí. V normálních tkáňových buňkách dospělého organismu není telomerasa aktivní, její aktivita však byla prokázána u 86% typů nádorových buněk.

Aktivace telomerasy je zřejmě důležitým krokem nádorové transformace, kdy buňky získávají schopnost neomezeného dělení. Naopak, **inhibice telomerasy** by mohla nádorové bujení zastavit.

V telomerech je velké množství guaninu. Ukázalo se, že koncích telomerů může být DNA uspořádána do zvláštních struktur zvaných G-kvadruplexy, v nichž jsou čtyřmi molekuly guaninu propojené vodíkovými můstky. Kvadruplexy mohou být tvořeny i 4 individuálními úseky DNA poskládanými z jednořetězcové DNA. Koncovou strukturu telomeru si pak lze představit jako skelet několikapatrového domu, kde podlahy tvoří propojené molekuly guaninu. Aby telomerasa mohla zajistit prodloužení, musí být koncová DNA telomeru lineární a neposkládaná. Jestliže jsou na koncových místech vytvořeny kvadruplexy, telomerasa prodloužit telomery nemůže. Podmínkou jejího účinku proto je rozvolnění kvadruplexů. Sloučeniny, které se na G-kvadruplexy mohou selektivně vázat a tím stabilizovat jejich strukturu, mohou telomerasu vyřadit z činnosti a tím omezit dělení buňky.

Americký nositel Nobelovy ceny s českými předky T.T.Cech zjistil, že kvadruplexy mohou stabilizovat některé kovové ionty, jiný tým zjistil, že kvadruplexy stabilizuje i 2,6-diamidoantrachinon. Jiným zajímavým inhibitorem byl telomestatin, přirozená látka produkovaná bakteriemi. Žádná z těchto látek nebyla vhodná pro další vývoj, staly se však inspirací k hledání dalších sloučenin s podobným účinkem. Pomocí počítačového modelování interakcí různých látek s kvadruplexy bylo zjištěno, že kromě aminoantrachinonů mohou mít stabilizační účinek i některé porfyrity (z nichž pak byl syntetizován tetra-(N-methyl-4-pyridyl)-porfín (TMPyP4), deriváty perylenu, cyaninová barviva a některé další látky s planární strukturou, které se překvapivě váží vně, nikoliv mezi kvadruplexy. Na zjištění, že telomerasu inhibují fluorované chinolony navázal vývoj nyní zkoušeného léčiva CX-3543 (Cylene Pharmaceuticals). Odlišným mechanismem inhibuje telomerasu (Antisoma), na guanin bohatý oligonukleotid s 26 bázemi sám vytvářející kvadruplexy, který byl náhodně objeven při studiu oligonukleotidů vytvářejících strukturu trojitě spirály. Výsledky prvních klinických zkoušek AS1411 na malém souboru pacientů s nádory ledvin (fáze I) byly rozporné: AS1411 nevykazoval žádnou přílišnou toxicitu, u jednoho pacienta došlo ke kompletní a u druhého k téměř úplné remisi, u 5 pacientů se stav nezměnil, u 2 zhoršil.

Inhibitory telomerasy jsou sice velmi často uváděny mezi perspektivními protinádorovými léky, stále není ani jednoznačně prokázáno, že inhibice telomerasy skutečně může zastavit růst a množení nádorových buněk. I když se to prokáže, bude třeba ještě mnoho práce k tomu, aby se i prokazatelně účinné inhibitory staly používanými protinádorovými léčivy.

Studium inhibitorů telomerasy je však perspektivní i z jiného hlediska. Stabilizátory kvadrupletů by se potenciálně mohly uplatnit i při řízení exprese některých genů a možná i při léčení některých dědičných nemocí způsobených chromozomálními aberacemi, které mohou být příčinou mentální retardace nebo mít jiné vážné následky. Na regulaci délky telomerů se kromě telomerasy podílejí proteiny TRF1 a TRF2, rozvolnění koncových struktur telomerů katalyzuje enzym nazvaný tankyrasa 1, který interaguje s TRF1. Při zablokování tankyrasy 1 se zastaví buněčný cyklus. Spolu s inhibitory cdk a dalších enzymů podílejících se na regulaci buněčného cyklu, by se proto mohly inhibitory tankyrasy 1 stát dalšími kandidáty na nová protinádorová léčiva.

Induktory apoptózy

Pro správnou funkci organismu jako celku je důležitý nejen vznik a rozvoj buněk, ale i jejich zánik. K tomu dochází jednak při závažném náhodném poškození buňky různými vnějšími fyzikálními i chemickými faktory, jednak při předem naprogramované likvidaci již nepotřebných buněk nebo buněk, u nichž došlo k určitým změnám nezaručujícím jejich další správnou funkci. V prvním případě jde o **nekrózu**, ve druhém o **apoptózu** (z řečtiny, *apo-* = od a *ptein* = padat), programovanou buněčnou smrt. Oba procesy se liší mimo jiné v tom, že při nekróze zůstává buněčné jádro s DNA určitou dobu intaktní, zatímco proces apoptických změn na úrovni DNA začíná.

Mechanismy apoptózy jsou poměrně složité a podílí se na nich celá řada enzymových reakcí. Signály k apoptóze dostává buňka ze svého vnitřního prostředí, mohou však přicházet i zvenčí. Jedním z vnitrobuněčných signálů k apoptóze poskytuje zkrácení telomerů na kritickou délku. Jiným vnitrobuněčným signálem k apoptóze je aktivace proteinu p53 kódovaného tumorsupresorovým genem *p53* vyvolaná poškozením DNA. Protein p53 tak proto vlastně chrání buňku před nežádoucími dědičnými změnami genomu. Nastartovat apoptózu může aktivace dalších produktů tumorsupresorových genů, ale různé signální molekuly z vnějšího prostředí. V tomto případě hrají důležitou úlohu tzv. receptory smrti na povrchu buněk. Při interakcích těchto receptorů s cytokiny nebo jinými ligandy dochází v cytoplasmě ke vzniku (buněčnou) smrt indukujícího enzymového komplexu DISC. Cytoplasmatická část aktivovaného receptoru přitom rozštěpí proenzym caspasy 8 (v české literatuře se píše o kaspasách, otázkou však je, zdali to je správné: termín caspasa je vlastně zkratkou pro cysteinyl-aspartát specifická proteasa a cystein se netranskribuje do češtiny jako kystein). Aktivovaná caspasa 8 pak aktivuje další enzymy apoptické dráhy. Signály k apoptóze vyvolané různými podněty se mohou spojit do jedné signální dráhy, existují však i jiné mechanismy buněčné smrti nezávislé na kaspasách. Apoptotické procesy lze zpočátku ještě zastavit, po určité fázi se však stávají nevratnými. Produkty onkogenů mohou kroky vedoucí k apoptóze zablokovat.

Některé induktory apoptózy jsou zkoušeny jako protinádorová léčiva. Přírodním induktorem je např. faktor „nekrózy“ nádorů, TNF, studovány jsou však i některé další bílkovinné molekuly.

TNF, TRAIL (TNF Related Apoptosis Inducing Ligand) a další cytokiny aktivují různé receptory smrti. Umělým agonistou receptoru je monoklonální protilátka mapatumumab (TRAIL-R1 Mab, Cambridge Antibody), která postoupila do fáze II klinických zkoušek při léčbě nádorů konečnicku a střev, lymfomů a některých dalších nádorů. Ve fázi I klinických zkoušek je rekombinantní TRAIL AMG-951 (Amgen). Indukce apoptózy funkčními tumorsupresorovými geny nebo ligandy receptorů smrti je také cílem některých zkoušených přípravků pro genovou terapii (viz dále).

Apoptotické procesy mohou nastartovat i různá nízkomolekulární léčiva.

Indukce apoptózy je patrně hlavním mechanismem účinku u oxidu arsenitého, u některých cytostatik (např. paklitaxelu), antagonistů pohlavních hormonů a kortikoidů je doprovodným účinkem. Z různých nízkomolekulárních látek mohou apoptózu indukovat např. i sildenafil (Viagra) nebo kanabinoidy z marihuany.

Inhibitory proteasomu

Rychleji než inhibitory telomerasy a induktory apoptózy se jako nové léky do protinádorové terapie prosazují **inhibitory proteasomu**, buněčné struktury, která má důležitou úlohu při recyklaci bílkovin v buňce.

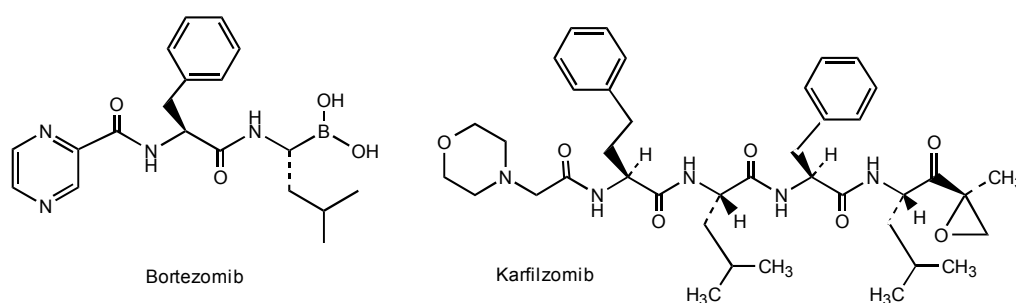
Většina bílkovin je v buňkách pravidelně obměňována za nové, a to i v buňkách, které se už nedělí, jako jsou nervové buňky. Průměrná životnost buněčných bílkovin je několik dní, některé však mají biologický poločas pouhých několik desítek minut, jiné naopak několik týdnů. Kromě bílkovin, které splnily svůj úkol a jsou pro buňku nadále zbytečné nebo i nežádoucí, se musí organismus zbavovat poškozených nebo cizorodých bílkovin. K tomu slouží proteasomy. Proteasomy obsahují několik proteolytických enzymů, které postupně rozloží bílkoviny až na aminokyseliny. Ty pak buňka využije jako stavební kameny při syntéze nových bílkovin. V buňkách vyšších organismů je až 30.000 proteasomů, které se účastní recyklace bílkovin. Velký význam mají proteasomy pro likvidaci proteinkinasy, které již splnily svoji úlohu v kaskádě vnitrobuněčných procesů řídicích dělení buněk. Proteasomy přitom fungují jako jakési biologické hodiny, které určují časový průběh koncentrace důležitých enzymů a tím řídí jednotlivé fáze buněčného cyklu.

Aby proteasomy poznaly co mají rozštěpit, musí být nepotřebná nebo poškozená bílkovina označena.

K označení slouží navázání několika molekul polypeptidu ubikvitinu, který obsahuje 76 aminokyselin. Ubikvitinace je tak pro bílkoviny „polibkem smrti“. Je katalyzována třemi enzymy, které vlastně zprostředkovávají řízení chodu buňky a jak se ukázalo, mohou se podílet na nádorové transformaci.

Některé látky mohou ubikvitinaci nebo činnost proteasomu selektivně inhibovat, aniž by interagovaly s ostatními buněčnými enzymy. Inhibice zastavuje recyklaci bílkovin a tím i buněčné dělení a vnáší do buňky chaos, který může vést k buněčné smrti, apoptóze.

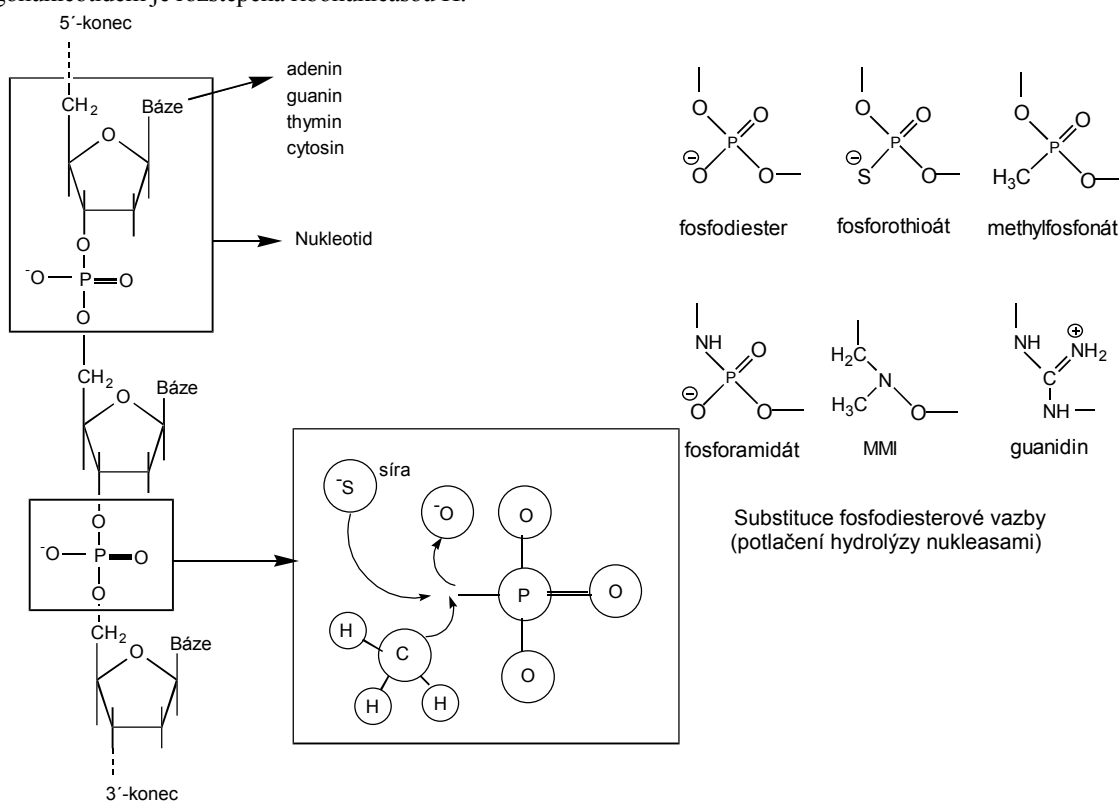
Inhibitory proteasomu proto mají protinádorový účinek. Chemicky to jsou analoga oligopeptidů, která často mají koncový karboxyl nahrazen zbytkem kyseliny borité. Jako první inhibitor proteasomu se do protinádorové terapie dostal bortezomib (Velcade, Millenium a Janssen-Cilag), který byl nedávno schválen jako lék pro léčbu mnohočetného myelomu. V brzké době by však jeho indikace mohly být rozšířeny na další nádorová i jiná onemocnění. Klinicky zkoušený je inhibitor proteasomu 2. generace neobsahující bor, ale oxiranový kruh v substituované koncové amidoskupině, karfilzomib (PR-171, Proteolix), posuzována je žádost o povolení klinických zkoušek dalšího inhibitoru PR-047, jehož předností by měla být možnost orálního podání.



Látky blokující přenos genetické informace

Další možnost protinádorové terapie představují zásahy do přenosu genetické informace. Přepis onkogenů lze blokovat pomocí **komplementárních** (protisměrných, antisense) **oligonukleotidů**.

Jde o krátké jednořetězcové sekvence ribo- nebo deoxyribooligonukleotidů nebo jejich analog („peptidových NA“) s 15-30 bázemi, které jsou spojeny modifikovanými fosfátovými vazbami (aby odolávaly hydrolýze nukleasami). Komplementární oligonukleotidy se mohou navázat na určitý úsek mRNA. V takovém případě pak nedojde k translaci a mRNA s navázaným oligonukleotidem je rozštěpena ribonukleasou H.



Komplementární oligonukleotidy jsou intenzivně studovány od 80. let, avšak do terapie výrazněji nepronikly. Protinádorově je účinný oblimersen (Genasense, Genta), který je komplementární k prvním 6 trinukleotidovým sekvencím genu kódujícího inhibitor apoptózy, protein Bcl-2. Jiným povoleným komplementárním oligonukleotidem je formivirsen (Vitravene, Isis), který však není určen pro protinádorovou terapii, ale pro léčbu cytomegalovirových infekcí v očním lékařství. Zkoušeny jsou oligonukleotidy komplementární k mutované formě genu *p53*, které mají potlačovat tvorbu neúčinné varianty.

V poslední době jsou intenzivně zkoumány možnosti terapeutického využití přirozených oligoribonukleotidů se 17-23 bázemi, tzv. **malých interferujících RNA** (siRNA, small interfering RNA) nebo **mikroRNA** (miRNA, microRNA), které jsou přirozenými regulátory exprese genů.

Malé regulační RNA byly objeveny v r. 1993 u červíka *Caenorhabditis elegans*, předtím byly považovány pouze za fragmenty RNA. Poznání role siRNA a miRNA při „umlčování“ genů vyvolalo však obrovský zájem o jejich studium, takže dnes je již známo na 600 lidských siRNA a miRNA. Jsou komplementární k části mRNA, vzniklý komplex s mRNA pak není schopen translace a může také být snáze degradován nukleasami, mechanismus účinku však stále není znám. K dostatečně silné interakci s mRNA má stačit sekvence pouhých 8 nukleotidů. Cílovým místem siRNA jsou zejména oblasti bohaté na tzv. AU-elementy, které se často vyskytují v mRNA odvozené od onkogenů. V případě miRNA, které mohou naopak inaktivovat některé geny tlumící růst a dělení buněk, byl zjištěn jejich zvýšený výskyt v některých nádorových buňkách.

Perspektivně by mohly být malé regulační RNA využity v terapii nádorových onemocnění, studium takových možností je však zatím jen na samotném počátku.

Výhodou siRNA a miRNA je, že je lze připravovat biotechnologickými postupy. To by mohlo zajistit snazší přípravu a lepší dostupnost ve srovnání se syntetickými oligonukleotidy. Podobně jako v případě komplementárních oligonukleotidů je však u regulačních oligoribonukleotidů velkým problémem jejich omezená stabilita v prostředí obsahujícím různé nukleasy.

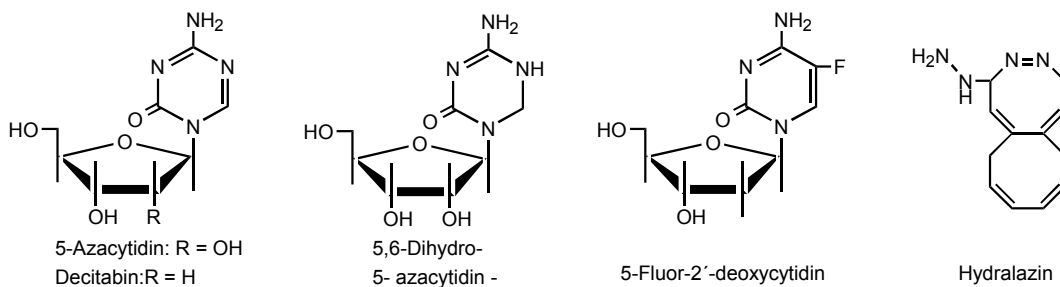
Zatímco komplementární oligonukleotidy i malé regulační RNA blokují přepis genetické informace z DNA na mRNA, **ribozomy**, ribonukleové kyseliny s katalytickou aktivitou, mohou bránit přenosu genetické informace štěpením mRNA.

Zkonstruovány byly ribozomy štěpící mRNA odvozenou od onkogenů *ras* nebo *fos*, resp. genu *mdr* podílejícího se na rezistenci nádorových buněk vůči cytostatikům. Klinicky je zkoušen ribozym Herzyme (Ribozyme Pharmaceuticals), který štěpí mRNA kódující receptor typu 2 pro lidský epidermální růstový faktor HER2 s nadměrným výskytem v některých typech nádoru prsu. Vzniku nových cév má bránit „angiozym“, ribozym specificky štěpící mRNA, která kóduje jeden z receptorů pro vaskulární endoteliální růstový faktor. Širokému terapeutickému využití komplementárních oligonukleotidů i ribozymů bude zřejmě bránit jejich omezená stabilita a vysoká cena.

Možnosti ovlivnění epigenetických změn podílejících se na regulaci exprese genů

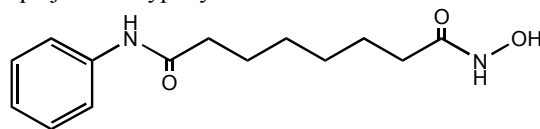
Kromě RNA interference ovlivňují expresi genů i **epigenetické změny**. Při těchto změnách se nemění ani genom ani genetický kód, ani nedochází k vnějšímu zásahu do mechanismů transkripce DNA. Epigenetické změny zahrnují jednak metylaci cytosinových zbytků v molekule DNA, jednak acetylaci nebo jiné modifikace histonů. To má za znesnadňuje nebo naopak usnadňuje přístup enzymů podílejících se na přepisu genu k DNA. Nemohou-li se transkripční faktory ke genu dostat, nemůže dojít k přepisu a konečný výsledek je stejný jako v případě, že gen je inaktivován mutacemi nebo je jeho přepis blokován interakcí se syntetickými nebo přirozenými komplementárními oligonukleotidy. Nadměrná methylace cytosinu v DNA přepis genu znemožní, zatímco acetylace histonů jej naopak usnadní. Epigenetické změny jsou reverzibilní, což umožňuje provádění oprav pozměněných genů a obnovení jejich původní funkce. Studium nádorových buněk ukázalo, že je v nich zastoupení 5-methylcytosinu v DNA vyšší než v normální tkáni a naopak stupeň acetylace histonů v chromatinu je nižší. Inhibitory DNA-methyltransferas nebo histondeacetylasy proto mohou být protinádorovými léčivy.

DNA je methylována DNA-methyltransferasami. K methylaci dochází téměř výlučně v sekvencích CpG, které se často vyskytují v promotorových oblastech. Důsledkem je epigenetické „umlčení“ genů. Inhibice DNA-methyltransferas může hypermethylaci DNA zvrátit. Methylová skupina se váže do polohy 5 cytosinového zbytku, vznikající 5-methylcytosin je deaminován snáze než nemethylovaná báze. Přitom dochází k mutaci, protože produktem deaminace je thymin. Hypermethylace DNA proto vnáší do genomu chaos a nestabilitu. Inhibitory DNA-methyltransferas mohou být využity k léčbě poruch a onemocnění zapříčiněných umlčením genů a/nebo genetickou nestabilitou. Účinnými inhibitory jsou 5-azacytidin a decitabin, které byly zmíněny mezi antimetabolity pyrimidinových složek NA. Obě látky se používají k léčbě myelodysplastického syndromu, hematologického onemocnění, které často předchází leukemii, v několika dalších indikacích jsou zkoušeny v kombinaci s jinými protinádorovými léky. Klinicky jsou zkoušeny i 5,6-dihydro-5-azacytidin, 5-fluor-2'-deoxycytidin a chemicky zcela odlišný hydralazin. Několik dalších inhibitorů DNA-methyltransferas je testováno preklinicky.



Histony jsou bázecké bílkoviny, kolem nichž je v buněčném jádře ovínutá DNA. Přitom vždy dva závitky dvoušroubovicové DNA ovíjí komplex tvořený dvojicemi 4 histonů. Přitom vznikají nukleosomy, strukturální podjednotky chromatinových vláken, které jsou vzájemně propojeny komplexem DNA s jedním histonem.

V molekulách histonů je mnoho lysinových zbytků s volnými aminoskupinami, které mohou být acetylovány, methylovány, fosforylovány, ubikvitinovány apod. Modifikacemi volných aminoskupin lysinu, zejména acetylací, jsou ovlivňovány interakce histonů s jinými bílkovinami, jakými jsou faktory regulující replikaci a transkripci DNA a patrně i enzymy podílející se na opravách a metabolismu DNA. Kromě toho ovlivňují modifikace histonů jejich stabilitu, protože na acylované aminoskupiny se nemůže navázat ubikvitin a tím je zablokována degradace histonů v proteasomech. Acetylací histonů nebo naopak odštěpením acetyl skupiny může být regulována řada buněčných procesů. Odštěpení acetyl skupiny katalyzuje enzym histondeacetylaza (HDAC). Při některých nádorových onemocněních, zejména hematologických malignitách, je aktivita tohoto enzymu v nádorových buňkách zvýšena. Inhibitory HDAC proto mohou být využity v jejich terapii. HDAC je metaloprotein, který pro svoji aktivitu potřebuje zinek. Proto byly inhibitory hledány mimo jiné mezi látkami, které mohou zinek vázat. Jako první léčivo z této skupiny byl v říjnu 2006 povolen vorinostat (suberoylanilidhydroxamová kyselina, SAHA – Zolinza, Merck.), a to pro terapii jednoho typu lymfomu.



Vorinostat

(SAHA, anilid suberoylhydroxamové kyseliny)

Jako další inhibitory HDAC jsou studovány některé jiné hydroxamové kyseliny, 2-aminoanilidy substituovaných benzoových kyselin a některé další chelátující látky včetně přírodních produktů. HDAC lze však inhibovat i jinými mechanismy a zajímavé je, že účinnými inhibitory tohoto enzymu jsou i jednoduché mastné kyseliny – klinicky zkoušena je kyselina másečná a valproová (2-ethylmásečná kyselina).

Genová terapie

Genová terapie je založena na vnášení celých funkčních genů do organismu.

Teoreticky může být do buněk vnesen „nahý“ gen, samotná kódující DNA. Prakticky použitelné je však vnesení genu do buněk pomocí vhodného „vektoru“. Zatím to jsou většinou viry (nejčastěji adenoviry) upravené tak, že je eliminována jejich patogenita, některé neviróvé vektory jsou zkoušeny. Genová terapie byla poprvé využita při léčbě závažné kombinované imunodeficiencie (SCID, severe combined immunodeficiency) způsobené mutací genu, který zajišťuje růst a zrání buněk imunitního systému. Nemoc je našťastí velmi vzácná. Gen se vyskytuje na nepárovém chromosomu, takže SCID postihuje jen chlapce, kteří pro nefunkčnost imunitního systému mohou snadno podlehnout i lehkým nákazám. Aby se jim vyhnuli, musí žít v aseptickém prostředí. To jim zajišťují plastové vaky, „bubliny“, naplněné filtrovaným vzduchem, nemoc je proto anglicky nazývána „bubble boy disease“. Přes veškerou péči se postižení chlapi dožívali v průměru jen 12 let. Léčení mohli být jen transplantací kostní dřeně. Ta však nemusí vždy být úspěšná a kromě toho je komplikována obtížemi při hledání vhodného dárce. Genová terapie byla z počátku považována za velký přínos, patnáct chlapců z 18 bylo úspěšně vyléčeno vnesením funkčního genu. Pak se však vyskytly komplikace, když jeden z léčených chlapců onemocněl leukémií. Ukázalo se, že vnesený gen se dostal do blízkosti genu, který se podílí na regulaci buněčného dělení. Ten přitom byl aktivován a spustil procesy vedoucí ke vzniku nádorového onemocnění. Další zkoušky genové terapie proto byly v říjnu 2002 pozdrženy do doby, kdy budou získány lepší předpoklady, že pacienti se uzdraví a ne onemocní jinak. Po získání nových poznatků byly po 22 měsících zkoušky obnoveny, avšak v r. 2005 další z pacientů léčených před třemi lety vnesením funkčního genu rovněž onemocněl leukémií. Zkoušky byly znovu pozastaveny. Hledány jsou možnosti selektivního vnesení genů na taková místa genomu, kdy by riziko nežádoucí aktivity sousedních genů neohrožilo. Podaří-li se dosavadní obtíže překonat, stane se genová terapie důležitou léčebnou metodou.

Při léčbě nádorových onemocnění se genová terapie může uplatnit zejména v těch případech, kdy původní („divoký“, wild) tumorsupresorový gen nebo jiný důležitý gen kontrolující buněčnou proliferaci, je mutován nebo jinak poškozen a nemůže proto plnit svoji funkci.

Jeden ze zkoušených přípravků pro genovou terapii nádorových onemocnění, kontusgen ladenovek (Advexin, Introgen Therapeutics) obsahuje lidský gen *p53* a promotor cytomegaloviru zabudované do adenoviru 5 místo virových genů *E1A* a *E1B*. Při klinických zkouškách byl virový vektor s funkčním tumorsupresorovým genem vstříknut pacientům přímo do nádoru. U 29% pacientů došlo ke zmenšení nádoru a interval do progresu nádoru činil více než 12 měsíců, u 48% pacientů došlo k nejméně tříměsíční stabilizaci onemocnění. Žádné dlouhodobé toxické účinky nebyly zjištěny (doba sledování 2,3 – 46,5 měsíců). Při léčbě melanomu nebo v kombinaci s radioterapií je zkoušen přípravek je INGN-241 (Introgen Therapeutics), který kóduje IL-24 (neboli protein mda-7), který působí jednak jako tumorsupresor, jednak jako cytokin regulující imunitní systém. TNF erade (Biologic) je přípravek obsahující gen pro faktor nekrózy nádorů zabudovaný do adenovirového vektoru. Je zkoušen při léčbě nádorů pankreatu, hlavy a krku, kolorektálního karcinomu a melanomu v kombinaci s chemoterapií a/nebo radioterapií. Podobným přípravkem pro genovou terapii je Ad5-TRAIL (University of Iowa), adenovirový vektor s lidským genem kódujícím TRAIL, který postoupil do fáze I klinických zkoušek.

Jinou možností genové protinádorové terapie představuje vpravení „sebevražedných“ genů do nádorových buněk (gen z viru Herpes simplex kódující thymidin kinasu, po jehož vnesení se stávají nádorové buňky vysoce citlivé na antivirotikum gancyklovir) nebo genů, které kódují enzymy štěpící v nádorových buňkách neškodná profarmaka na cytotoxické produkty. Genová terapie by se mohla uplatnit i při posílení odolnosti normálních buněk vůči cytostatikům a konečně při genetické imunomodulaci, ke zvýšení antigenního charakteru povrchu nádorových buněk nebo znásobení počtu genů zodpovědných za produkci různých cytokinů v nádorových buňkách.

Léčba nádorových onemocnění pomocí některých mutant virů a bakterií

Viroterapie je postup, který je úzce příbuzný s některými metodami genové terapie.

Viroterapie využívá onkolyticky účinné mutanty adenovirů nebo virů Herpes simplex, které se v normálních buňkách mohou množit jen omezeně, ale velmi dobře v nádorových buňkách. Takovým virem je např. modifikovaný adenovirus ONYX-015, který selektivně zabíjí buňky obsahující mutovaný tumorsupresorový gen *p53*, zatímco na buňky s funkčním genem *p53* nepůsobí. Jiný virus upravený metodami genového inženýrství působí podobně na buňky s mutovaným genem *Rb*.

Kromě terapie mutovanými viry byla navržena i léčba nádorových onemocnění „**bakterioterapií**“.

Ta by byla založena na využití mutant bakterií *Salmonella typhimurium*, které se při preklinických zkouškách přednostně množily v nádorových tkáních s deficitem *p53*.

Podobně jako u genové terapie vystupuje ovšem při viroterapii a bakterioterapii do popředí otázka bezpečnosti léčby, která vyžaduje dlouhodobé zkoumání. Nelze proto očekávat, že by v brzké době byli onkologičtí pacienti léčeni tím, že budou infikováni.

Závěr

Protinádorová léčiva, která byla v minulosti dosti opomíjená, představují dnes nejrychleji se rozvíjející skupinu léčiv. Na trhu si vydobily významné postavení, v r. 2005 dosáhly prodeje protinádorových léčiv asi 10% celkového obrátu za všechna léčiva a jejich podíl se neustále zvyšuje. Rychle přibývají nová protinádorová léčiva ve výzkumu a vývoji. Mezi léty 1995 a 2005 se jejich počet zvýšilo 138% z 299 na 713, zatímco celkový počet všech vyvíjených léčiv vzrostl jen o 88% na 2375. Mezi léty 2000 a 2005 činil podíl prací věnovaných onkologii 40% ze všech farmakochemicky zaměřených publikací. I když výzkum a vývoj klasických protinádorových léčiv dále pokračuje, do popředí se dostávají zejména cílená léčiva, jejichž podíl dosáhl 39% v r. 2005. Mezi přípravky zkoušenými ve fázi 2 a 3 sice stále ještě převládají klasická syntetická léčiva, v preklinickém a raně klinickém vývoji se však situace mění a do popředí se dostávají přípravky pro „biologickou“ terapii, jako jsou monoklonální protilátky, rekombinantní proteiny a dokonce i přípravky pro genovou terapii. Nová léčiva přinesla řadu léčebných úspěchů, musí se však potýkat se závažným problémem vysokých cen, které často nemohou pojišťovny z běžného pojištění hradit.

Přes úspěchy nových přípravků a obrovské úsilí věnované výzkumu a vývoji nových protinádorových léčiv i dalších způsobů protinádorové terapie lze předpokládat, že se asi nikdy nepodaří všechna onemocnění shrnovaná pod pojmem rakovina úplně vyléčit. S velkou pravděpodobností však lze očekávat, že příští léta přinesou i onkologickým pacientům prodloužení doby života a podstatné zvýšení jeho kvality. Je proto třeba si přát, aby i nadále pokračoval trend prudkého rozvoje výzkumu a vývoje nových a lepších protinádorových léčiv.

