

# Protinádorová léčiva I – základní informace

## Úvod

**Rakovina** (pojem, který onkologové nemají rádi) není jedinou nemocí, ale zahrnuje velký počet různých onemocnění s určitými společnými rysy, zejména poměrně rychlým a nekontrolovaným růstem a množím buněk. Lékaři někdy hovoří o tom, že existuje téměř 2000 typů zhoubných (maligních) nádorů a příbuzných hematologických onemocnění.

Nádory neboli tumory (z latinského *tumeo*, nadýmat se), jsou tvořeny abnormálně narostlou hmotou tkáně. Narušují původní tvar tkáně a proto bývají také nazývány novotvary. Mohou být nezhoubné, benigní, které neprorůstají do sousedních tkání, nebo zhoubné, maligní, které se nekontrolovaně rozrůstají a šíří. Z původního, primárního nádoru se mohou uvolňovat nádorové buňky, zachycovat ve vzdálených tkáních a tam vytvářet sekundární nádory, metastázy. Zhoubné nádory rakovinového původu bývají nazývány karcinomy (z řeckého *karkinos* – rak). K označování různých typů nádorů se často používá lékařský název tkáně nebo buněk, z nichž nádor vychází a koncovka –om: např. lymfom – nádor vycházející z lymfatické tkáně, myelom nádor vycházející z kostní dřevě (z řeckého *myelos* – morek kosti), -karcinom, např. adenokarcinom je nádor vycházející ze žlázového epitelu (*adenos* = žláza), nebo někdy i -sarkom, který obecně označuje zhoubné nádory vycházející z pojivové (vazivo, chrupavka, kost), krvetvorné a lymfatické tkáně (fibrosarkom, osteosarkom, lymfosarkom). Hlavními maligními hematologickými onemocněními jsou leukémie (z řeckého *leukos*, bílý a *aima*, krev), nádorová onemocnění vycházející z krvetvorné tkáně a lymfatických uzlin.

Některá nádorová onemocnění jsou poměrně častá, jako např. nádory plic nebo prsu, jiná se vyskytují jen zřídka. Všechna jsou však obávaná. Léčba je obtížná, zatěžuje pacienta nežádoucími vedlejšími účinky a mnohdy jen o něco prodlouží život pacienta. V celosvětovém žebříčku příčin úmrtí zaujímá rakovina druhé místo za onemocněními a poruchami kardiovaskulárního systému, ve vyspělých zemích se však již dostala na místo první.

**Hlavní příčiny úmrtí v r. 2004\* (tabulka podle: WHO, The global burden of disease: 2004 update)**

Příčina	Celý svět			Vyspělé země			Rozvojové země		
	Pořadí	Počet**	%	Pořadí	Počet**	%	Pořadí	Počet**	%
Nemoci srdce a cév	1	9.923	15,1	2	1.563	19,3	1	7.342	14,5
Rakovina*	2	7.424	12,6	1	2.154	26,6	2	5.255	10,4
Mozkové příhody	3	5.712	9,7	3	757	9,4	3	4.949	9,8
Infekce dýchacího traktu	4	4.177	7,1	4	305	3,8	4	3.910	7,7
Novorozenecká úmrtnost	5	3.180	5,4		35	0,4	5	3.141	6,2
Chronická obstrukční plicní nemoc	6	3.025	5,1	5	285	3,5	6	2.737	5,4
Průjmová onemocnění	7	2.163	3,7		14	0,2	7	2.148	4,2
HIV/AIDS	8	2.040	3,5		20	0,2	8	2.018	4,0
Tuberkulóza	9	1.464	2,5		15	0,2	9	1.448	2,9
Dopravní nehody	10	1.272	2,2		114	1,4	10	1.158	2,3
Cukrovka	11	1.141	1,9	7	221	2,7		914	1,8
Malárie	12	889	1,5		0***	0,0		888	1,8
Sebevraždy	13	844	1,4	9	118	1,5		707	1,4
Cirhóza jater	14	772	1,3	10	116	1,4		655	1,3
Onemocnění ledvin	15	739	1,3	8	126	1,6		611	1,2
Veškeré příčiny		58.772	100,0		8.095	100,0		50.582	100,0

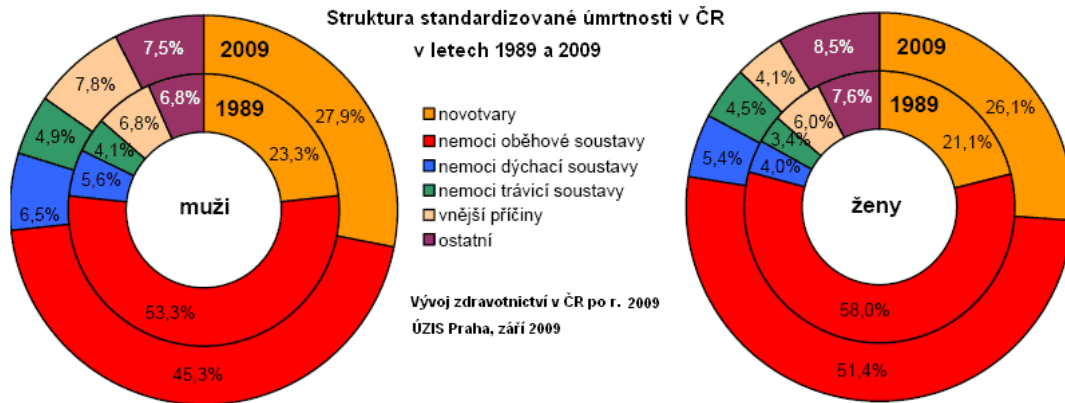
\*) Novější statistiky WHO neuvádějí nádorová onemocnění souhrnně, ale podle jednotlivých typů nádorů. Důsledkem je, že se nádorová onemocnění (s výjimkou nádorů plic) mezi hlavními příčinami úmrtí neobjevují na předních místech.

Čísla v této tabulce jsou součtem pro všechna nádorová onemocnění s výjimkou nezhoubných kožních nádorů

\*\*\*) údaje v tisících

\*\*\*) zaokrouhleno (počet < 500)

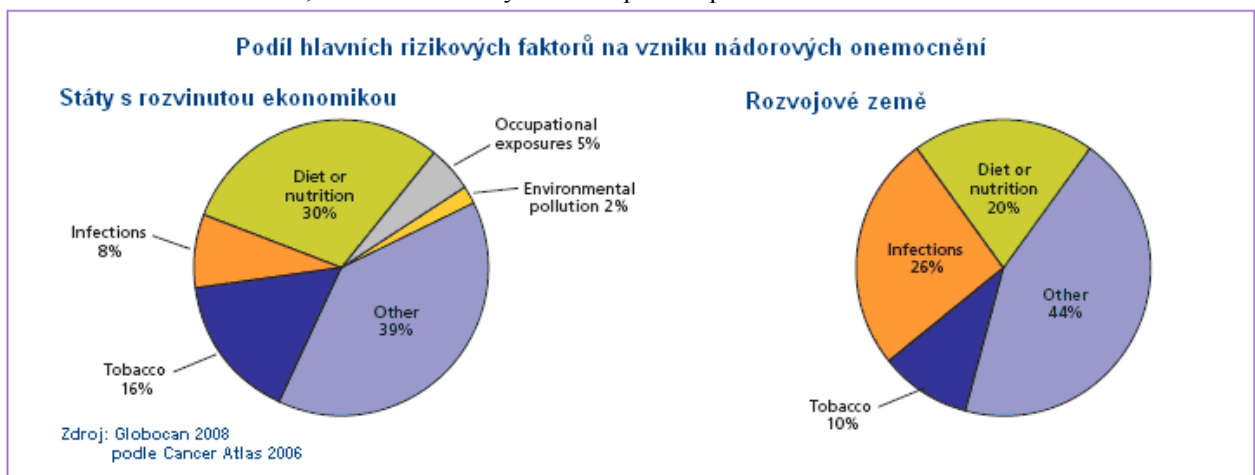
V r. 2008 byla podle zprávy Globocan 2008 ve světě nově diagnostikována nádorová onemocnění (bez nemelanomových nádorů kůže) u 12,7 mil. pacientů (u 6,62 mil. mužů a 6,04 mil. žen). Z toho bylo 1,61 mil. případů nádorů plic, 1,38 mil. nádorů prsu, 1,24 nádorů střev a konečníku, 989 tis. pacientů trpělo nádory žaludku, 899 tis. nádory prostaty a mezi nejčastější nádorová onemocnění s výskytem nad půl milionu případů se ještě zařadily nádory jater (750 tis.) a děložního čípku (530 tis.). Celkem 7,6 mil. pacientů (z toho 4,22 mil mužů a 3,36 mil žen) na nádorová onemocnění zemřelo, nádorová úmrtí se tak podílela na všech úmrtích 13%. Nejčastější příčinou úmrtí byly opět nádory plic (1,38 mil.) následované nádory žaludku (737 tis.), jater (696 tis.), střev a konečníku (609 tis.). Výskyt (incidence) nádorových onemocnění roste a do r. 2025 se má ve světě zvýšit až o 50%. V ČR bylo v posledních letech diagnostikováno každý rok v průměru o 2,5% případů více než v roce předchozím. Navzdory rostoucímu výskytu by mortalita na nádorová onemocnění měla klesat a podle prohlášení WHO ke dni rakoviny 4.2.2012 by se při celosvětovém boji proti tomuto onemocnění mohla do r. 2025 snížit o 25%.



Příčiny rostoucího výskytu nádorových onemocnění bývají hledány v různých environmentálních faktorech. Sřízlivý rozbor dat však ukazuje, že tyto faktory sice mohou přispívat ke vzniku nádorových onemocnění, zdaleka však nejsou jejich hlavní příčinou. Látky, které jsou prokazatelně kancerogenní nebo jen z kancerogenity podezříváné jsou z našeho prostředí vylučovány, popř. se zlepšuje ochrana proti jejich účinkům tam, kde je třeba s nimi pracovat. Medializovány jsou fámy, o nichž se zjistí, že nejsou ničím podložené nebo vycházejí z nespolehlivých dat. Např. mikrovlnné záření z mobilních telefonů je podezříváno, že vyvolává nádory mozku, hlavy a krku nebo leukemii. Např. ale z rozsáhlé dánské studie, při níž byl sledován výskyt nádorových onemocnění u 400 tis. obyvatel země používajících 10-21 let mobilní telefony, vyplynulo, že sledované ukazatele (výskyt – incidence, nemocnost – morbidita a úmrtnost – mortalita na nádorová onemocnění) se ve stejných věkových skupinách nezvyšovaly nebo byly dokonce o něco nižší (v rámci statistických chyb ale stejné), než údaje ze statistik z doby před zavedením mobilních telefonů. Jiné studie však přinesly opačné výsledky. Mnozí lidé se domnívají, že riziko vzniku nádorových onemocnění zvyšuje radioaktivní záření z jaderných elektráren. To je při běžném provozu minimální, ale roste při haváriích, k jakým došlo v Černobylu nebo nedávno ve Fukušimě. I v těchto případech byly však obavy větší než riziko. Při příležitosti 20 výročí havárie v Černobylu byla však publikována 600 stránková zpráva zpracovaná experty OSN a WHO, z níž vyplynulo, že počet obětí byl mnohem nižší, než se předpokládalo. V blízkém okolí (do 30 km od elektrárny) se výrazně zvýšil výskyt nádorů štítné žlázy. Zjištěno bylo asi 4000 případů, zejména u dětí a adolescentů. Díky zvýšené léčebné péči však žilo 20 let po havárii 99% postižených. S výjimkou pracovníků, kteří havárii likvidovali a byli vystaveni mimořádným dávkám záření, překvapivě nenarostl výskyt leukemie. I když v důsledku havárie došlo k zamoření rozsáhlých území radioaktivním spadem, trendy výskytu rakoviny ve střední a východní Evropě se ani po Černobylu nezhoršily. V ČR představuje přirozená radioaktivita prostředí a bydlení v „radonových domech“ nebo ozáření při některých diagnostických postupech (CT) nesrovnatelně větší riziko než spád z Černobylu. Lidé však různým fámám rádi věří, zejména když mohou svádět svá onemocnění na příčiny, které nemohli ovlivnit, místo na nezdravý životní styl. Při posuzování vlivu environmentálních faktorů na vznik rakoviny (ale i některých dalších nemocí) se uplatňují dva přístupy. Podle jednoho, který převažuje, různé látky a faktory škodí i v minimálním množství, podle druhého (teorie hormese) je působení přiměřeně malého množství stresových podnětů výhodné, protože se organismus učí bránit se jim.

Účinků kancerogenních faktorů se nelze zcela vyhnout, lze je však omezovat.

Podle materiálů Světové zdravotnické organizace WHO je příčinou asi 30% úmrtí na nádorová onemocnění 5 hlavních behaviorálních a dietetických faktorů: obezita, nedostatečná konzumace ovoce a zeleniny, malá tělesná aktivita, kouření a pití alkoholu. Infekce se mají podílet na 20% onemocnění. Podíl znečištění životního prostředí na riziku vzniku nádorových onemocnění má podle Cancer Atlas činit pouhých 2%. Z fyzikálních faktorů stojí v popředí ultrafialová složka slunečního záření, které k nám ve zvýšené míře proniká přes oslabenou ozónovou vrstvu.



Hlavním zdrojem silně kancerogenních látek, které se dostávají do těla, jsou dehtovité polyaromáty vdechované při kouření. Ještě na počátku 20. století byly nádory plic poměrně vzácným onemocněním. V souvislosti s kouřením však od 30. let výskyt těchto nádorů i úmrtnost na rakovinu plic trvale rostou, poslední době hlavně u žen. Výjimkou je USA, kde již boj proti kuřáctví začal přinášet pozitivní výsledky. Podíl kouření na úmrtnosti na nádory plic činí asi 71%, kouření se však podílí i na vzniku dalších nádorových onemocnění. Přes různá ochranná opatření je stále ještě riziková práce se škodlivými látkami v zaměstnání (rozpuštědla, těžké kovy, asbestová i skelná vlákna apod., ale třeba i život na dobytčářských farmách nebo pobyt v zakouřeném prostředí). Zvýšené riziko vzniku nádorů jícnu, žaludku, jater a močového měchýře je spojeno s konzumací červeného masa, bílé maso má naopak riziko snižovat. Ženy konzumující větší množství tuků obsahujících cholesterol častěji onemocní s nádory prsu, rizikovým faktorem je i obezita. Nebezpečná může ale být i vegetariánská strava, protože obiloviny a některé další rostlinné potraviny mohou být kontaminovány silně kancerogenními aflatoxiny, produkty plísně *Aspergillus flavus*. Jiné kancerogenní látky mohou vznikat při úpravě potravin, např. akrylonitril při smažení bramborových lupínků, nitrosaminy vznikající z dusičnanů a dusitanů používaných ke konzervaci uzenin a dalších masných výrobků, polycyklické aromáty vznikající při přepalování tuků apod. Mezi prokázané karcinogeny byla nedávno zařazena kyselina aristolochová, složka některých rostlin používaných v tradiční čínské medicíně. Z našich léčivých rostlin může být nebezpečný kostival obsahující kancerogenní pyrrolizidinové alkaloidy. Rakovinu mohou způsobovat i některé léky, nebezpečné jsou paradoxně zejména některé protinádorové léky. Nadměrná konzumace tvrdého alkoholu zvyšuje riziko vzniku nádorů jícnu, střev, jater a slinivky břišní. Prospěšná má naopak být přiměřená konzumace červeného vína obsahujícího některé přirozené antioxidanty, jako je resveratrol. Ten byl dokonce nazýván elixírem mládí, nedávno se však ukázalo, že autor řady prací o resveratrolu, Dipak Das řadu výsledků studia resveratrolu falšoval. Dalším rizikovým faktorem je působení složky ultrafialového záření ze slunce, ale i z umělých zářičů v soláriích. Ultrafialové záření vyvolává vznik volných radikálů, které poškozují DNA v ozářených buňkách. Výsledkem je nárůst výskytu nádorů kůže, včetně zhoubných melanomů, který je zvláště vysoký v zemích jižní polokoule. Škodlivý vliv těchto faktorů na svoje zdraví může omezit prakticky každý. Teprve na dalších místech se ve vyspělých zemích mezi rizikovými faktory objevují infekce (papiloma viry způsobující infekce pohlavních orgánů, které předchází nádorům děložního čípku i dalších orgánů, některé žloutenkové viry, HIV, který je příčinou Kaposiho sarkomu provázejícího AIDS, bakterie *Helicobacter pylori* způsobující primárně žaludeční vředy předcházející nádorům žaludku atd.). Infekce jsou jednou z hlavních příčin nádorových onemocnění v rozvojových zemích. V některých rozvojových zemích představuje významné riziko vzniku nádorových onemocnění i pitná voda, která tam je přirozeně kontaminovaná těžkými kovy, zejména arsenem.

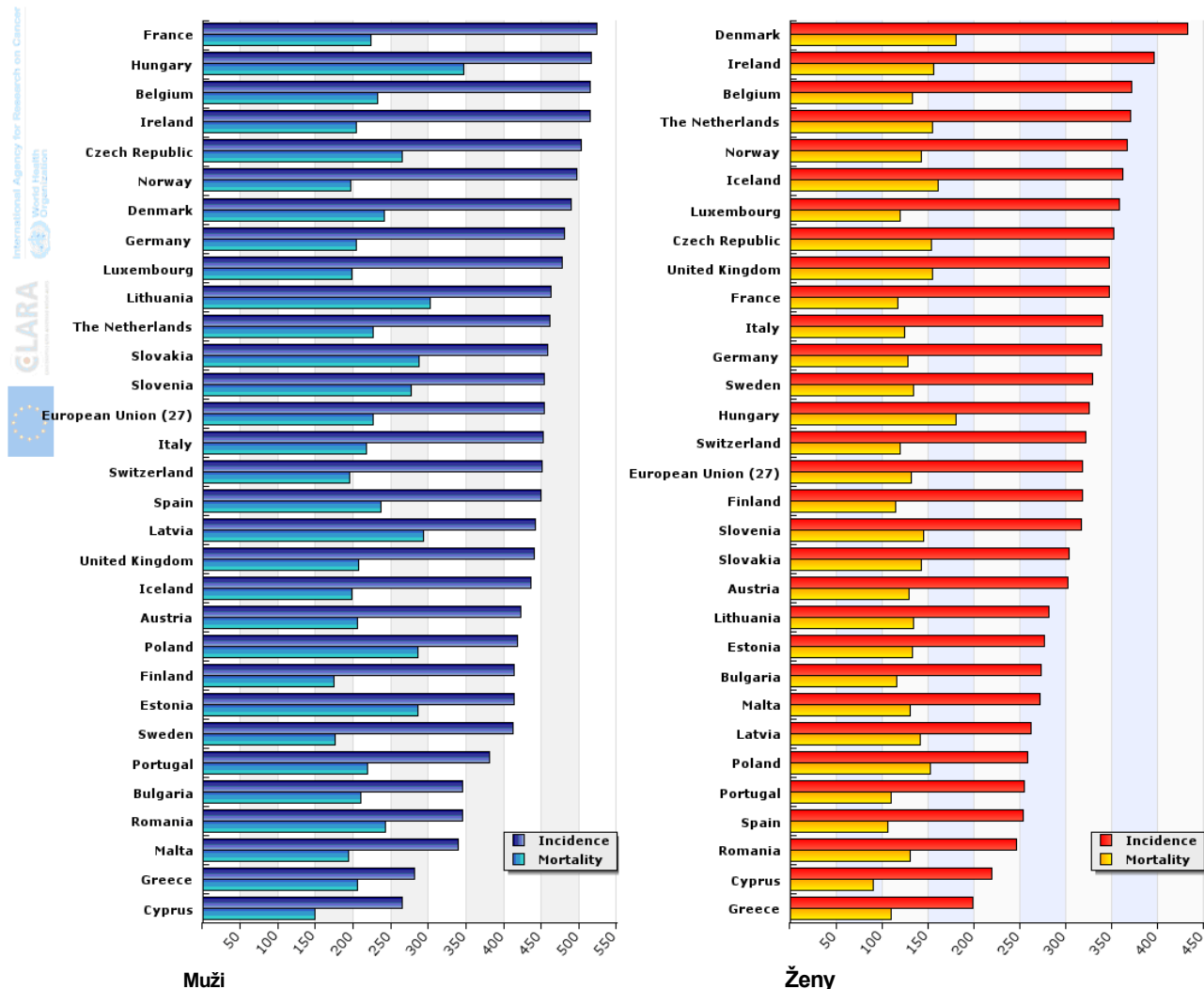
Na růstu výskytu nádorových onemocnění se výrazně podílejí i dva nerizikové faktory. Prvním je stárnutí populace. S růstem průměrné doby života se zvyšuje pravděpodobnost poruch mechanismů regulujících růst a dělení buněk. K vyšší incidenci také přispívá i častější a časnější vyhledávání známek nádorového onemocnění. To sice zvyšuje počet diagnostikovaných případů, ale současně snižuje úmrtnost pacientů, protože včasný zásah zvyšuje pravděpodobnost vyléčení.

Statistiky ukazují, že úmrtnost na nádorová onemocnění roste pomaleji než počet nově diagnostikovaných onemocnění a v některých vyspělých zemích v posledních letech se dokonce mortalita snížila. Od r. 2002 klesala např. v USA od r. 2002 úmrtnost mužů na nádorová onemocnění v průměru o asi 1,5% za rok, u žen od r. 1992 o 0,8%. Snížení úmrtnosti je způsobeno omezováním kouření, včasnější diagnózou, ale zejména moderní protinádorovou terapií. Pokrok ještě lépe ilustruje počet pacientů přežívajících dobu 5 let od diagnózy nádorového onemocnění, celková doba přežití nebo kvalita života nemocných. V r. 1976 mělo jen asi 50% pacientů, kterým byla právě diagnostikována rakovina, naději, že budou za 5 let ještě žít. V r. 1993 to už bylo 64% a toto procento se nadále zvyšuje, i když už pomaleji. Zatímco v r. 1970 bylo v USA naživu pouze 3 mil. pacientů přežívajících po léčbě rakoviny, nyní to je přibližně 12 mil., tedy asi 4% populace. Zlepšily se zejména vyhlídky pacientů s nádory prsu, prostaty nebo s lymfomy, u některých nádorů (plíce, pankreas apod.) je však mortalita stále vysoká. Je proto třeba i nadále stále usilovat o zlepšení léčby pacientů.

Základní a často jedinou možností naprostého vyléčení je chirurgické odstranění nádoru. Účinný chirurgický zákrok lze však provést jen u některých typů nádorového onemocnění, a to v jejich časných stádiích. Tam, kde chirurg nemůže při svém zákroku zajistit úplné odstranění všech nádorových buněk ze zasažené tkáně i případných metastáz nebo vůbec nemůže zasáhnout, musí onkologové využít další možnosti boje s rakovinou. Vedle radioterapie to je **nasazení protinádorových léčiv**.

Moderní účinná léčba nádorových onemocnění, ať již jde o složité chirurgické zákroky nebo transplantace kostní dřeně, aplikace sofistikovaných metod radioterapie nebo terapie léčivy zacílenými na nádorové buňky je však finančně náročná. Jestliže mortalita na nádorová onemocnění v USA klesá, pak je to způsobeno tím, že se tam na protinádorovou léčbu vydává podstatně více peněz než v jiných zemích světa. Podle statistik WHO připadá asi 70% všech úmrtí na rakovinu na země s nejnižšími a středními příjmy na obyvatele (a tím i nižším HDP)

Srovnání incidence a mortality na nádorová onemocnění v zemích EU (rok 2008)



Údaje podle výskytu/úmrťí na rakovinu (kromě nemelanomových nádorů kůže) připadajících na 100.000 obyvatel

Zdroj: Podle: European Cancer Observatory

Vývoj protinádorových léků dříve nebyl pro farmaceutické firmy zajímavý. Situace se ale změnila.

Úspěchy nových protinádorových léků mají velkou publicitu a příznivý ohlas u veřejnosti. To zlepšuje image výrobců i hodnotu jejich akcií. Podle jedné statistiky je v současnosti věnována protinádorovým léčivům téměř polovina kapacity farmaceutického výzkumu. Jen v USA mělo být v r. 2011 podle Americké asociace farmaceutických firem ve vývoji nebo schvalování 887 nových protinádorových léčiv, zatímco v r. 1988, to bylo pouze 65. Mezi 100 nejdůležitějších klinicky testovaných léků za rok 2010, které vybírá časopis *R&D Directions* věnující se farmaceutickému výzkumu a vývoji, bylo zařazeno celkem 35 protinádorových léků, podstatně více než léků z jiných terapeutických skupin. Povolovány jsou nové indikace nebo kombinace již dříve schválených léčiv. Roste i počet pacientů léčených chemoterapií. Ještě rychleji však rostou ceny nově zaváděných protinádorových léků. To vše se promítá do růstu tržeb farmaceutických firem, takže protinádorové léky přinášejí výrobcům zisky srovnatelné s léky jiných skupin. Prvními protinádorovými léky, jejichž prodeje (před nástupem generik) přesáhly 1 mld. \$ za rok, byly Paraplatin (karboplatin) a zejména Taxol (paklitaxel). Dnes je však takových léků již nejméně desítky a tržby Novartisů za (imatinib) dosáhly dokonce 3,67 mld. \$. Zatímco prodeje léků pro jiná onemocnění spíše stagnují, nárůst tržeb za mnohá protinádorová léčiva je dvouciferný (např. prodeje imatinibu vzrostly v r. 2008 proti roku 2007 o 20%). Rychlý růst prodeje léků ATC skupiny L o 10-14% ročně pokračoval do r. 2010 a zatím nadále zůstane vysoký.

Výzkum léčby rakoviny je podporován granty vládních i dalších institucí, takže je pro farmaceutické firmy méně nákladný než vývoj plně financovaný z vlastních zdrojů. Navíc mohou farmaceutické firmy využívat výsledky výzkumu prováděného na vysokých školách a dalších institucích.

V r. 1954 bylo zahájeno v americkém Národním ústavu pro rakovinu (National Cancer Institute, NCI) rozsáhlé vyhledávání nových protinádorových léčiv. V průběhu 3 desetiletí pak bylo v NCI otestováno 83 tis. syntetických látek, 17 tis. přirozených látek z rostlin a prakticky všechna antibiotika a další produkty fermentace připravené v různých zemích. Přitom byla objevena některá důležitá protinádorová léčiva, např. paklitaxel obsažený v kůře tisu. Výsledky byly za výhodných podmínek nabídnuty farmaceutickým společnostem k dokončení vývoje. NCI pokračuje v testování různých potenciálně zajímavých látek dodnes. Každý, kdo připraví nové zajímavé látky, může NCI požádat o bezplatné základní otestování jejich účinnosti proti nádorovým onemocněním a HIV.

Dosáhnout úspěchu při výzkumu a vývoji nových léčiv léků je však v současné době obtížnější než dříve. Vyšší nároky jsou kladeny zejména na účinnost a bezpečnost nových léků.

Protinádorové léky (podobně jako celá řada jiných léků určených pro terapii onemocnění ohrožujících život) nejsou zkoušeny proti placebo, ale srovnávají se s momentálně nejlepší dostupnou léčbou. Nové léky proto musí mít prokazatelně lepší vlastnosti než léky dosavadní, např. musí prodloužit průměrnou dobu přežití pacienta nejméně o 15%.

Na druhé straně usnadňuje dnes vývoj moderních protinádorových léků stále se prohlubující poznání mechanismů regulace růstu a dělení buněk, jakož i příčin, proč se normální buňka změní na maligní, zhoubnou nádorovou buňku, která se pak nekontrolovatelně množí. Lepší poznání buněčné biologie a biochemických procesů probíhajících v nádorových buňkách přineslo nová protinádorová léčiva, která jsou mnohem selektivněji než dosavadní cytostatika. Někdy proto jsou nazývána **cílená** nebo **směřovaná léčiva** (targeted drugs).

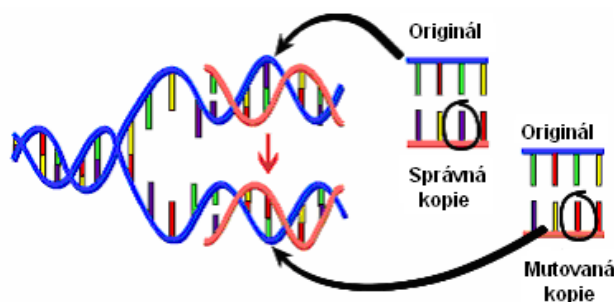
O jejich použití hovoří někteří autoři jako o „biologické léčbě“, jiní za „biologická léčiva“ považují jen biopolymery určené pro terapii, jako jsou monoklonální protilátky a další terapeutické oligopeptidy a bílkoviny, oligonukleotidy i celé geny s jejich vektory apod.

## Příčiny nádorových onemocnění.

Primární příčinou nádorových onemocnění je **nahromadění poruch genů**, které řídí růst a dělení, diferenciaci a smrt buněk v organismu. Na vzniku poruch genů, **mutacích**, se podílí řada faktorů.

Mutace mohou být genové, chromosomální nebo genomové. **Genové mutace** jsou způsobeny záměnou bází DNA, vložením nadbytečných (inzerce) nebo naopak vynecháním (delece) bází.

Záměna jedné báze v řetězci DNA genu se nazývá jednonukleotidový polymorfismus (SNP – single nucleotide polymorphism – pozor – nezaměňovat s polymorfií krystalů látek). Někteří autoři rozlišují mezi mutacemi a polymorfismem genů podle jejich četnosti: za mutace považují takové změny genomu, které postihují méně než 2% populace, jsou-li změny četnější, mluví o polymorfismu

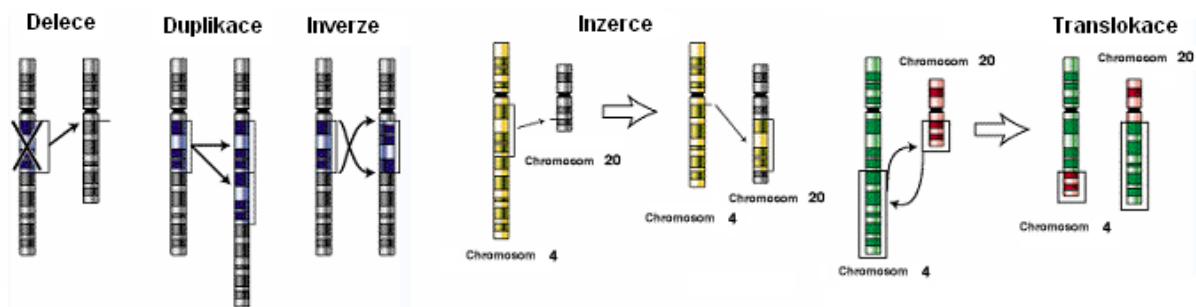


Výsledkem záměny bází v nukleotidových sekvencích DNA jsou změny struktury bílkovin, které jsou genem kódovány. Pokud tyto změny znamenají záměnu aminokyseliny v aktivním nebo alosterickém místě, může mít mutovaná bílkovina nižší aktivitu nebo úplně ztratit svoji funkčnost. Některé mutace mohou naopak mít za následek i zvýšení aktivity bílkovinného produktu. Funkčnost bílkovinného produktu může být ovlivněna i mutacemi, které způsobí, že některá trojice nukleotidů se změní na „stop“ kodon (TAA, TAG nebo TGA), který je pokynem pro ukončení translace, takže výsledná bílkovina je pak zmenšená. Vložení (inzerce) nebo vynechání (delece) jedné nebo dvou bází se projevuje změnou čtecího rámce. Část nebo i celý bílkovinný produkt translace je pak tvořen zcela jinými aminokyselinovými řetězci než původní bílkovina a ztratí proto svoji původní funkci.

**Chromosomální mutace** jsou charakterizovány zlomy a přestavbou struktury chromosomů, při nichž dochází ke změnám počtu kopií (delece, multiplikace) nebo místa výskytu přesunem genů nebo jejich úseků (inzerce, translokace) z jednoho chromosomu na druhý. Výsledkem pak může být abnormální počet kopií genu a tedy i jeho nedostatečná nebo naopak nadměrná exprese.

Nadměrná exprese genů kódujících receptory pro růstové faktory může vést k tomu, že se buňka rychleji dělí, i když vnější signály zprostředkované růstovými faktory jsou jen velmi slabé. Neblahé následky pro buňku může mít i translokace genů. Např. výsledkem přesunu genu *abl*, z chromosomu 9 na chromosom 22 je fúzní gen *bcr-abl*. Gen *abl* kóduje tyrosinkinasu, která po interakci se signální molekulou fosforyluje a tím aktivuje bílkoviny regulující buněčné dělení. Tyrosinkinasa kódovaná fúzním genem *bcr-abl* vnější signál nepotřebuje a trvale aktivuje regulační proteiny. Buňka se pak opět rychleji dělí. Zvýšená rychlost dělení se pak projeví onemocněním pacienta s fúzním genem určitým typem leukemie. Dopady na zdravotní stav mohou mít nejen změny u kódujících sekvencí DNA, exonech, ale i v nekódujících, intronech: je-li do intronu vloženo příliš mnoho opakujících sekvencí, může být příslušný chromosom „křehký“ (fragilní), což může vést k jeho zlomům nebo zeslabení. Postižený jedinec pak může trpět různými poruchami, např. pacienti se „syndromem fragilního [chromosomu] X“ jsou mentálně retardováni.

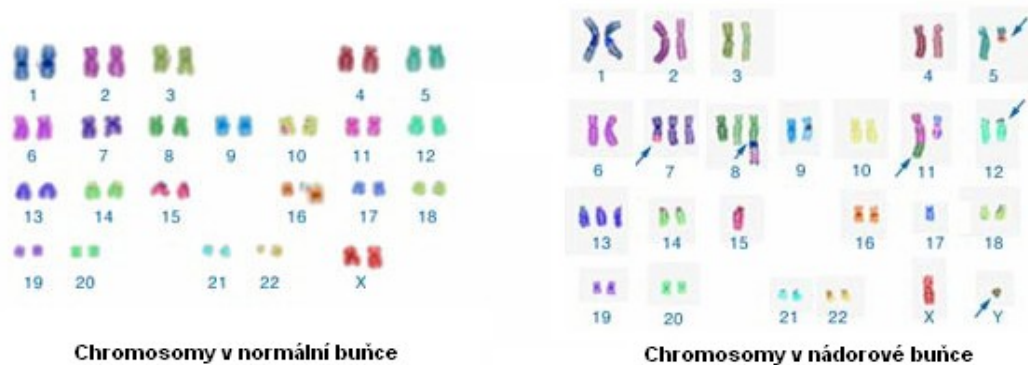
#### Příklady chromosomálních mutací



Projevem **genomových mutací** je aneuploidie, ztráta nebo naopak nadbytečná přítomnost chromosomů v buněčném jádře.

Genomové mutace jsou u nádorových buněk velmi časté, jen málo nádorových buněk má normální počet chromosomů. Zatímco v některých jiných případech je příčinný vztah jednoznačný, např. trisomie 21. chromosomu (trojice chromosomů místo páru) je příčinou Downova syndromu, u nádorových buněk stále není zřejmé, zda genomové mutace jsou příčinou nebo důsledkem nádorové transformace buňky.

#### Chromosomální a genomové mutace v nádorových buňkách



Při záměně bází se mohou neškodné **protoonkogeny** přeměnit na **onkogeny**, které pak stimulují buněčnou proliferaci. Jiné mutace mohou **inaktivovat tumorsupresorové geny** kódující bílkoviny, které naopak růst a dělení buněk zastavují tím, že poškozeným buňkám dávají signály k buněčné smrti – apoptose (viz dále). Při chromosomálních mutacích může dojít ke **zvýšené nebo trvalé aktivaci genů, které se podílejí na regulaci růstu a dělení buněk**. Nebezpečí představují i mutace **genů kódujících reparační enzymy**, které dovedou opravovat poškozenou DNA, nebo mutace genů, jejichž produkty jsou zodpovědné za **separaci chromosomů při buněčném dělení** (takové mutace mohou být příčinou aneuploidie).

Mutace mohou být **somatické**, které postihují běžné buňky tkání, nebo **gametické**, k nimž dochází v zárodečných buňkách. Somatické mutace mohou zapříčinit buněčnou smrt nebo nádorovou přeměnu buňky, se smrtí jedince ale zanikají. Gametické mutace se přenášejí na potomky, vyskytují se v jejich somatických i zárodečných buňkách a mohou tak být příčinou dědičnosti různých onemocnění, např. zvýšeného výskytu nádorových onemocnění v některých rodinách.

K mutacím může docházet **spontánně** (chybami při replikaci DNA) nebo **vlivem mutagenních faktorů**.

Ke změně protoonkogenu na onkogen může stačit záměna jediné báze, např. onkogen *ras* vznikne, je-li v sekvenci protoonkogenu GCG GGC GGT nahrazen jeden guanin za thymin: GCG GTC GGT. Frekvence mutací je největší v těch buňkách, které rychle rostou a dělí se, protože v těchto buňkách se DNA častěji replikuje a tedy může častěji docházet k chybám. Některé faktory, jako je ultrafialové záření, působení určitých chemických látek, trvalé fyzikální dráždění, infekce nebo i zděděný charakter genů, mohou frekvenci nežádoucích mutací zvyšovat. Např. pravděpodobnost mutací v buňkách plicního epitelu je asi 10x vyšší u kuřáků, kteří zásobují svoje plíce kancerogenními látkami vznikajícími při hoření cigaret, než u nekuřáků. Podle některých údajů má v průměru docházet k jedné mutaci po vykouření 15 cigaret.

Genové mutace jsou v buňkách poměrně časté, zdravý organismus se však s nimi umí vyrovnat. Mutace protoonkogenů nebo tumorsupresorových genů mohou ale být provázeny zděděným nebo postupně vznikajícím narušením **reparačních systémů buňky**, které umí vadné geny opravovat, nebo **poruchami imunitního systému organismu**, který dokáže buňky s mutacemi likvidovat. Hromadění různých poruch v genomu má pak za následek, že se buňka postupně přemění na nádorovou.

Mutace způsobující inaktivaci tumorsupresorů nebo genů kódujících reparační enzymy mohou být děděny. Tím se vysvětluje zvýšená náchylnost k onemocnění v některých rodinách. Mutacemi vznikající onkogeny se zpravidla nedědí. Charakter onkogenů mají však některé onkogenní viry, které si během evoluce doplnily svůj genom o onkogen „ukradený“ ze savčích nádorových buněk. Při infekci pak mohou onkogen zanašet zpět do buněk a v nich vyvolávat nádorovou přeměnu.

**K nádorové transformaci buňky nestačí mutace jednoho genu.** Vznik většiny nádorů je podmíněn nejméně třemi mutacemi protoonkogenů a tumorsupresorových genů.

Kdyby v ostatních případech stačila jedna mutace, pak by pravděpodobnost nádorového onemocnění byla u sedmdesátníků jen 7x vyšší než u desetiletých. Ta ale ve skutečnosti je nejméně o dva řády vyšší, např. u kolorektálního karcinomu, nádoru střev a konečníku, asi 1000násobná. O vzniku onemocnění proto nerozhodují pouze samotné mutace.

Geny stejného typu se nazývají alely. Obvykle se vyskytují v párech. Je-li poškozena jen jedna alela z páru, nemusí ještě být normální funkce buňky narušena.

Geny v párech alel nebývají úplně stejné, každá alela může mít nepatrně odlišnou sekvenci nukleotidů. Tento jev se nazývá **heterozygotnost**, jejímž projevem je odlišnost jedinců. Není-li jedna alela genu funkční, může ji u heterozygotů zastoupit druhá. V lidském genomu je asi 23 tisíc genů a každý má v průměru 4 exony s celkem asi 1.350 páry bází. Pravděpodobnost, že k mutaci dojde současně v obou alelách je asi  $1:10^{12}$ . Dva chromosomy, z nichž každý nese jednu alelu genu, se ale mohou seřadit vedle sebe a dojde k porovnání sekvencí DNA, po němž následuje tzv. rekombinace homologní DNA. Sekvence DNA jedné alely na jednom chromosomu se přitom nahradí odpovídající sekvencí na druhém chromosomu. Výsledkem je, že buňka ztratí heterozygotnost, protože obě alely genu z jednoho páru chromosomů nadále nejsou totožnou genetickou informací. Ta pak může být nežádoucí. Dochází k tomu asi jedenkrát na každých tisíc dělení buněk a to už představuje poměrně vysokou pravděpodobnost nádorové proměny buňky.

Odhalování příčin vzniku rakoviny na úrovni genů je značně složité. S tím, jak roste poznání lidského genomu, přibývají i poznatky o mutacích genů v nádorových buňkách.

Nedávno zahájené mapování genomu v nádorových buňkách ukázalo, že četnost mutací je při změně normální buňky na nádorovou mnohem vyšší, než se předpokládalo. Výsledkem analýzy 13 tis. genů z 11 buněčných linií z nádorů prsu a konečníku bylo překvapivé zjištění, že téměř 11% všech genů bylo mutovaných. Po kontrole výsledků dospěli vědci k názoru, že nejméně 71 mutací genů má určitý vztah ke vzniku nádorů prsu a nejméně 52 mutací může souviset s nádory střev a konečníku. Při dalším porovnávání genů v nádorových a normálních buňkách bylo nalezeno kolem 1700 mutací specifických pro nádorové buňky, z toho asi 150 mutovaných genů může spouštět nádorovou transformaci. Podle nových poznatků mohou se vznikem a růstem nádorů souviset mutace 384 genů, tj. téměř 2% všech lidských genů. Na přenosu signálů k buněčnému růstu a dělení nebo buněčné smrti se podílí řada proteinů buněčných signalizačních drah. Příčinou chybné signalizace v buňce může být porucha kteréhokoliv z genů, které kódují proteiny přenášející signály v buňce.

Situaci komplikuje to, že abnormality v buněčné signalizaci nemusí být způsobeny pouze mutacemi, ale i **nadměrnou amplifikací** (zvýšením počtu kopií) **některých genů v genomu**, a s tím související **nadměrnou expresí** těchto genů nebo naopak „**umlčováním**“ **jiných genů**, potlačením jejich exprese, aniž by přitom došlo k poškození genomu.

Předpokládalo se, že na rozdíl od počtu velkého mutovaných genů v nádorových buňkách, je počet nadměrně amplifikovaných genů jen velmi nízký, nedávno publikované výsledky však naznačily, že takových genů může být až 77. Z toho jsou 3 amplifikované geny nebo jimi kódované bílkoviny cílem protinádorových léčiv, u 12 dalších genů jsou k dispozici dostatečně přesvědčivé důkazy o jejich podílu na nádorovém bujení a u zbývajících genů sice nejsou důkazy zatím ještě zcela spolehlivé.

Aktivita enzymů řídících buněčné procesy nezávisí jen na změnách charakteru nebo počtu genů způsobených mutacemi, ale i na tom, jak snadno dochází k přepisu genetické informace z genu na mRNA. Příčinou usnadnění nebo naopak ztížení vzniku bílkovin, které gen kóduje, jsou tzv. **epigenetické změny**. Při nich jsou biochemicky modifikovány některé báze DNA nebo pozměněna struktura histonů, bazických bílkovin doprovázejících DNA.

Epigenetické změny mají významnou úlohu při vývoji organismu, mohou však přispívat i k nádorové transformaci buněk. Epigenetické změny vyvolává enzymatická methylace cytosinových zbytků DNA nebo modifikace (acetylace a desacetylace, methylace, fosforylace apod.) koncových aminokupin histonů, bazických bílkovin, kolem nichž je v buněčném jádře ovinuta DNA. V lidském genomu je určité množství cytosinových zbytků (asi 4%) nahrazeno 5-methylcytosinem. Stupeň methylace cytosinu se přitom mění během vývoje, v některých sekvencích genů dochází k methylaci, v jiných k demethylaci. Vysoký stupeň methylace znesnadňuje interakce enzymů řídících transkripci s DNA. Transkripce genetické informace z hypermethylovaných genů na mRNA je tím potlačena, což se projeví v tom, že některých bílkovin se v buňce tvoří méně. Podobně jako methylace cytosinu ovlivňují přístupnost DNA pro transkripční faktory i modifikace histonů. Acetylace snižující bazicitu histonů přepis DNA usnadňuje, odštěpení acetyl skupin naopak geny „umlčuje“.

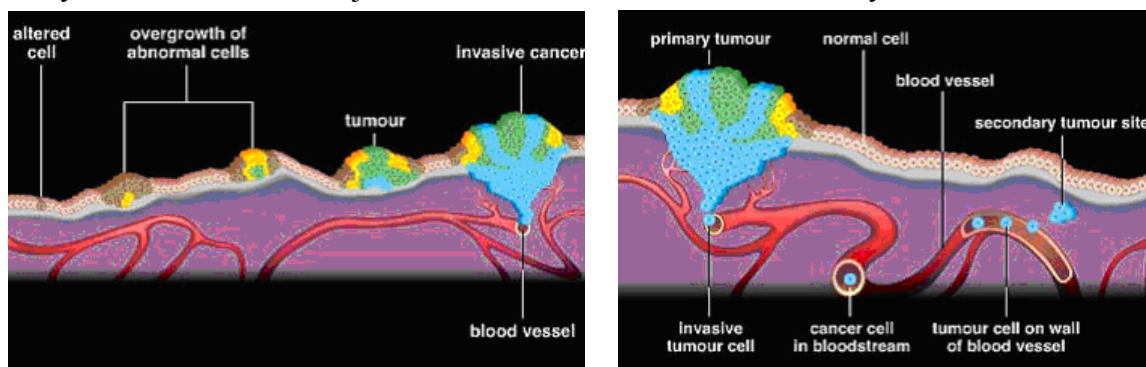
Geny mohou být kromě toho umlčeny i na úrovni translace tzv. „**RNA interferencí**“ (RNAi). Na té se podílejí **malé interferující RNA** (siRNA, small interfering RNA) a **mikroRNA** (miRNA), které patří do rodiny nekódujících nukleových kyselin. Jsou komplementární k určitým částem mediátorové RNA. Po interakci s miRNA nebo siRNA je mRNA blokována a/nebo rozštěpena, takže pak nemůže splnit svoji funkci templátu pro syntézu odpovídajících bílkovin.

Malé regulační RNA byly objeveny v r. 1993 u červíka *Caenorhabditis elegans*, předtím byly považovány pouze za fragmenty RNA. Jsou to malé oligoribonukleotidy se 17-25 bázemi, které jsou přirozenými regulátory exprese genů. Ukázalo se, že mají významnou úlohu při regulaci přepisu asi 30% genů a tím se podílejí na vývoji, diferenciaci a stabilizaci tkání. To vyvolalo značný zájem o jejich studium. Dnes je lidských siRNA a miRNA známo na 600. siRNA jsou tvořeny krátkými zdvojenými řetězci RNA, miRNA jsou jednořetězcové. Intermediární strukturu mají krátké vlásečkovité RNA (shRNA, short hairpin RNA), tvořené jedním řetězcem s komplementárními konci, které jsou spojeny v úzkém ohybu a podobají se tak vlásečce.

Cílovým místem **siRNA** jsou zejména oblasti mRNA bohaté na tzv. AU-elementy. Ty se často vyskytují v mRNA odvozených od onkogenů, siRNA tak mohou blokovat jejich přepis. Při interakci nasměrují siRNA k mRNA s komplementární sekvencí komplex RISC (RNA-induced silencing complex), který část mRNA rozštěpí. Zbytek molekuly mRNA se pak stane vysoce náchylný k další degradaci. **miRNA** působí odlišným způsobem. Translaci blokuje také, nemusí však vyvolávat štěpení mRNA.

Zatímco komplementarita siRNA je značná, k dostatečně silné interakci miRNA s mRNA má stačit, aby komplementární byla sekvence pouhých 2-8 nukleotidů na 5'-konci. Jedna miRNA tak může interagovat s celou řadou různých mRNA, blokáda funkce určité miRNA může naopak ovlivňovat expresi mnoha genů v různých tkáních. V některých nádorech byl zjištěn zvýšený výskyt určitých typů miRNA, které tam patrně inaktivují tumorsupresorové geny tlumící růst a dělení nádorových buněk.

**Ke vzniku nádorů dochází postupně**, s tím jak roste počet nežádoucích genetických i epigenetických změn v buňkách a jak se množí takto transformované buňky.



Zdroj: <http://www.sciencemuseum.org.uk/exhibitions/lifecycle/77.asp>

V tkáních se nejprve objevují abnormální struktury, které však jsou ještě tvořeny buňkami s normálními znaky (hyperplasie). Pak vznikají shluky buněk s některými rysy nádorových buněk (dysplasie). Ty pak mohou přerůstat do tumorů, shluků nádorových buněk, které se pak již nekontrolovaně množí (neoplasie). Přitom mohou zůstat lokalizované v primárním nádoru nebo se mohou uvolnit, proniknout do dalších tkání a tam vyvolat vznik sekundárního nádoru (metastáze).



## Charakteristiky nádorových buněk

**Nádorové buňky se odlišují od normálních tkáňových buněk v těchto vlastnostech:**

- **Zatímco tkáňové buňky jsou diferencované a vysoce specializované, nádorové buňky mají spíše charakter nezralých a nediferencovaných buněk.**  
V některých nádorových, ale ne normálních buňkách, jsou produkovány látky stejné jako v buňkách embrya. Je to způsobeno mutacemi nebo dalšími změnami genomu vedoucími k úplnému umlčení nebo alespoň potlačení exprese genů regulujících diferenciaci buněk a/nebo naopak aktivaci genů řídících rychlý růst buněk embrya nebo genů, které jsou ve zralých tkáňových buňkách dospělého jedince „umlčeny“. Výskyt stejných látek v nádorových buňkách jako v buňkách embrya (např. karcinoembryonální antigen, CEA, nebo  $\alpha$ -fetoprotein) je využíván v diagnostice.
- **Nádorové buňky se dělí rychleji než normální buňky.**  
Rychlost růstu nádoru je zpočátku exponenciální, s narůstající hmotností nádoru se růst zpomaluje, když začíná váznout přísun živin a kyslíku. Příčinou rychlého růstu a dělení nádorových buněk jsou poruchy mechanismů regulace buněčných procesů a změn. Příčinami mohou být mutace inaktivující tumorsupresorové geny, jejichž produkty určují, zda se buňka bude dále dělit, přejde do klidového stavu nebo podlehně buněčné smrti, aktivace onkogenů nesoucích informace vedoucí k malignímu bujení, duplikace nebo translokace genů účastnících se přenosu signálů k buněčnému dělení.
- **Normální buňky musí k dělení dostat z vnějšího prostředí signál zprostředkovaný růstovými faktory, nádorové buňky jsou v tomto směru úplně nebo částečně soběstačné a vnější signály k buněčnému dělení nepotřebují nebo k jejich dělení stačí i velmi slabé stimuly**  
Projevuje se to např. v tkáňových kulturách, kde normální buňky bez růstových nebo podobných faktorů nerostou, ale nádorové buňky ano. Signály k růstu a dělení buněk jsou zprostředkovány růstovými faktory a jejich interakcemi s receptory na povrchu buňky, které jsou spřaženy s vnitrobuněčnými proteinkinasami signalizačních drah. Nádorové buňky mohou produkovat nadměrné množství receptorů. K růstu a dělení je pak může stimulovat i tak malé množství růstových faktorů, jaké pro stimulaci normálních buněk nestačí. Někdy si nádorové buňky mohou samy produkovat větší množství růstových faktorů, jindy jsou jejich proteinkinasy mutacemi pozměněny tak, že jejich aktivita je trvalá a nezávisí na tom, zda receptor interaguje s růstovým faktorem nebo ne.
- **Některé vnější signály naopak růst buněk zastavují. Normální buňky pak vyplní jen ohraničený tvar tkáně. Nádorové buňky na protirůstové signály nereagují, nerespektují integritu okolních tkání.**  
Tkáňové buňky jsou pevně zachyceny v extracelulární matrici, která tvoří jakousi kostru tkáně, pomocí adhesivních bílkovin, integrinů. Integriny lze považovat za receptory, které při interakci s extracelulární matricí dávají buňce signál, aby zastavila svůj růst a dělení nebo aby dokonce zahájila procesy vedoucí k buněčné smrti. Obsah a zastoupení integrinů v nádorové a normální tkáni se liší. Nádorové buňky mohou produkovat integriny, které protirůstové signály nezprostředkovávají nebo dokonce vysílají signály prorůstové. Invazivní charakter nádorových buněk souvisí i s aktivací matricových metaloproteinů a dalších enzymů, které odbourávají složky extracelulární matrice tkání a uvolňují tím prostor pro nádor, který pak tkáň prorůstá.
- **Se změnami zastoupení integrinů a aktivací matricových metaloproteinů souvisí i nedostatečná soudržnost buněk v primárním nádoru. Ty se z něho mohou uvolnit a dostat se do dalších míst organismu, kde vyvolávají růst sekundárních nádorů, metastázi.**  
Uvolněné nádorové buňky pronikají přes bazální membránu nádoru narušenou metaloproteinami a cévní stěny až do krevních nebo lymfatických cév v nádoru a jimi pak putují organismem. V cévách vytvářejí nádorové buňky mikroemboly, shluky s krevními destičkami, které se mohou přichytit na stěny cév. Přes cévní stěny pak mohou nádorové buňky proniknout do blízkých orgánů a tam se začít nekontrolovaně dělit až vznikne sekundární nádor. Primární nádory nejsou samy o sobě příliš zhoubné, příčinou převážné většiny úmrtí na nádorová onemocnění jsou spíše četné metastázy.
- **Nádorové buňky produkují ve zvýšené míře angiogenní růstové faktory**  
Rychle rostoucí nádorové buňky potřebují zvýšené množství živin. Jejich přívod jim spolu s přívodem kyslíku zajišťuje cévní systém, který se v nádoru vytváří. Nádorové buňky proto (stejně jako embryonální buňky) produkují specializované růstové faktory, jako je vaskulární endoteliální růstový faktor, které v nádoru vyvolávají angiogenesi, vznik nových cév.
- **Nádorové buňky se vyznačují genetickou nestabilitou a klonálním charakterem.**  
Buněčná populace v nově zjištěném nádoru tvořená  $10^9 - 10^{12}$  buňkami je geneticky heterogenní. Geny v nádorových buňkách jsou nejen zmutované, ale navíc snadno dále mutují, zejména, jsou-li vystaveny působení cytostatik nebo záření. Terapie, která nedokáže všechny nádorové buňky zlikvidovat, vyvolává selekční tlak. Přežívají jen nádorové buňky s mutacemi, které jim zajišťují zvýšenou odolnost vůči účinkům cytostatik nebo záření. Postupně proto narůstá podíl odolnějších buněk, které jsou po genetické stránce nejlépe vybavené. Ty pak při dalších děleních vytvoří geneticky identické rezistentní klony, které nakonec v nádoru převládnu. Příčinou rezistence proti chemoterapeutikům může být příliš rychlé odbourání cytostatika na neaktivní metabolity nebo naopak nedostatečná přeměna neúčinných derivátů na aktivní formu působením enzymů, např. cytochromů P 450. Vedle toho existuje tzv. mnohočetná rezistence způsobená vytlačením cytostatik ven z buněk. Přitom se v důsledku selekčního tlaku zvyšuje množství transportních bílkovin v buněčné membráně, které působí jako „pumpa“ čerpající cytostatikum ven z buňky i proti koncentračnímu gradientu.

- V nádorových buňkách dochází k jiným **epigenetickým změnám** než v normální tkáni. Ve většině nádorových buněk je obsah 5-methylcytosinu asi poloviční ve srovnání s normálními buňkami. Brzdící vliv methylace na expresi genů se v nich proto neprojevuje. Někdy však byly v nádorech nalezeny hypermetylované geny, pozorována byla např. hypermethylace v sekvencích řídicích přepis tumorsupresorových genů. Rozdíly mohou být i ve stupni modifikace histonů. Zvýšená nebo naopak potlačená exprese genů vyvolaná takovými epigenetickými změnami pak může zvyšovat množství bílkovin kódovaných onkogeny nebo naopak snižovat obsah tumorsupresorů a reparačních enzymů v buňce
- Další základní charakteristikou nádorových buněk je jejich **„nesmrtelnost“**. Běžné tkáňové buňky se mohou dělit jen asi 200x, nádorové buňky neomezeně. Při buněčném dělení zralých diferencovaných tkáňových buněk dochází k postupnému zkracování konců chromosomů – tzv. telomer. Tyto telomery jsou tvořeny asi 2000x opakující se hexanukleotidovou sekvencí 5'-TTAGGG-3'. Při každém buněčném dělení se telomery o několik sekvencí zkrátí. Zkrácení telomer na kritickou délku je signálem, který další dělení buněk zastavuje a zahajuje procesy vedoucí k buněčné smrti – apoptose. Ke zkracování telomer nedochází v zárodečných buňkách, které **obsahují aktivní formu enzymu telomerasy**. Tento enzym na konce chromosomů připojuje opakující se telomerovou sekvenci s asi 60 nukleotidy, čímž naopak telomery prodlužuje. V normálních buňkách dospělých organismů je telomerasa inaktivní, ale u asi 85% nádorových buněk je její aktivita obnovena. Tím tyto buňky získávají nesmrtelnost. Při studiu vlivu protinádorových léčiv se dodnes používají v různých laboratořích celého světa buněčné kultury tvořené tzv. HeLa buňkami. Ty neztratily schopnost se dělit, přestože byly získány již v r. 1951 při biopsii nádoru děložního čípku dávno zesnulé **Henriety Lachs**.
- „Nesmrtelnost“ nádorových buněk nesouvisí jen s délkou telomer, ale obecně s **narušením mechanismů řídicích buněčnou smrt, apoptosu**. Apoptosa je proces, kterým se organismus zbavuje buněk přestárých, zbytečných nebo poškozených (např. chromosomálními nebo genomovými mutacemi). Je iniciována interakcemi vnějších faktorů s „receptory smrti“ na povrchu buňky nebo vnitrobuněčnými signály, jakými může být zkrácení telomerů nebo poškození DNA. Jiné vnější nebo vnitrobuněčné faktory mohou naopak apoptosu zablokovat. Mezi geny, které určují, zda dojde k apoptose, patří tumorsupresorové geny, např. gen označovaný *p53*. U nejméně 40% ze všech typů nádorů bylo zjištěno, že obsahují mutantní formy tohoto genu, mutovaný gen *p53* se vyskytoval dokonce v 96% nádorů vaječníků. Buňky řady dalších nádorů obsahovaly protein kódovaný tímto genem, který sice měl normální složení, byl však inaktivní.

## Léčba nádorových onemocnění

Vzhledem k velké různorodosti nádorových onemocnění, četnosti faktorů, které je mohou způsobit a neznalosti skutečné příčiny vzniku konkrétního nádoru, je účinná léčba obtížná. V současné době jsou základními metodami léčby nádorových onemocnění chirurgický zásah, léčba ozařováním a chemoterapie resp. hormonální terapie. Prosazovat se začíná imunoterapie a zatím v plenkách je genová terapie. Všechny postupy protinádorové terapie se vzájemně doplňují a často kombinují.

O jejich uplatnění rozhoduje rozsah, lokalizace a diseminace (rozsev) nádoru, které mnohdy závisí na včasnosti diagnózy. U lokalizovaných nádorů stojí na prvním místě chirurgické odstranění nádoru, někdy i radioterapie. Před zákrokem může být nasazena preoperativní (neoadjuvantní) chemoterapie s cílem dosáhnout určitého zmenšení nádoru. Chirurgické odstranění lokalizovaných nádorů dává největší šance na vyléčení. Úplné odstranění všech nádorových buněk z organismu není však vždy možné. Podobně je tomu při ozáření nádorové tkáně. Nádorové buňky "zbytkového onemocnění", tj. buňky zbývající v těle po eliminaci primárního nádoru se mohou po zotavení organismu znovu začít množit, což se projeví relapsem nádorového onemocnění. Zabránit návratu onemocnění je úkolem další léčby. Po primárním zákroku proto často následuje doplňková (adjuvantní) chemoterapie, jejímž cílem je likvidace nádorových buněk, které mohou zbývat buď na místě původního nádoru, nebo ve formě metastáz v dalších orgánech.

U diseminovaných nádorů a u nádorů, které nelze chirurgicky odstranit pro riziko poškození životních funkcí, je chemoterapie postupem první volby.

Chemoterapie se začala uplatňovat v léčbě nádorových onemocnění od konce 40. let. Zpočátku byla využívána jako doplňková metoda pro pacienty s metastázujícím nebo recidivujícím onemocněním, kde chirurgická léčba nebo radioterapie nemohla mít kurativní účinek, pak začala být nasazována i po vcelku úspěšně provedených operacích k likvidaci zbytkových nádorových buněk.

Jako rovnocenná s ostatními léčebnými postupy se u některých typů nádorů prosazuje chemoterapie od 60. let 20. století. Úspěch jí přinesly objevy nových účinných cytostatik a dalších protinádorových léčiv spolu s pochopením podstaty jejich účinku.

Jak název napovídá, cytostatika zastavují buněčný růst a dělení. Rychlý růst nádorových buněk lze zastavit různými způsoby, přitom ale jsou postiženy i zdravé dělící se a rostoucí buňky. „Hormonální“ terapie je založena na zjištění, že růst některých nádorů je hormonálně závislý. Zastavují jej proto látky, které účinek hormonů ruší. Imunomodulátory mají za úkol stimulovat imunitní systém organismu tak, aby sám dokázal účinně likvidovat nádorové buňky.

Poznání mechanismu účinku jednotlivých protinádorových léčiv umožnilo formulovat základy racionální taktiky při léčbě nádorových onemocnění chemoterapeutiky.

Účinnost terapie se podstatně zvýšila, když se místo jednoho protinádorového léčiva začaly používat kombinace několika léčiv s různými mechanismy účinku.

Hlubší pochopení příčin transformace normálních buněk na nádorové a poznání rozdílů mezi normálními a nádorovými buňkami na molekulární úrovni přineslo možnost zvýšení selektivity terapeutického zásahu, tzv. cílené terapie.

Byla vyvinuta léčiva, jejichž cílové struktury se vyskytují pouze nebo alespoň převážně v nádorových buňkách. Působení takových léčiv na normální buňky je proto potlačeno a tím jsou sníženy jejich nežádoucí vedlejší účinky. Pokroky diagnostiky současně umožnily kvantifikovat cílové struktury těchto léčiv a tím i předpovídat, zda a jak bude léčivo na pacienty působit. Začíná se tak prosazovat personalizovaná terapie, kdy jsou pacientovi podávány léky s největšími předpoklady příznivého účinku.

Při svém vývoji prošla chemoterapie obdobím nadšeného přijímání, po němž však následovala skepse a tvrdá kritika vyvolaná závažnými vedlejšími účinky cytostatik. Na přelomu tisíciletí vystřídala skepsi euforie, kterou vyvolaly úspěchy léčiv pro „cílenou“ terapii. Tu nyní střídá kritičtější přístup, protože ani cíleně zaměřená protinádorová léčiva nejsou zcela prostá vedlejších účinků, vzhledem ke specifickému účinku nepůsobí na všechny nádory a současnou onkologii značně prodražují. Přes všechny zmíněné problémy a kritiku se však uplatnění chemoterapie rozšiřuje.

### Podle citlivosti k chemoterapii lze nádorová onemocnění rozdělit do 4 skupin.

- První skupinu tvoří nádorová onemocnění, u kterých může mít chemoterapie **kurativní účinek**, tj. vést k úplnému vyléčení, a to i v pokročilém stadiu.  
Do této skupiny patří akutní myeloblastická leukemie dětí, Burkittův nebo Wilmsův nádor, Hodgkinův a histiocytární lymfom, Ewingův sarkom, nádory varlat a vaječnicků, určité kožní nádory a některé další karcinomy.
- Do druhé skupiny jsou řazeny nádory, u kterých chemoterapie nezaručuje úplné vyléčení, má však významný **paliativní efekt** – u značného počtu pacientů vyvolává regresi nádoru, zvyšuje dobu přežití a umožňuje návrat pacientů do každodenního života, i když někdy jen na omezenou dobu.  
Četnost nádorových onemocnění z této skupiny je 25 – 30%. Patří sem např. karcinomy prsu, endometria (děložní sliznice), prostaty a kůry nadledvin, malobuněčný karcinom plic, akutní myeloblastická leukemie dospělých, chronická leukemie, myelom, neuroblastom, insulinom a osteosarkom.
- Nejčetnější je 3. skupina nádorových onemocnění s incidencí 30-35%, u nichž může být chemoterapie účinná, avšak citlivost vůči chemoterapii ani výsledky nejsou jednoznačné. Přesto je v těchto případech chemoterapie důležitou **doplňkovou metodou**.  
Do této skupiny jsou řazeny nádory orofaciální oblasti ("nádory hlavy a krku"), trávicího ústrojí, centrálního nervového systému, maligní melanom, karcinoid a sarkomy měkkých tkání
- Čtvrtou skupinu tvoří **nádory s malou citlivostí** na současná cytostatika.  
Do této skupiny s přibližně 20% výskytem patří nemalobuněčný nádor plic, nádory jater, močového měchýře, jícnu, pankreatu, žlučníku a štítné žlázy a některé další.

Zařazení jednotlivých nádorových onemocnění do skupin je pouze **orientační**.

Se zaváděním nových protinádorových léčiv a zdokonalováním léčebných režimů se situace mění a některé nádory proto mohou být přeřazovány do skupiny s lepší prognózou. Např. neoperabilní nádory ledvin byly nedávno prakticky vůbec neléčitelné. Od r. 2005 bylo ale do terapeutické praxe zavedeno 7 nových léků (sorafenib, sunitinib, temsirolimus, everolimus, bevacizumab, pazopanib, axitinib), které zatím pacienty s pokročilými stadii karcinomu ledvinových buněk zcela nevyléčí, ale alespoň významně prodlužují dobu jejich přežití.

### Chemoterapie dokáže snížit počet nádorových buněk v průměru o dva řády.

Nejmenší nádory, které lze zjistit současnými diagnostickými postupy, mají  $10^9 - 10^{10}$  buněk, což odpovídá hmotnosti 0,1 – 1 g, velmi často však bývá nádorové onemocnění diagnostikováno, až počet nádorových buněk dosáhne řádově  $10^{12}$ . Chemoterapie, pokud není doplňkem k jiné léčebné metodě, snižuje počet nádorových buněk o 2-3 řády. Nasazuje se proto v **několika cyklech**, které po sobě následují v **optimálních časových intervalech**. Ty jsou voleny tak, aby se mohly dostatečně zotavit léčbou poškozené normální tkáňové buňky, ale aby přitom současně neúměrně nenarostl počet nových nádorových buněk. Po několikrát opakovaném působení cytostatik může počet nádorových buněk klesnout natolik, že je pak už dokáže eliminovat imunitní systém organismu pacienta, zejména je-li podpořen podáváním imunostimulátorů.

Převážná většina klasických cytostatik působí především **na nádorové buňky, které právě rostou a dělají se**. K novému dělení obvykle dochází po snížení počtu nádorových buněk chirurgickým zákrokem, ozářením nebo i předchozí chemoterapií.

Účinek cytostatik na nádorové buňky v klidové fázi je poměrně malý. K tomu, aby se projevily, jsou zapotřebí velké dávky léčiva. Přitom však cytostatika již výrazně negativně působí na normální tkáňové buňky. Vysokodávková chemoterapie je proto často možná jen při podání antidot. Mezi ně patří látky, které do jisté míry omezují toxické účinky cytostatika (např. thioley nebo kardioprotektiva) nebo jeho působení ve vhodném okamžiku zastaví (leukovorin při léčbě methotrexátem). Dále sem lze přiřadit i faktory podporující krvetvorbu (erythropoietin a další), jinak by byla nevratně poškozena krvetvorba a jiné důležité životní funkce. Vysokodávková chemoterapie byla hojně využívána zejména v 90. letech minulého století, dnes se od ní onkologové spíše odklání a nahrazují ji tzv. sekvenční kombinovanou chemoterapií. Ta je založena na převedení klidových buněk do stavu, kdy se začínají dělit a jsou tak citlivé k působení cytostatik. Přitom se obvykle volí několik typů léčiv s různým mechanismem účinku, které se podávají ve stanovených intervalech.

Mezi důležité objevy z posledních let v oblasti onkologie patří nalezení **kmenových nádorových buněk**. Jejich studium je sice na počátku, zdá se však, že bude mít pro léčbu rakoviny značný význam. Dosud byla cílem protinádorové chemoterapie likvidace co největšího počtu nádorových buněk s tím, že se zbytkem vypořádá imunitní obrana organismu. Objev nádorových kmenových buněk však ukázal, že pouhé snížení počtu rakovinných buněk k úplnému vyléčení pacienta nemusí stačit.

**Kmenové buňky** jsou nediferencované buňky, které mají schopnost se obnovovat i diferencovat na různé typy tkáňových buněk. Nejuniverzálnějšími (totipotentními) kmenovými buňkami jsou buňky raného embrya, z nichž se vyvíjejí všechny tkáně. Předpokládá se, že by perspektivně mohly být využity k opravě poškozených tkání dospělého organismu, jejich získávání ale naráží na etické problémy. V dospělém organismu se vyskytují méně univerzální pluripotentní kmenové buňky, které také mohou dále diferencovat, ale již ne na všechny typy tkáňových buněk. Při dělení vzniknou z kmenové buňky buď dvě dceřiné kmenové buňky nebo jen jedna kmenová a druhá buňka progenitorová. Ta se pak dále dělí za vzniku jednoho nebo více typů diferencovaných tkáňových buněk. V kostní dřeni jsou např. obsažené hematopoetické kmenové buňky, které se mohou přeměnit na různé typy krvinek, jiné kmenové buňky se vyskytují v tukové tkáni nebo pokožce. V normální tkáni kmenové a progenitorové buňky „spí“, mohou však být k dělení aktivovány růstovými faktory a cytokiny. V r. 2004 došlo k překvapivému objevu kmenových buněk v nádorech.

Nádorové kmenové buňky nemohou diferencovat na normální tkáň a mohou se z nich vyvinout pouze tkáň nádorově přeměněná. Jsou sice nepočtené (5% i méně ze všech nádorových buněk), ale z hlediska terapie jsou velmi důležité, protože jako „spící“ buňky, jsou podstatně odolnější vůči současným protinádorovým lékům nebo i účinkům záření, než „normální“ nádorové buňky.

Nejsou-li kmenové nádorové buňky zcela eliminovány, může z nich po čase vzniknout nový nádor – dojde k relapsu onemocnění. Jak se podílejí na vzniku a obnově nádorů zatím není zcela objasněno. Podle jednoho modelu vznikají nádorové kmenové buňky mutacemi tkáňových kmenových buněk, které tím získávají schopnost vyvinout se v nádor. Podle jiného modelu dochází v kmenové buňce k onkogenním mutacím, ale nádorová přeměna proběhne až u dceřiných progenitorových buněk.

Brzy po objevu kmenových nádorových buněk bylo zahájeno hledání léčiv, která umí likvidovat i odolné kmenové nádorové buňky a která by tedy mohla pacienty úplně vyléčit.

Několik farmaceutických firem zkouší možnosti zasáhnout kmenové nádorové buňky specifickými monoklonálními protilátkami nebo malými RNA (viz Farm12), popř. i některými nízkomolekulárními léčivy. Hledání takových léčiv usnadnil vysoký výskyt antigenu CD44 a snížená exprese antigenu CD24 v nádorových kmenových buňkách. Díky tomu lze nádorové kmenové buňky rozpoznat, izolovat a testovat na nich různá léčiva. Otázkou však zatím zůstává, zda tato odlišnost nebo i jiné, v budoucnosti objevené rozdíly, bude možné terapeuticky využít a také i to, zda léčiva zacílená na kmenové nádorové buňky budou dostatečně selektivní a nebudou napadat i jiné kmenové buňky v organismu.

**Výsledky protinádorové terapie se hodnotí podle terapeutické odezvy a doby jejího trvání.**

Optimálním výsledkem léčby je tzv. **kompletní remise**, za níž je považováno úplné vymizení všech známek onemocnění zjištěné nejméně 2 x v průběhu 4 týdnů. Za **částečnou remisi** je považováno zmenšení nádoru nejméně o 50% přetrvávající rovněž nejméně 4 týdny. **Stabilizace onemocnění** je stav, kdy se velikost nádoru pohybuje v rozmezí 50 – 125% původní hodnoty před zákrokem. **Progrese onemocnění** je charakterizována zvětšením nádoru nebo existujících patologických změn nejméně o 25% nebo objevením nového nádorového poškození organismu.

Pokud jde o dobu trvání terapeutické odezvy na protinádorovou terapii, má stejná doba remise jiný význam u rychle a pomalu rostoucích nádorů. Stanovení doby trvání terapeutické odpovědi je však obtížné. V praxi se za ni obvykle považuje doba od léčebného zákroku do prvních známek relapsu – tj. délka období bez příznaků nemoci.

U nových protinádorových léků rozhodují odborníci FDA, EMA nebo jiných lékových autorit, zda lék povolí podle toho, jak výsledky provedených klinických zkoušek odpovídají předem stanoveným cílům. U rychle rostoucích nádorů tímto cílem obvykle bývá průměrná doba přežití pacientů, jindy to je délka období do progresu onemocnění nebo do dosažení určitého parametru.

FDA přitom požaduje, aby u pacientů léčených novým přípravkem doba přežití ve srovnání s přežíváním pacientů v kontrolní skupině nebo s dobou uváděnou v dosavadních statistikách prodloužila alespoň o 15%.

Kromě hlavních kritérií se výsledek léčby hodnotí i podle doplňkových hledisek, jako je subjektivní pocit zlepšení zdravotního stavu, přírůstek tělesné hmotnosti a/nebo zlepšení tělesné aktivity udávané podle škály Světové zdravotnické organizace.

Pětistupňová škála WHO popisuje stavy od schopnosti normální tělesné aktivity bez omezení až po trvalé upoutání na lůžko. Vedle toho stanovila WHO i měřítka pro posuzování toxicity protinádorové chemoterapie, kde se hodnotí parametry krvetvorby (obsah hemoglobinu, počty bílých a červených krvinek a krevních destiček, krvácivost), stupně nevolnosti a zvracení, poškození sliznic, průjmů a vypadávání vlasů.

Vzhledem k vysokým cenám nových protinádorových léčiv sílí hlasy, aby se při povolování nových léčiv přihlíželo i k farmakoekonomickému hodnocení.

## Mechanismy účinku protinádorových léčiv.

Nejrozsáhlejší skupinu (L01) protinádorových léčiv tvoří **cytostatika** (antineoplastika), tj. látky blokující růst a dělení nádorových buněk. Dělení buněk lze zastavit nebo alespoň zpomalit zejména:

- Zablokováním mechanismů tvorby nukleových kyselin, a to:
  - inhibicí enzymů podílejících se na tvorbě stavebních kamenů nukleových kyselin „*de novo*“ tzv. antimetabolity
  - inhibicí enzymů participujících na vzniku nukleových kyselin
  - inhibicí metabolických přeměn nukleových kyselin a jejich složek, což mechanismem zpětné vazby ovlivňuje syntézu nových nukleových kyselin
- Ovlivněním funkcí hotových nukleových kyselin narušením jejich struktury a/nebo opravy
  - alkylacemi bází nukleových kyselin, po nichž se zvyšuje četnost mutací (monofunkční alkylační činidla) nebo dojde k propojení bází, což brání oddělení řetězců DNA jako předpokladu replikace (bifunkční alkylační činidla)
  - zabudováním nepřirozených bází do nukleových kyselin, které se tak stanou nefunkčními
  - vmezežením (interkalací) cytostatika mezi řetězce dvojité spirály DNA, čímž se blokuje replikace a transkripce
  - inhibicí topoisomerasy, enzymů ovlivňujících prostorovou strukturu DNA a uvolňujících napětí v DNA po replikaci, které jinak může vést ke vzniku zlomů v polynukleotidovém řetězci
  - štěpením molekuly DNA působením kyslíkatých radikálů (účinek podobný ozáření: radiomimetika, endiiny)
  - inhibicí ligasy, poly(ADP-ribose)polymerasy (PARP) a dalších enzymů podílejících se na opravě poškozené DNA
- Ovlivněním mechanismu buněčného dělení (mitozy):
  - zablokováním tvorby mikrotubulů vytvářejících mitotické vřeténko, útvaru podílejícího se na dělení buněk: buď inhibicí syntézy a polymerace tubulinu na mikrotubuly tvořící vlákna mitotického vřeténka nebo naopak inhibicí depolymerace mikrotubulů zpět na tubulin
  - zablokováním funkce kinesinu a dalších bílkovin zprostředkovávajících přitahování chromosomů na opačné póly buňky, k němuž dochází před rozdělením buňky na buňky dceřiné
- Brzděním proteosyntézy v nádorových buňkách
  - blokováním přívodu esenciálních aminokyselin nebo narušením procesu recyklace bílkovin
- Poškozením buněčné membrány, které ovlivňuje funkčnost buňky
  - narušením integrity membrány nebo ovlivněním její permeability a fluidity
- Zábranou přenosu signálů pro růst a množení buněk
  - blokováním receptorů pro růstové faktory
  - inhibicí receptorových proteinkinás i dalších enzymů buněčných signálních drah.

Další skupinu protinádorových léčiv (L02) tvoří látky s **hormonálním účinkem**. Vazbou hormonů na vnitrobuněčné receptory je mimo jiné stimulován růst hormonálně podmíněných nádorů prsu, prostaty, vaječníků apod. Podávání ženských pohlavních hormonů mužům nebo mužských hormonů ženám sice mělo určitý terapeutický efekt, bylo však spojeno s vedlejšími účinky, Přednost proto dostaly:

- **Antagonisté přirozených hormonů** blokující steroidní receptory uvnitř buňky. Blokáda zabrání přenosu signálu k dělení nádorových buněk a tím i růstu hormonálně závislých nádorů.
  - antiestrogeny blokují receptory pro ženské pohlavní hormony v nádorech prsu a ženských pohlavních orgánů
  - antiandrogeny blokují receptory pro mužské pohlavní hormony v nádorech prostaty
  - antiprogestiny (antigestageny) blokují receptory pro progesteron, hormon, který řídí menstruační cyklus a těhotenství. Inhibují tvorbu gonadotropinu v hypofýze, což pak vede ke snížení sekrece estrogenů a androgenů.
- **Inhibitory enzymu aromatasy**  
Aromatasa je enzym, který v ženských orgánech katalyzuje přeměnu mužských pohlavních hormonů na estrogény.
- **Analoga gonadoliberinů,**  
Gonadoliberiny jsou hormony produkované hypothalamem, které regulují sekreci gonadotropinů v hypofýze a ty pak řídí produkci steroidních hormonů v pohlavních žlázách. Analoga gonadoliberinů zastavují sekreci pohlavních hormonů (vyvolávají farmakologickou kastraci, která je na rozdíl od chirurgické kastrace jen dočasná).

Poslední důležitou skupinou protinádorových léčiv (L03) jsou **imunomodulační látky** aktivující komponenty imunitního systému, které se podílejí na rozpoznávání a likvidaci nádorových buněk. V 70. letech minulého století byly k dispozici jen nespecifické imunostimulátory, které byly později nahrazeny specifitějšími a účinnějšími látkami ovlivňujícími imunitní systém. Jsou to zejména:

- **Cytokiny**, malé bílkoviny nebo glykoproteiny, které regulují imunitní odpověď organismu  
Mezi cytokiny patří interleukiny ovlivňující imunitní odpověď organismu aktivací lymfocytů. Ty se pak stávají cytotoxické, aby mohly likvidovat infikované nebo nádorové buňky. Interferony jsou produkovány buňkami imunitního systému po napadení organismu virem, mohou však různými mechanismy likvidovat i nádorové buňky
- **Růstové faktory**, které indukují a řídí růst krevních buněk.  
V protinádorové terapii se využívají růstové faktory kmenových buněk kostní dřeně jako doplňková léčiva k povzbuzení krvetvorby narušené cytostatiky nebo zářením. Tím umožňují zvýšit účinnost protinádorové léčby podáváním vyšších dávek cytostatik nebo zvýšením intenzity ozařování.
- **Protilátky a protinádorové vakciny**  
Interakce protilátek s antigeny na povrchu nádorových buněk může dávat signál imunitnímu systému, aby nádorové buňky likvidoval, protinádorové vakciny tvorbu signálních protinádorových protilátek vyvolávají. Terapeutické protilátky mohou směřovat navázaná cytostatika, toxiny nebo radioizotopy k nádorovým buňkám nebo mohou blokovat extracelulární signály k buněčnému dělení (viz dále).

Nově zaváděná nebo studovaná protinádorová léčiva mohou blokovat růst nádorů, popř. jejich metastázování selektivněji než dosavadní léčiva, takže poškozují normální tkáňové buňky méně. Hovoří se proto o nich jako o léčivech „**cílených**“, „**cíleně směřovaných**“ nebo i „**biologických**“ (targeted drugs, biologicals). Mezi ně patří i již zmíněné protilátky. Mechanismy jejich účinku jsou různé, zejména jde o:

- Ovlivnění funkce genů a jejich bílkovinných produktů regulujících replikaci, transkripci a translaci DNA
  - blokováním exprese genů komplementárními (antisensními) oligonukleotidy, popř. malými interferujícími RNA
  - blokováním enzymatické farnesylace nutné pro aktivitu bílkovinných transkriptů onkogenů
  - využitím ribozymů ke štěpení m-RNA vznikajících při transkripci onkogenů
  - blokováním nežádoucích regulačních miRNA se zvýšeným výskytem v invazivních nádorech
  - potlačením nežádoucích epigenetických změn
  - vnášením funkčních tumorsupresorových genů do buněk (genová terapie)
- Inhibici aktivity proteinkinasy podílejících se na vnitrobuněčném přenosu signálu k růstu a dělení buněk
- Zásah do mechanismu regulace buněčného cyklu (např. inhibicí cyklin-dependentních kinas)
- Inhibici telomerasy
- Inhibici proteasomu
- Obnovení nebo indukci mechanismů apoptosy
- Inhibici matricových metaloproteinů, které se podílejí na uvolnění nádorových buněk a vzniku metastáz
- Inhibici angiogeneze – vzniku nových cév zásobujících nádorovou tkáň krví
- Lepší využití mechanismů vrozené nebo získané imunitní obrany organismu proti nádorovým buňkám založené na
  - využití a zvýšení rozdílů v povrchových antigenech nádorových a normálních buněk
  - inhibici látek blokujících aktivaci cytotoxických T-lymfocytů
  - použití protilátek k blokování receptorů pro látky předávající signál k růstu a dělení buněk
  - zlepšení účinnosti protinádorových vakcín
  - využití protilátek ke směřování protinádorových léčiv k nádorovým buňkám
- Indukci rediferenciace nádorových buněk

## Toxicita protinádorových léčiv

Klasická cytostatika působí negativně nejen na nádorové, ale i na všechny ostatní buňky, které se v organismu za normálních podmínek trvale dělí a rostou.

Jsou to zejména buňky kostní dřene, z nichž diferenciací vznikají krevní buňky, buňky epitelu trávicího ústrojí, kořínků vlasů, zárodečné pohlavní buňky a buňky embryonální tkáně. Projevem toxického účinku cytostatik proto jsou poruchy krvetvorby, nevolnost, zvracení a funkční poruchy střevní pasáže (průjemy nebo naopak zácpa), alopecie (vypadávání vlasů), sterilita a poškození plodu (zejména v prvních 3 měsících těhotenství). S výjimkou posledního případu bývají tyto poruchy dočasné a po vysazení chemoterapie dříve či později vymizí, ovlivňují však kvalitu života pacienta.

Závažným nežádoucím účinkem cytostatik je i poškození imunitního systému, které se projevuje alergiemi na některá cytostatika a imunosupresí, potlačením imunitní odpovědi organismu.

Imunosuprese souvisí do značné míry s poruchami krvetvorby. Některá cytostatika (např. cytarabin nebo cyklofosfamid) však navíc tlumí i protilátkovou odpověď organismu. Výsledkem potlačení imunity je zvýšená citlivost pacienta vůči infekcím. Na druhé straně mohou být imunosupresivní účinky některých cytostatik využity i k terapii některých autoimunitních onemocnění, např. revmatické artritidy (methotrexát) nebo roztroušené sklerózy (mitoxantron).

Řada cytostatik zasahuje buňky na úrovni DNA. Tato cytostatika jsou současně kancerogenní, protože při delším podávání mohou způsobit mutace genů a tím vyvolat vznik nádorů i v původně zdravých tkáních. Příčinou vzniku nových nádorů mohou však být i účinky hormonů nebo imunosuprese.

Vedle obecných projevů cytotoxicity mohou některé protinádorové léky specificky poškozovat různé orgány. Kardiotoxicky působí zejména anthracyklinová antibiotika a mitoxantron. Platinová cytostatika a methotrexát poškozují ledviny, cyklofosfamid a zejména ifosfamid škodí močovému ústrojí. Častá je i neurotoxicita projevující se neuropatií (Pt cytostatika, alkaloidy *Vinca*, taxany), encefalopatií a dalšími symptomy trvalého nebo dočasného poškození nervového systému. Méně časté je poškození jater, pankreatu, plic, poruchy vidění a sluchu (cisplatina), vaskulární toxicita a narušení endokrinních funkcí.

Nová, „cíleně směřovaná“ léčiva působí sice selektivněji než klasická cytostatika, ani ona však nejsou zcela prosta nežádoucích vedlejších toxických účinků

Např. protilátka cetuximab může vyvolávat anafylaktický šok a další závažné imunologické reakce, protilátka trastuzumab je kardiotoxická, kinasový inhibitor lapatinib může poškodit jaterní buňky apod.

K potlačení nežádoucích vedlejších účinků cytostatické léčby se používají různá antidota, doplňková léčiva a podpůrné prostředky, které dnes tvoří nedílnou součást arsenálu chemoterapie. Antidota umožňují zvýšit účinnost chemoterapie podáváním vyšších dávek cytostatik. Doplňková léčiva a podpůrné prostředky zvyšují kvalitu života pacientů a chrání důležité orgány před dočasným, ale často i trvalým poškozením.

## Prevence nádorových onemocnění

Obecně platí, že je lepší nemocím předcházet než je léčit. U nádorových onemocnění je však otázka možností prevence poměrně složitá. Je to dáno rozmanitostí a multifaktoriálním charakterem onemocnění i stále ještě neúplnými znalostmi o jeho příčinách. Navíc jsou výsledky zkoušek preventivního účinku různých látek často rozporné, zkreslené a zatížené statistickými i metodickými chybami.

Velký a nesporný preventivní význam má eliminace některých faktorů, jejichž souvislost s nádorovým onemocněním byla spolehlivě prokázána. Znáмым příkladem je vliv kouření na vznik nádorů plic i některých dalších orgánů. Nebezpečné jsou některé z dehtovitých látek, které při kouření vznikají a které se dostávají do plic, dýchacích cest, ale i úst a zažívacího traktu. Pokles mortality na nádorová onemocnění ve Spojených státech souvisí mimo jiné s poklesem kuřáctví v této zemi.

Protinádorovou prevencí lze rozdělit podle toho, na co se zaměřuje. Cílem **primární prevence** je zabránit vzniku nádorových onemocnění. **Sekundární prevence** je zaměřena na odhalování již vzniklých nádorových onemocnění. Je-li nádor odhalen v časném stadiu, kdy je ještě malý a lokalizovaný, má pacient šanci na úplné vyléčení. Jestliže je nádorové onemocnění diagnostikováno pozdě a nádor už prorůstá do sousedních tkání nebo metastázuje, pak často ani ta nejnákladnější terapie nemá pozitivní výsledek. **Terciální prevence** představuje opatření, která mají snížit mortalitu pacientů, kteří již mají za sebou terapeutický zásah. Patří mezi ni pravidelná kontrola pacientů po ukončené onkologické léčbě, při níž se zjišťuje, zda dochází k recidivě onemocnění. Terciální prevencí je i podávání léčiv likvidujících nádorové buňky, které v organismu zůstaly navzdory předchozí léčbě.

## Nejúčinnější primární prevencí je změna životního stylu.

Vztah mezi kouřením a výskytem nádorových onemocnění plic byl již zmíněn. Do stejné kategorie preventivních opatření patří i omezování slunění, které může vyvolávat vznik nádorů kůže, nebo změna dietních zvyklostí. Některé složky potravy mohou snižovat výskyt nádorů zažívacího traktu i dalších orgánů, jiné však mohou riziko vzniku rakoviny naopak zvyšovat. Nepříznivý vliv na zdraví mohou mít především některé mutagenní látky v potravinách. Vína je přitom svalována především na rezidua pesticidů, kterých podle různých „odhalení“ v médiích přibývá. Pravdou je však spíše opak. Řada pesticidů byla zakázána a u těch, které se udržely je jejich bezpečnost přísně kontrolována. Vyšší počet nálezů reziduí pesticidů a dalších kontaminantů v potravinách také souvisí se zvýšením četnosti jejich kontrol, zpřesněním a zvýšením citlivosti kontrolních postupů. Některé kontrolní metody mohou kromě toho poskytovat zkreslené výsledky. V 90. letech minulého století vznikla panika s červeným vínem. Různé druhy červeného vína se jevíly jako silně mutagenní. Ukázalo se, že příčinou byl obsah flavonoidu kvercetin. Mutagenita byla kontrolována Amesovým testem, který je založen na zjišťování mutagenního účinku testovaných látek u bakterie *Salmonella typhimurium*. Látky mutagenní pro bakterie bývají mutagenní i pro vyšší organismy, ne však vždy. Mezi výjimky patří právě kvercetin, který je sice silným mutagenem pro salmonely, jeho účinek na člověka je však spíše příznivý, protože je účinným antioxidantem a byla u něho prokázána protinádorová účinnost. Kdyby ovšem nešlo o zájmy vinařů, mohl by být kvercetin zatracen. Posuzování různých nálezů by proto mělo být komplexní a uvážlivé. To ovšem neznamená, že by různé škodlivé látky neměly být z potravin a životního prostředí eliminovány. Určitou záruku neškodnosti mohou skýtat tzv. biopotraviny. Ty však jsou pro běžné konzumenty drahé. Kdyby to vedlo k omezování nákupu zeleniny a ovoce, pak by to mělo ještě horší dopad na zdravotní stav populace, než mohou mít rezidua pesticidů v běžných potravinách. V USA odhadli, že kontaminanty v běžných potravinách mohou způsobit předčasné úmrtí asi 1000 Američanů (z 300 mil. obyvatel) za rok. Pokud by však byl prodej běžných potravin zakázán a konzumenti odkázáni jen na drahé „biopotraviny“, zvýšil by se počet předčasně zemřelých na 26.000, protože by poklesla spotřeba ovoce, zeleniny a dalších potravin obsahujících antioxidanty.

Právě **antioxidanty**, jakými jsou antioxidační vitaminy (C a E), flavonoidy, selen, některé sloučeniny síry a řada dalších látek, jsou obecně považovány za prospěšnou protinádorovou prevenci.

Selen spolu s vitamínem E může snížit riziko vzniku rakoviny prostaty asi o třetinu. Ti, kteří často jedí zeleninovou stravu bohatou na  $\beta$ -karoten, prekurzor vitamínu A, onemocní rakovinou méně často. Retinoidy odvozené od vitamínu A nalezy dokonce uplatnění v protinádorové terapii. Výsledky zkoušek preventivního účinku vitamínu A a jeho prekurzorů jsou však rozporné. Studium vlivu  $\beta$ -karotenu na výskyt nádorového onemocnění u 29 tis. kuřáků ve Finsku přineslo zjištění, že u kuřáků, kterým byl podáván  $\beta$ -karoten, se dokonce zvýšil výskyt rakoviny plic o 28% proti těm, kterým bylo podáváno placebo. Z nedávné metaanalýzy výsledků celkem 68 různých klinických studií s více než 200 tisíci účastníky, vyplynulo, že vitamin A může zvyšovat úmrtnost kuřáků o 16% a  $\beta$ -karoten o 7%. Statisticky nevýznamné zvýšení mortality (o cca 4%) měl způsobit i vitamin E, podávání vitamínu C nebo selenu na rozdíl od obecně přijímaných závěrů mortality v průměru nezvyšovalo, ale ani nesnižovalo. Úmrtnost byla přitom však posuzována obecně, specifický vliv antioxidačních vitaminů a selenu na nádorová onemocnění zjišťován nebyl. Protinádorový účinek mohou mít i vitaminy B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> a kyselina listová. Bylo prokázáno, že jejich nedostatek má za následek, že místo thyminu se do DNA zabudovává uracil. Ten se sice páruje s adeninem stejně jako thymin, ale když vyskytne na blízkých místech opačných řetězců DNA, může dojít ke zlomu chromosomů, který může vést k nádorové transformaci buňky. Ale i u těchto vitaminů ukázaly výsledky, že v některých případech může docházet naopak k podpoře nádorového bujení. Nedostatek kyseliny listové ve stravě těhotných žen způsoboval defekty nervové trubice ve vyvíjejícím se embryu, jehož důsledkem byly vrozené vady nervového systému novorozenců včetně anencefalie – chybění mozku. Ve snaze je eliminovat byla v některých zemích přidávána kyselina listová do mouky. Nedávné hodnocení tohoto opatření v Chile však ukázalo, že se sice snížil výskyt těchto defektů, zato však ve srovnání s obdobím před fortifikací mouky kyselinou listovou (do r. 1996) vzrostl výskyt nádorů tlustého střeva. Mohlo však jít i o vliv jiných faktorů, protože se ve stejném období např. zvýšil podíl obézních lidí v zemi. Studium vlivu kyseliny listové na nádory proto pokračuje. Nedávné studie v Portoriku a ve Švédsku zaměřené na konzumaci multivitaminových přípravků přinesly zcela opačné výsledky: ve Švédsku bylo výsledkem zjištění, že multivitaminy zvyšují o 19% riziko vzniku nádorů prsu u žen, což bylo vysvětleno tím, že multivitaminy zvyšovaly hustotu prsní tkáně, zatímco v Portoriku bylo zjištěno naopak 33% snížení rizika. Obě studie však nebyly zcela srovnatelné. Stejně jako antioxidační vitaminy může mít protinádorové účinky celá řada dalších látek z rostlin, jako jsou různé deriváty síry v cibuli a česneku, sulforafan v brokolici, žluté barvivo kurkumin (z kurkumu, která je složkou karí), polyfenoly ze zeleného čaje, zmíněný kvercetin z červeného vína apod. Dostí diskutovaný je vliv různých fytoestrogenů (obsažených např. v sóji) na nádorová onemocnění. Některé fytoestrogeny mohou být agonisty estrogenních receptorů, jiné naopak antagonisty. Řada fytoestrogenů má kromě toho charakter antioxidantů. Účinek některých fytoestrogenů závisí na jejich koncentraci. Např. genistein (obsažen v jeteli) v nízkých koncentracích podporuje růst buněk nádorů prsu, ve vyšších koncentracích jej naopak brzdí. Protinádorové účinky mohou mít i některé složky živočišné potravy, např. tzv.  $\omega$ -3 nenasycené mastné kyseliny (označení  $\omega$ -3 udává polohu dvojné vazby od konce uhlíkatého řetězce), které jsou obsaženy zejména v tucích některých ryb. Protinádorový vliv má mít i nestravitelná složka potravy, vláknina, která pomáhá transportovat z těla ven zbytky po trávení. Tím se omezí účinek různých toxických látek, které zbytky strávené potravy obsahují. Přímý preventivní vliv vlákniny však nebyl prokázán. Obecně platí, že ovoce a zelenina, které jsou bohaté na antioxidanty a na vlákninu, mají na zdraví příznivý vliv. Na druhé straně nemusí být jednostranný příklon k rostlinné stravě nejlepší prevencí nádorových onemocnění. Statistiky ukazují, že některé nádory zažívacího traktu jsou četnější u vegetariánů, než u těch, kteří konzumují stravu smíšenou. Příčinou může být kontaminace některých složek vegetariánské stravy aflatoxiny, výrazně kancerogenními produkty plísně *Aspergillus flavus*.



Vystopovat účinek určitých složek potravy na nádorová onemocnění není snadné. Neustále jsou prováděny různé studie vlivu jednotlivých potravin na zdraví, výsledky však bývají nejednoznačné nebo i zkreslené. Studie bývají prováděny s malými skupinami dobrovolníků, netrvaly dostatečně dlouhou dobu a nedaří se při nich vyloučit vliv jiných faktorů. Situaci dále komplikuje i to, že obsah různých složek se může měnit při zpracování potravin.

Hlavním způsobem zpracování potravin je tepelná úprava. Ta je často nezbytná i ze zdravotního hlediska (ničení choroboplodných zárodků). Mnohé vitaminy i jiné složky potravy jsou však termolabilní a při tepelné úpravě jejich obsah klesá. Někdy dokonce mohou za vyšších teplot vznikat více či méně kancerogenní látky, např. různé deriváty pyrazinu při smažení masa nebo akrylamid, který se může tvořit při smažení bramborových hranolků a lupínků.

Ve snaze řešit problémy s nedostatečným výskytem nebo rozkladem některých zdraví prospěšných složek potravy byly na trh uvedeny syntetické nebo izolované vitaminy a některé další látky s antioxidantním nebo podobným účinkem ve formě „doplňků stravy“.

S takovými přípravky jsou rovněž prováděny různé studie účinnosti, ale jejich výsledky jsou nespolehlivé a často zkreslené. Důvodem není jen obtížná prokazatelnost preventivních účinků různých látek, ale i to, že výrobci zkoušených potravinových doplňků většinou zveřejňují pouze příznivá data a případné negativní výsledky zamlčují.

Jak už bylo zmíněno, v některých případech může být při suplementaci potravy různými vitaminy a dalšími doplňky stravy riziko vzniku určitých typů nádorových onemocnění dokonce zvýšeno. Obecně ale lze podávání vitaminů, antioxidantů apod. považovat za jednu z možností **chemoprevence nádorových onemocnění**. Podobně mohou snižovat riziko vzniku nádorového onemocnění u určitých skupin populace i některá **léčiva**.

Příkladem primární chemoprevence může být podávání antiestrogenů (tamoxifenu nebo raloxifenu) ženám po přechodu, u nichž je z různých důvodů (děděný zvýšený nebo naopak snížený počet kopií genů, jejich nadměrná nebo nedostatečná exprese nebo mutace) zvýšeno riziko vzniku nádorů prsu. V budoucnosti se bude primární prevence rozšiřovat s tím, jak budou zjišťovány chemopreventivní účinky léčiv a současně budou při genetickém testování odhalovány vrozené dispozice ke vzniku rakoviny (např. zvýšená exprese estrogenních receptorů nebo poškození tumorsupresorových genů).

Nová chemická léčiva, která by byla vyvíjena pouze pro protinádorovou prevenci, mají jen malou šanci na širší uplatnění. Vhodné přípravky by musely obsahovat dostatečně účinné a přitom netoxické látky, u nichž by se ani při dlouhodobém podávání neprojevovaly vedlejší účinky. Vyloučeny by měly u nich být i možnosti lékových a potravinových interakcí. Kromě toho by musely být poměrně levné, aby byly přístupné a atraktivní pro významnou část populace.

To však nelze zaručit u nových léčiv, jejichž zkoušení je nákladné, protože se musí provádět u velkých souborů pacientů, účinky se projeví až po řadě let a mezitím se mohou projevit nežádoucí účinky nebo vlivy jiných faktorů, které chemopreventivní účinek znehodnotí.

Větší šanci na zavedení do praxe proto mají léčiva dlouhodobě podávaná pacientům s nenádorovým onemocněním. Jejich bezpečnost je známa, jen je třeba doplnit údaje o preventivním účinku.

Chemopreventivní účinnost je nyní studována u asi 60 různých léčiv. Raloxifen, lék proti osteoporóze, může potlačovat vznik nádorů prsu u některých rizikových skupin žen, podobně jako tamoxifen. Navíc nemá některé vedlejší účinky tamoxifenu, má však jiné nežádoucí účinky. Statistické údaje o pacientech trpících aterosklerózou a léčených statiny – léky snižujícími hladinu cholesterolu v organismu – svědčí o tom, že tyto léky výrazně snižují riziko vzniku nádorů plic, a to jak u kuřáků, tak i nekuřáků. K tomu, aby statiny mohly být používány v prevenci rakoviny plic, popř. i dalších nádorových onemocnění, budou však zapotřebí další řádné klinické zkoušky jejich chemopreventivního účinku. Účinnou prevencí by mohlo být podávání protizánětlivých léků inhibujících cyklooxygenasy. Pravidelné dlouhodobé užívání kyseliny acetylsalicylové (aspirinu) snižovalo u sledované skupiny riziko vzniku nádorů střev a konečníku a pravděpodobně i nádorů prsu. U některých pacientů však přitom docházelo ke krvácení do gastrointestinálního traktu. U členů rodin se zvýšeným výskytem kolorektálního karcinomu by však přínosy léku mohly převládat. Podobně, i když hůře zdokumentované, preventivní účinky by měly mít i další nesteroidní protizánětlivé léky, např. ibuprofen. Podávání inhibitoru cyklooxygenasy celecoxibu pacientům se střevními polypy (coxiby byly zmíněny v souvislosti s aspirinem – viz Farm01) může snížit riziko přeměny polypů v nádory. Preventivní účinek má i hormonální antikoncepce, která snižuje výskyt nádorů vaječníků. V poslední době je diskutována otázka bezpečnosti tzv. hormonální substituční terapie (HST) – prevence osteoporózy a některých dalších poruch podáváním ženských pohlavních hormonů na doplnění jejich hladiny u žen, jimž se po přechodu snížila hormonální produkce. Ukazuje se, že HST může zvyšovat riziko nádorů prsu a pohlavních orgánů, ale na druhé straně snižuje riziko nádorů střev a konečníku.

Některé ze zmíněných látek, které se osvědčují v prevenci vzniku nádorů, mohou ale mít negativní efekt, pokud navzdory prevenci už došlo k onemocnění a byla zahájena protinádorová terapie.

Při radioterapii nebo při léčbě některými cytostatiky ničí nádorové buňky reaktivní kyslíkaté radikály. Antioxidanty mohou kyslíkaté radikály inaktivovat. „Doplňky stravy“, ale i některé potraviny (zelený čaj, grapefruity apod.) obsahující antioxidanty proto mohou potlačovat účinek protinádorové léčby, popř. zesilovat její nežádoucí účinky. Snižovat účinnost protinádorové terapie mohou i fytoestrogeny nebo některé imunostimulační látky. Pacient by proto při protinádorové léčbě měl vždy užívat různé potravinové doplňky, popř. i skladbu stravy, konzultovat s ošetřujícím lékařem.

Ještě významnějším způsobem primární prevence, než je chemoprevence, může být vakcinace. Snaha o vyvinutí preventivních protinádorových vakcín zatím nepřinesly jednoznačně uspokojivé výsledky, jednoznačně úspěšné v prevenci však jsou vakcíny proti onkogenním virům.

Nedávno bylo na celém světě zahájeno očkování vakcínami proti papilomavirům. Infekce ženských pohlavních orgánů některými typy těchto virů může vyvolat vznik nádorů děložního čípku, nádory však mohou být postiženy i jiné orgány žen, ale i pohlavní orgány mužů. Očkování se provádí u děvčat a mladých žen, popř. i u chlapců 3 dávkami vakcíny v intervalu 0,2 a 6 měsíců. Přes prokazatelné přínosy je vakcinace hrazena jen v některých zemích. Protože se papilomaviry přenáší především při pohlavním styku, je vakcinace odmítána některými náboženskými skupinami s tím, že může podporovat promiskuitní chování.

Primární prevence je nákladná a její úhrady se obtížně prosazují. Může však být farmakoekonomicky výhodná, protože i drahá účinná vakcinace je stále levnější než léčba pacientů, kteří onemocní.

Ekonomicky výhodná mohou být i opatření sekundární nebo terciární prevence. Objektivní porovnání přínosů a nákladů prevence však bývá obtížné, protože náklady se projevují okamžitě, zatímco přínosy až po delší době. Pojišťovny proto často přistupují k úhradám preventivních opatření příliš váhavě.

**Nástrojů sekundární prevence** nádorových onemocnění – spolehlivých diagnostických postupů – je zatím jen málo, nové jsou však vyvíjeny a jejich výsledky jsou stále spolehlivější.

Při plošném zjišťování výskytu nádorového onemocnění se uplatňuje mamografický screening (vyšetření prsů), stanovení hladiny prostatického specifického antigenu v krvi (vyšší hodnota může signalizovat nádor prostaty), průkaz „okultního“ krvácení (zjišťování krve ve stolici založené na testu na hemoglobin; výskyt krve může signalizovat přítomnost nádorů střev a konečníku), popř. dermatologické vyšetření (odhalení melanomů). Histologické nebo jiné podrobnější vyšetření následující po screeningových testech pak definitivně odhalí přítomnost nádorových buněk v podezřelých případech. K dispozici jsou diagnostické testy ke zjišťování hladiny různých nádorových antigenů v krvi. Ty ale nejsou vhodné pro široké preventivní nasazení, mají však velký význam pro kontrolu úspěšnosti terapeutického zásahu a zjišťování případné recidivy nádorového onemocnění. Zjištění cirkulujících nádorových buněk v krvi odhaluje riziko metastázování primárních nádorů. V budoucnosti lze očekávat zejména nástup genomických testů, které by měly odhalit riziko vzniku nádorového onemocnění a nasměrovat pacienta na primární prevenci. U nemocných určují genomické testy optimální terapii.

Důležitou součástí **terciární prevence** je **adjuvantní chemoterapie**, podávání protinádorových léčiv po léčebném (např. chirurgickém) zákroku s cílem zabránit recidivě nebo alespoň prodloužit dobu bez příznaků onemocnění.

Snad nejnámějším přípravkem pro adjuvantní terapii je již zmíněný tamoxifen, který se podává ženám po odoperování nádoru prsu. Jeho podávání po dobu cca 5-6 let výrazně snižuje výskyt nádoru v druhém prsu nebo recidivu onemocnění u žen s vyšším rizikem vzniku nádorového onemocnění. Součástí adjuvantní chemoterapie je i podávání různých jiných protinádorových léků a jejich kombinací po určitou dobu po dalších chirurgických zákrocích. Cílem takové adjuvantní terapie přitom je zlikvidovat pokud možná všechny zbytkové nádorové buňky, které při zákroku nebylo možné odstranit.

## Kontrolní otázky pro zopakování

1. Proč roste výskyt nádorových onemocnění?
2. Co je hlavní příčinou vzniku nádorových onemocnění?
3. S jakými mutacemi se můžeme setkat v nádorových buňkách?
4. Jak mohou být geny „umlčeny“?
5. Co jsou epigenetické změny?
6. Co je RNA interference?
7. Jaké jsou typy malých regulačních RNA?
8. Čím se liší nádorové buňky od normálních tkáňových buněk?
9. Jaké jsou hlavní mechanismy účinku „klasických“ protinádorových léčiv?
10. Co si představíte pod pojmem „cílené“ protinádorové léčivo? Uveďte příklady.
11. Jaké mohou být mechanismy účinku nových „cílených“ protinádorových léčiv?
12. Proč se velmi často používají v chemoterapii nádorů kombinace několika protinádorových léčiv?
13. Jaké závažné vedlejší účinky mívají protinádorová léčiva a proč?
14. Jak se hodnotí výsledky protinádorové terapie?
15. Co je cílem primární, sekundární a terciární prevence nádorových onemocnění?
16. Jaké jsou možnosti a problémy chemoprevence nádorových onemocnění?