

Imunotoxiny

Mezníkem ve vývoji směřovaných léčiv proto byl rok 1975, kdy George Köhler a Cesar Milstein uveřejnili v časopise *Nature* postup přípravy protilátek monoklonálních, vyznačujících se vysokou specifitou vazby na antigen. Za tento objev jim byla v roce 1984 udělena Nobelova cena. Tím začala éra imunotoxinů – konjugátů monoklonálních protilátek a vysoce účinných buněčných jedů, jako jsou ricinový α -řetězec, abrin a difterický nebo choleryový toxin. Smrtelně jedovaté látky, jejichž jediná molekula dokáže zabít cílovou buňku, byly vybrány záměrně. Bez směřování je k léčbě použít nelze, ale kdyby se podařilo „vystřelovat je přímo na cíl“, byla by Ehrlichova myšlenka naplněna. Při přípravě imunotoxinů je však třeba překonat řadu překážek. Důležité je, aby (1) kovalentní vazbou biologicky aktivní látky nedošlo k inaktivaci protilátkové molekuly, (2) k cílové buňce bylo dopraveno dostatečné množství konjugátu dříve, než je odstraněn z periferní krve fagocytujícími buňkami rozpoznávajícími Fc-oblast protilátky, (3) ani toxin ani protilátka/imunoglobulin nevyvolávaly protilátkovou reakci. V klinickém testování je hlavním praktickým problémem imunotoxinů jejich relativně častá hepatotoxicita, syndrom kapilárního úniku (*vascular leakage syndrome*) a příležitostný výskyt HAMA protilátek (lidské anti-myši), pokud nejsou použity protilátky humanizované. Také z těchto důvodů nejsou výsledky klinických testů jednoznačně pozitivní.

Směrování léčiv, afinitní terapie

Přímá vazba léčiva na monoklonální protilátku, tak jak je tomu u imunotoxinů, má řadu nevýhod. Léčivo není z takového konjugátu uvolňováno kontrolovaně, ačkoliv je důležitou podmínkou, aby bylo během transportu krevním řečištěm inaktivní a aktivovalo se až v místě předpokládaného účinku, *in situ*. Nesnáz je v tom, že jak toxin, tak protilátka mají řadu funkčních skupin, které mohou do vazebné reakce vstupovat. Výsledný produkt nebývá proto pokaždé stejný, a v důsledku toho je pokaždé trochu jiné i jeho působení na cílovou tkáň. Problém řešila představa německého polymerního chemika Helmutha Ringsdorfa uveřejněná kolem roku 1975. Ten chtěl k dopravě a směrování léčiv použít vodorozpustné polymery, ať už přirozené, nebo syntetické. Umožňovaly by přemostění mezi léčivem a směřující molekulou a mohly by být i upravovány podle povahy patologického procesu. Polymerní nosiče je dnes možné připravovat tak, aby obsahovaly určité množství cíleně zvolených reaktivních chemických skupin.

Klasická léčiva jsou ve své většině nízkomolekulární látky s velmi přesně definovanou strukturou a molekulovou hmotností. V mnoha případech splňují náročné požadavky na účinek v živém organismu, i když často vyžadují opakované podávání. Velikost jejich molekuly nezajišťuje dlouhodobé setrvání v organismu, prochází filtrací ledvinami a jsou poměrně rychle vylučovány močí. Rovněž specifita jejich účinku bývá často malá

a pro dosažení potřebné koncentrace v místě požadovaného účinku je nezbytné, aby byla nízkomolekulární látka distribuována v dostatečném množství po celém organismu.

Protože klasická chemoterapie ničí všechny intenzivně se dělící buňky a buněčné systémy, nemocné i zdravé, je zabíjení zdravých buněk spolu s nemocnými velkým problémem zejména u vysokodávkové terapie. Velmi rychle se dělící nádorové buňky jsou sice vůči chemoterapii nejcitlivější, přesto však bývají pravidelně poškozovány také buňky kostní dřeně (a tedy i krvetvorba), léčivo je myelotoxické. Po léčbě se proto relativně často setkáváme s chudokrevností. Je to nedostatek bílých krvinek (lymfopenie, granulocytopenie) nebo krevních destiček (trombocytopenie), případně obou. Poškozeny mohou být i další orgány a pak mluvíme o tom, že léčivo je kardiotoxické (poškození srdečního svalu), nefrotoxické (poškození ledvin) nebo hepatotoxické (poškození jater). Většina chemoterapeutik do jisté míry poškozují i imunitní systém pacienta, je imunotoxická, přitom právě dobře fungující imunita je pro konečnou likvidaci nádorového onemocnění důležitá. Proto jsou vyvíjeny různé lékové formy (*prodrugs*), které se snaží tyto nedostatky odstranit. Makromolekulární látky, a především syntetické makromolekuly, polymery, nabízejí řadu možností, jak vlastnosti nízkomolekulárních léčiv, ale často i dalších výšemolekulárních biologicky aktivních látek (enzymů, proteinů, oligo a polynukleotidů) vylepšit.

Makromolekulární chemoterapeutika na bázi *N*-(2-hydroxypropyl)metakrylamidu (HPMA) byla chráněna původním československo-anglickým patentem a nadále jsou několika českými patenty chráněna. Jejich dalšímu výzkumu se věnují laboratoře v řadě zemí, včetně Spojených států amerických (USA) a Velké Británie. I naše týmy se zabývají dalším vývojem moderní generace polymerních protinádorových léčiv se zlepšeným terapeutickým potenciálem a významně sníženou vedlejší toxicitou. Námi studovaná polymerní léčiva jsou účinná jak *in vitro*, tak *in vivo*. Mohou být aktivně směřována nebo pasivně akumulována v solidních nádorech díky EPR efektu. Jsou částečně aktivní i u multičetné nádorové rezistence (MDR; *multidrug resistance*) a jsou imunoprotektivní, nebo dokonce imunomobilizující *in vivo*. Vlastní nosič, HPMA kopolymer, snižuje imunogenicitu navázaných bílkovin a umožňuje dlouhotrvající cirkulaci v periferní krvi. Konjugáty HPMA kopolymerů obsahující doxorubicin nebo farmorubicin a lidský IVHuIg (intravenózní lidský imunoglobulin) byly použity pro paliativní léčbu pacientů trpících pokročilým nádorovým onemocněním. V experimentu dokáže vhodně volený polymerní konjugát směřovaný monoklonálními protilátkami růst maligních buněk nejen zpomalit, ale agresivní onemocnění vyléčí tak důkladně, že se nevrátí ani po řadě měsíců.