

Azacytidin – Co Češi poznali

Látka, která je analogem přirozeného nukleosidu cytidinu, obsahuje místo pyrimidinového skeletu (cytosinu), triazinový skelet – 5-azacytosin. Azacytidin byl objeven v Ústavu organické chemie a biochemie v roce 1964 (Pískala a Šorm) a v témže roce bylo na experimentální myši leukemii i zjištěno, že sloučenina má významnou antiproliferační aktivitu (Šorm a Veselý). Systematický výzkum mechanismu účinku azacytidinu na bakteriích, leukemických buňkách a na experimentálních zvířatech vedl k základním poznatkům o jeho metabolismu. Ukázalo se, že tento antimetabolit cytidinu je, podobně jako přirozené nukleosidy, po vstupu do buněk a za účasti příslušných kinas, fosforylován na 5-azacytidin-5'-monofosfát, 5-azacytidin-5'-difosfát a 5-azacytidin-5'-trifosfát. V podobě 5'-trifosfátu je substrátem pro RNA-polymerasy a je inkorporován do t-RNA, mRNA i do preribosomální RNA. Tento zásah do metabolismu RNA vede k inhibici syntézy ribosomů a bílkovin (Veselý, Čihák, Zadražil, Fučík, Pačes a Doskočil 1965 - 1968). V roce 1966 Američan českého původu L. J. Hanka objevil azacytidin jako produkt mikroorganismu *Streptoverticillium ladacanus*. Jde tedy o antimetabolit přírodního původu, který byl dříve připraven chemickou syntézou.

Vědečtí pracovníci Ústavu organické chemie a biochemie přispěli i řadou dalších poznatků o interakci azacytidinu s enzymy biosyntézy nukleových kyselin, dále pak i o vzniku rezistence (Veselý, Čihák, Šorm 1968-1970). K významným výsledkům rozhodně patří i první údaje o účinnosti této látky na leukemii u dětí (Hrodek a Veselý 1971), které podnítily i řadu preklinických a klinických studií v zahraničí.

Cytostatická účinnost azacytidinu při experimentální léčbě vyvolala zájem v mnoha světových laboratořích a látka byla postupně testována na nejrůznějších modelech neoplasie. Další studium mechanismu účinku azacytidinu ukázalo, že 5-azacytidin-5'-difosfát je v buňce ribonukleotidreduktasou redukován na 5-aza-2'-deoxycytidin-5'-difosfát, který je po fosforylaci na 5-aza-2'-deoxycytidin-5'-trifosfát inkorporován do DNA. V důsledku inkorporace do DNA dochází i k inhibici její syntézy (Čihák a Veselý 1978).

V roce 1980 P. A. Jones (USC School of Medicine, Los Angeles) zjistil, že azacytidin indukuje změny v diferenciaci myších embryonálních buněk a inhibuje metylaci DNA *de novo*. Tyto experimenty přinesly první důkazy o roli modifikace DNA při buněčné diferenciaci. Záměna 5-methylcytosinu za 5-azacytosin vedla k jinému buněčnému fenotypu. Inkorporace 5-azacytosinu způsobuje stechiometrickou kovalentní vazbu DNA-methyltransferasy I na DNA, a tím dochází k submethylaci dubletů CpG, které jsou u řady malignit hypermetylovány. Hypomethylace DNA působením 5-azacytidinu resp. 5-aza-2'-deoxycytidinu pak následně způsobuje indukci diferenciaci a zástavu proliferace.

Po objevech Jonese a jeho spolupracovníků se zájem vědecké veřejnosti upřel hlavně na 5-aza-2'-deoxycytidin. Tato látka byla rovněž poprvé připravena v Ústavu organické chemie a biochemie Plimlem a Šormem už v roce 1964 a první preklinické studie na myší leukemii L1210 provedli Čihák a Veselý (1980). Následně se na výzkumu 5-aza-2'-deoxycytidinu podílela řada světových laboratoří, zejména však Jones a spol. v USA a R. L. Momparler v Kanadě (Hopital Sainte-Justine, Montreal). Výsledky čtyřicetiletého výzkumu, které zahrnují více než 3000 studií, vedly nakonec k povolení 5-azacytidinu (FDA, 2004; VidazaTM) i 5-aza-2'-deoxycytidinu k léčbě (FDA, 2006; decitabine, DacogenTM). V obou případech jde o injekční léčbu všech subtypů akutní myeloidní leukemie, která postihuje granulocyty a monocyty.

Dlouholetý výzkum obou sloučenin byl nezbytný pro pochopení všech souvislostí jejich polyvalentního metabolismu, a to zejména pro vysvětlení jejich vedlejších účinků. DNA methylační paradox (různá úroveň methylace CpG), který reguluje např. utlumení tumorsupresorových genů v průběhu maligní transformace a možnost farmakologické reverse tohoto děje působením DNA hypomethylačních agens, otvírá prostor pro epigenetickou terapii. Výzkum na tomto poli proto dále pokračuje. Azacytidin i decitabin jsou testovány na dalších typech neoplasí v řadě klinických studií. Jako příklad lze uvést melanom, karcinom ledvin a některé typy torakálních malignit. Současně jsou vyvíjeny nové sloučeniny – potenciální farmaka pro epigenetickou terapii, a to i v Ústavu organické chemie a biochemie.

Ivan Votruba