

Univerzita Karlova
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmakologie a toxikologie

Farmakokinetická léková rezistence v protinádorové terapii a možnosti její modulace

Habilitační práce
(soubor vědeckých prací doplněný komentářem)

Poděkování

Na tomto místě bych rád upřímně poděkoval všem lidem, kteří se na vzniku této habilitační práce podíleli, ať už ve formě vědecké spolupráce, profesního nasměrování či zdánlivě prostou mentální podporou.

Na prvním místě bych rád poděkoval doc. RNDr. Lence Luhové, Ph.D. za zažehnutí vědecké jiskry v rámci pregraduálního studia na mé *alma mater*. Dále bych rád vyjádřil svůj obrovský dík prof. PharmDr. Františku Štaudovi, Ph.D. za to, že mě dovedl k tak úžasnému oboru, jímž farmakologie je, dále za získání vědeckých zkušeností, motivační vedení a férovou podporu. Nemohu zapomenout na své nejbližší kolegy doc. PharmDr. Martinu Čečkovou, Ph.D., doc. PharmDr. Lukáše Červeného, Ph.D., prof. Ing. Vladimíra Wsóla a RNDr. Evu Novotnou, Ph.D., kterým děkuji za příjemnou spolupráci, podnětné profesní diskuze i osobní popovídání. Děkuji rovněž všem ostatním kolegům z katedry farmakologie a toxikologie a katedry biochemických věd včetně doktorandů a postdoktorandů za vytvoření příjemného pracovního prostředí, a mnohým z nich také za nezištnou vědeckou pomoc či přímou spolupráci.

V neposlední řadě děkuji všem kolegům ze spolupracujících tuzemských a zahraničních pracovišť. Konkrétně děkuji doc. PharmDr. Radimovi Kučerovi, Ph.D. z Farmaceutické fakulty UK a PharmDr. Adamovi Skarkovi, Ph.D. z Univerzity Hradec Králové za analytickou podporu a pomoc při oživení základních chemických principů. Můj dík dále patří MUDr. Ivo Hankemu, Ph.D. z Kardiochirurgické kliniky FNHK za ochotnou spolupráci ve formě poskytování nádorových vzorků a Dr. Lei Guo, Ph.D. (National Center for Toxicological Research, US FDA) a prof. Jan-Heiner Küpperovi, Ph.D. (Brandenburgische Technische Universität Cottbus-Senftenberg) za darování cenných buněčných modelů a přímou experimentální spolupráci, která výrazně pomohla rozvinout výzkum prezentovaný v této práci. Děkuji rovněž prof. Edmundu Maserovi, Ph.D. (Christian-Albrechts-Universität zu Kiel) za možnost získat obohacující zahraniční zkušenosti.

Speciální dík bych rád věnoval mé nejbližší rodině, zejména pak manželce Editě za lásku, trpělivost a bezmeznou podporu v časech dobrých i zlých a dětem Radimkovi a Klauďince za možnost poznání zcela ojedinělého pocitu ryzího rodičovského štěstí.

Obsah

Obsah.....	5
Seznam zkratk.....	8
1. Teoretický úvod.....	9
1.1 Nádorová onemocnění.....	9
1.1.1 Etiologie.....	9
1.1.2 Incidence a mortalita.....	11
1.1.3 Farmakoterapie.....	13
1.2 Farmakokinetická léková rezistence v protinádorové terapii.....	22
1.2.1 Obecné aspekty lékové rezistence.....	22
1.2.2 Role lékových transportérů ve farmakokinetické rezistenci.....	25
1.2.3 Role biotransformačních enzymů ve farmakokinetické rezistenci.....	27
1.2.4 Možnosti překonání farmakokinetické rezistence.....	29
2. Komentáře k předloženým pracím.....	32
2.1 Cíle práce.....	32
2.2 Práce předkládané v rámci habilitační práce.....	32
2.3 Stručný popis obsahu předložených prací.....	35
3. Stručný souhrn, závěry a perspektivy.....	40
4. Podíl předkladatele na jednotlivých publikacích.....	43
5. Seznam použité literatury.....	47
6. Soubor publikovaných prací.....	57
P1. Hofman J. , Ahmadimoghaddam D., Hahnova L., Pavek P., Ceckova M., Staud F.: Olomoucine II and purvalanol A inhibit ABCG2 transporter <i>in vitro</i> and <i>in situ</i> and synergistically potentiate cytostatic effect of mitoxantrone. <i>Pharmacol Res</i> 2012; 65 (3): 312 – 9.....	59
P2. Hofman J. , Kučera R., Cihalova D., Klimes J., Ceckova M., Staud F.: Olomoucine II, but Not Purvalanol A, Is Transported by Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1). <i>PLoS One</i> 2013; 8 (10): e75520.....	69
P3. Cihalova D., Hofman J. , Ceckova M., Staud F.: Purvalanol A, olomoucine II and roscovitine inhibit ABCB1 transporter and synergistically potentiate cytotoxic effects of daunorubicin <i>in vitro</i> . <i>PLoS One</i> 2013; 8 (12): e83467.....	81
P4. Hofman J. , Malcekova B., Skarka A., Novotna E., Wsol V.: Anthracycline resistance mediated by reductive metabolism in cancer cells: the role of aldo-keto reductase 1C3. <i>Toxicol Appl Pharmacol</i> 2014; 278 (3): 238 – 48.....	95
P5. Skarydova L., Hofman J. , Chlebek J., Havrankova J., Kosanova K., Skarka A., Hostalkova A., Plucha T., Cahlikova L., Wsol V.: Isoquinoline alkaloids as a novel type of AKR1C3 inhibitors. <i>J Steroid Biochem Mol Biol</i> 2014; 143: 250 – 8.....	109

- P6. **Hofman J.**, Skarka A., Havrankova J., Wsol V.: Pharmacokinetic interactions of breast cancer chemotherapeutics with human doxorubicin reductases. *Biochem Pharmacol* 2015; 96 (3): 168 – 78.....121
- P7. Zemanova L., **Hofman J.**, Novotna E., Musilek K., Lundova T., Havrankova J., Hostalkova A., Chlebek J., Cahlikova L., Wsol V.: Flavones Inhibit the Activity of AKR1B10, a Promising Therapeutic Target for Cancer Treatment. *J Nat Prod* 2015; 78 (11): 2666 – 74.....135
- P8. **Hofman J.**, Kučera R., Neumanova Z., Klimes J., Ceckova M., Staud F.: Placental passage of olomoucine II, but not purvalanol A, is affected by p-glycoprotein (ABCB1), breast cancer resistance protein (ABCG2) and multidrug resistance-associated proteins (ABCCs). *Xenobiotica* 2016; 46(5): 416-23.....147
- P9. Hintzpeter J., Seliger J.M., **Hofman J.**, Martin H.J., Wsol V., Maser E.: Inhibition of human anthracycline reductases by emodin - a possible remedy for anthracycline resistance. *Toxicol Appl Pharmacol* 2016; 293: 21-9.....157
- P10. Siroka J., Ceckova M., Urbanek L., Krystof V., Gucky T., **Hofman J.**, Strnad M., Staud F.: LC-MS/MS method for determination of cyclin-dependent kinase inhibitors, BP-14 and BP-20, and its application in pharmacokinetic study in rat. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2018; 1089: 24-32.....169
- P11. Sorf A., **Hofman J.**, Kucera R., Staud F., Ceckova M.: Ribociclib shows potential for pharmacokinetic drug-drug interactions being a substrate of ABCB1 and potent inhibitor of ABCB1, ABCG2 and CYP450 isoforms in vitro. *Biochem Pharmacol* 2018; 154: 10-7.....181
- P12. Novotna E., Büküm N., **Hofman J.**, Flaxova M., Kouklikova E., Louvarova D., Wsol V.: Aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3): a missing piece of the puzzle in the dinaciclib interaction profile. *Arch Toxicol* 2018; 92: 2845-2857.....191
- P13. Novotna E., Büküm N., **Hofman J.**, Flaxova M., Kouklikova E., Louvarova D., Wsol V.: Roscovitine and purvalanol A effectively reverse anthracycline resistance mediated by the activity of aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3). *Biochem Pharmacol* 2018; 156: 22-31.....207
- P14. Büküm N., Novotna E., Morell A., **Hofman J.**, Wsol V.: Buparlisib is a novel inhibitor of daunorubicin reduction mediated by aldo-keto reductase 1C3. *Chem Biol Interact* 2019; 302: 101-7.....219
- P15. Sorf A., Novotna E., **Hofman J.**, Morell A., Staud F., Wsol V., Ceckova M.: Cyclin-dependent kinase inhibitors AZD5438 and R547 show potential for enhancing efficacy of daunorubicin-based anticancer therapy: Interaction with carbonyl-reducing enzymes and ABC transporters. *Biochem Pharmacol* 2019; 163: 290-8.....229
- P16. **Hofman J.**, Sorf A., Vagiannis D., Sucha S., Novotna E., Kammerer S., Küpper J-H., Ceckova M., Staud F.: Interactions of Alectinib with Human ATP-Binding Cassette Drug Efflux Transporters and Cytochrome P450 Biotransformation Enzymes: Effect on Pharmacokinetic Multidrug Resistance. *Drug Metab Dispos* 2019; 47(7): 699-709.....241

- P17. **Hofman J.**, Sorf A., Vagiannis D., Sucha S., Kammerer S., Küpper J-H., Chen S., Guo L., Ceckova M., Staud F.: Brivanib Exhibits Potential for Pharmacokinetic Drug-Drug Interactions and the Modulation of Multidrug Resistance through the Inhibition of Human ABCG2 Drug Efflux Transporter and CYP450 Biotransformation Enzymes. *Mol Pharmaceut* 2019; 16(11): 4436-4450.....255
- P18. Vagiannis D., Novotna E., Skarka A., Kammerer S., Küpper J-H., Chen S., Guo L., Staud F., **Hofman J.**: Ensartinib (X-396) Effectively Modulates Pharmacokinetic Resistance Mediated by ABCB1 and ABCG2 Drug Efflux Transporters and CYP3A4 Biotransformation Enzyme. *Cancers* 2020; 12(4): E813.....273
- P19. Vagiannis D., Zhang Y., Novotna E., Morell A., **Hofman J.**: Entrectinib reverses cytostatic resistance through the inhibition of ABCB1 efflux transporter, but not the CYP3A4 drug-metabolizing enzyme. *Biochem Pharmacol* 2020; 178: 114061.....303
- P20. Novotna E., Morell A., Büküm N., **Hofman J.**, Danielisová P., Wsól V.: Interactions of antileukemic drugs with daunorubicin reductases: could reductases affect the clinical efficacy of daunorubicin chemoregimens?. *Arch Toxicol* 2020; 94: 3059-3068.....319
- P21. Tavares T. S., **Hofman J.**, Lekešová A., Želazková J., Wsól V.: Olaparib Synergizes the Anticancer Activity of Daunorubicin via Interaction with AKR1C3. *Cancers* 2020; 12(11): 3127.....331

Práce v oponentním řízení (Doplněk 1)

- PD1. **Hofman J.**, Vagiannis D., Chen S., Guo L.: The role of CYP3A4, CYP3A5 and CYP2C8 drug-metabolizing enzymes in the pharmacokinetic cytostatic resistance. *Chem Biol Interact*, submitováno.....349

Seznam zkratek

ABC	ATP-binding cassette
ABCB1	P-glykoprotein
ABCC1	multidrug resistance-associated protein 1
ABCG2	breast cancer resistance protein
AKR	aldo-ketoreduktáza(y)
ATRA	tretinoin (kyselina all-trans retinová)
AUC	plocha pod křivkou (area under curve)
CAR	chimerický antigenní receptor
Cas9	CRISPR associated protein 9
CBR1	karbonylreduktáza 1
CDKi	inhibitor(y) cyklin-dependentních kináz
CNT	koncentrační nukleosidový(é) transportér(y)
CRISPR	clustered regularly interspaced short palindromic repeats
CYP	cytochrom(y) P450
EMA	Evropská léková agentura (European Medicines Agency)
ENT	ekvilibrační nukleosidový(é) transportér(y)
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (U.S. Food and Drug Administration)
GST	glutathion-S-transferáza(y)
OCT	transportér(y) organických kationtů
PARP	poly(ADP-ribóza)polymeráza
SDR	dehydrogenázy/reduktázy s krátkým řetězcem
SLC	solute carrier transportér(y)
UGT	UDP-glukuronosyltransferáza(y)

Poznámka

S ohledem na současná nomenklaturní doporučení jsou lidské proteiny označeny velkými písmeny, zvířecí ekvivalenty jsou psány písmeny malými. Geny jsou vyznačeny kurzívou. V seznamu nejsou vedeny notoricky známé zkratky (CNS, DNA, miRNA aj.). Rovněž až na výjimky nejsou uvedeny zkratky názvů kináz, signálních drah, receptorů apod., které nejsou vyložene zásadní pro tuto práci a u nichž je v některých situacích zažité používání zkratek i bez uvádění plného názvu.

1. Teoretický úvod

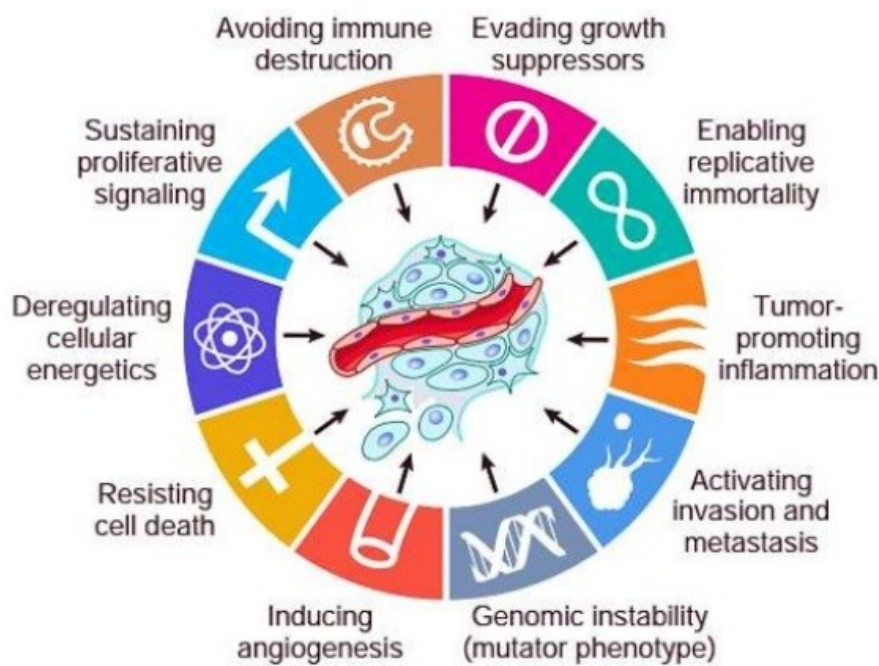
Nádorová onemocnění představují jednu z nejzávažnějších zdravotních komplikací, která je spolu s kardiovaskulárními chorobami příčinou bezmála dvou třetin všech úmrtí¹. Ačkoliv jsou k dispozici relativně účinné farmakoterapeutické prostředky, které se překotně vyvíjejí, stěžejním problémem je a bude fenomén lékové rezistence. Tato terapeutická překážka, jež je považována za noční můru klinických onkologů, často vede k selhání terapie a eventuálně až ke smrti pacienta. Existuje velké množství mechanismů, které jsou za rezistenci zodpovědné a bohužel stejně jako genetické pozadí nádoru samotného, i ony se v čase vyvíjí, mění a doplňují². S ohledem na závažnost lékové rezistence je soustředěn velký důraz na podrobný popis rezistenčních mechanismů a možností jejich modulace. Výsledky těchto výzkumů mají potenciál pozitivně ovlivnit terapeutické výstupy u milionů onkologických pacientů. Předložená habilitační práce se věnuje specifickému podtypu lékové rezistence zprostředkovanému mechanismy, které ovlivňují farmakokinetické chování protinádorových léčiv. Vlastní výzkum, prezentovaný ve formě souboru vědeckých prací, se zaměřuje na možnosti modulace farmakokinetické cytostatické rezistence s využitím farmakokinetických lékových interakcí nových cílených protinádorových léčiv a rovněž též na studium role vybraných biotransformačních enzymů v tomto fenoménu.

1.1 Nádorová onemocnění

1.1.1 Etiologie

Maligní nádorová onemocnění jsou řazena mezi genetická onemocnění polygenního charakteru. Jejich etiologie je spojena s genovými mutacemi, které zesilují proliferační a migrační potenciál buněk, pomáhají obcházet kontrolní mechanismy buněčného cyklu i složky imunitního systému. V průběhu onkogeneze dochází k aktivaci proto-onkogenů (genů s pro-proliferačním, pro-angiogenním, antidiferenciačním a antiapoptotickým působením, jako např. různé proteinkinázy, transkripční faktory, signální molekuly) na onkogeny. Druhým základním mechanismem je inaktivace nádorových supresorových genů (geny, jejichž produkty působí protichůdně vůči produktům onkogenů, např. protein p53, BRCA1 atd)³. K aktivačním, resp. deaktivacím dějům tradičně dochází skrze změnu nukleotidové sekvence nebo narušenou expresní regulaci na úrovni transkripce. Čím dál více důkazů rovněž poukazuje na důležitou roli epigenetických mechanismů (methylace CpG ostrovů v sekvenci genomové DNA, acetylace histonů) či změn v posttranskripčních regulacích exprese (miRNA)⁴. Pro vznik nádoru nestačí pouze jedna mutace, ale vždy se vyskytuje kombinace více genetických změn, které svým

spolupůsobením umožní množení nádorových buněk bez ohledu na běžná pravidla buněčného cyklu. Nádor se v čase dále vyvíjí, mutace přibývají, což vede k rozvoji invazivity a agresivity⁵. Laikovi tak lze vývoj nádoru přirovnat k velmi zrychlené evoluci – stejně jako při vývoji druhů přežívají a dále se vyvíjí pouze ty nádorové buňky, které mají nejvýhodnější kombinaci vlastností, které jim umožní být odolné, přizpůsobit se novým podmínkám a ubránit se útokům obranných mechanismů hostitele. Ve výsledku se nádory vyznačují charakteristickým souborem vlastností, kterými se odlišují od fyziologických buněk a které z nich činí „bezohlednou“ a do značné míry autonomní jednotku (Obr. 1).

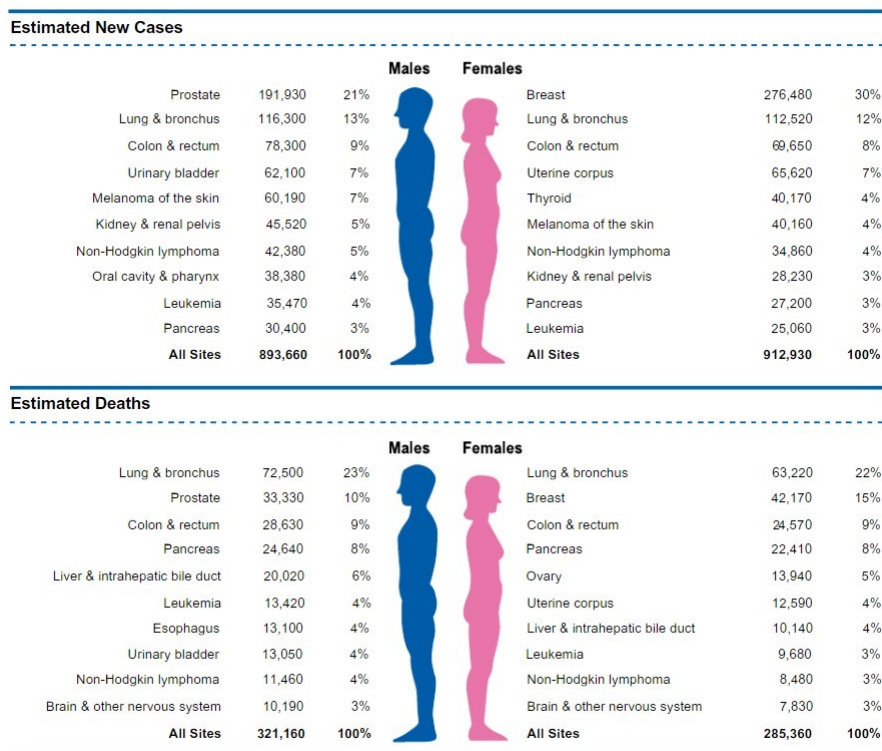


Obr. 1: Charakteristické znaky buněk nádorového bujení. Jelikož ve vztahu k fyziologickým buňkám jsou tyto znaky unikátní, je logické, že každý z nich se postupem času stal cílem protinádorových léčiv (viz. kapitola 1.1.3). Převzato z⁶.

Velkou fámou kolující mezi laickou veřejností je, že nádorová onemocnění jsou prakticky výlučně dědičná. Drtivá většina nádorů, jako např. některé druhy leukemií, nádory pankreatu, varlat a celá řada dalších vzniká zcela náhodným souběhem mutačních kombinací (někteří onkologové tuto skutečnost běžné veřejnosti připodobňují trefným výrazem „biologická smůla“). Naopak pouze několik typů (jmenovitě nádory prsu, vaječníků, dělohy a kolorekta) má jasně prokázaný dědičný podklad⁷. Další menší skupinou nádorových onemocnění jsou ta, u nichž hrají výraznou roli vnější vlivy charakteru kouření a nezdravého životního stylu (typicky nádory plic)⁸.

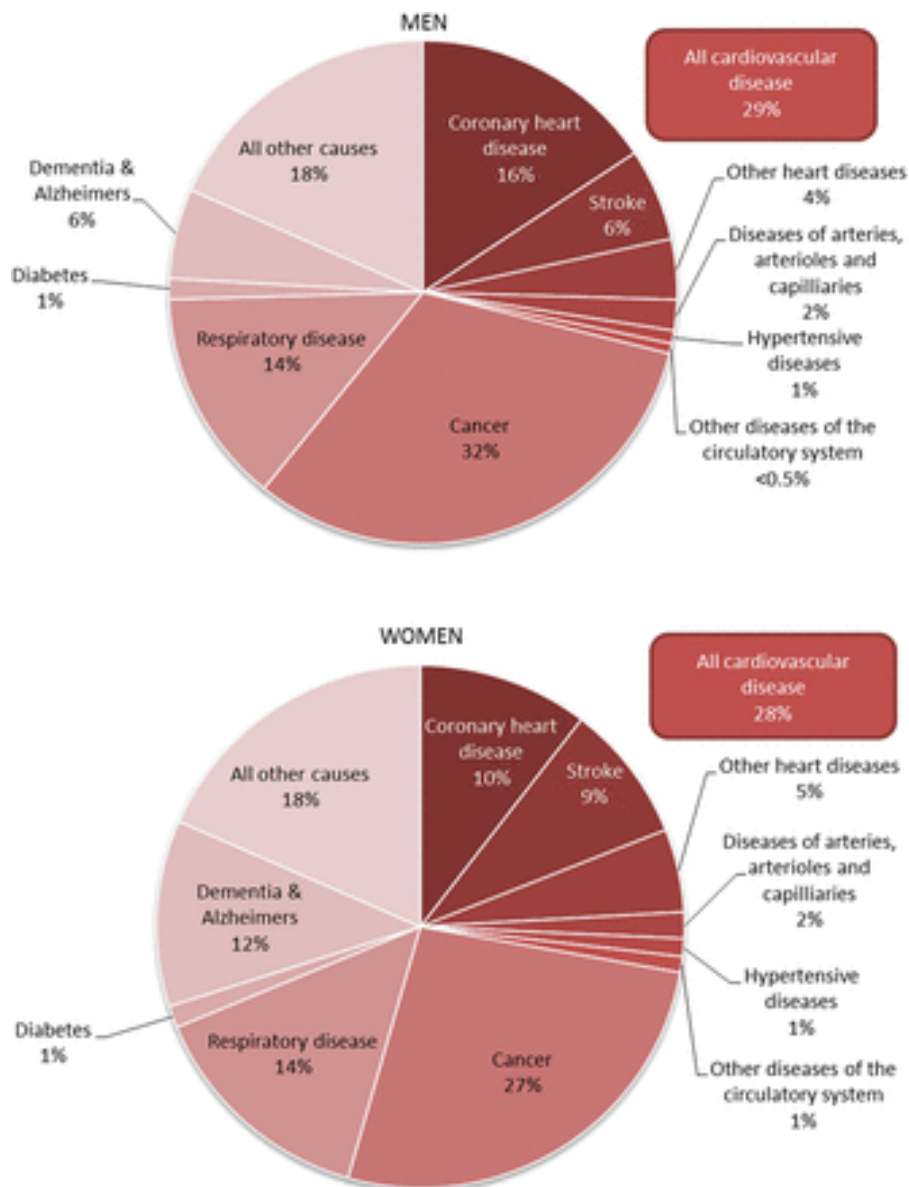
1.1.2 Incidence a mortalita

S ohledem na všechny výše uvedené skutečnosti a úvahy je logické, že nádorová onemocnění jsou diagnostikována zejména u geriatrických pacientů, u nichž je dostatek času na to, aby došlo ke kumulaci onkogenních mutací, které následně spouští rozvoj malignit⁹. Riziko výskytu zhoubného bujení je v adolescentním věku 15 – 17 let pro obě pohlaví v průměru 100x nižší (cca 0,3% riziko) než ve věku 70+ let (cca 30% průměrné riziko)¹⁰. Mimo rizika se mezi věkovými skupinami výrazně liší i spektrum nádorových chorob, pro dětské pacienty jsou typické akutní lymfoblastické leukemie, nádory CNS a lymfomy, pro geriatrické pak kožní nádory, nádory prsu, prostaty, plic a kolorekta. Bez zohlednění věku jsou nejčastěji diagnostikovány hormon-dependentní nádory prsu (ženy) a prostaty (muži), na druhém místě pak u obou pohlaví plicní nádory¹. V žebříčku mortality jsou zdánlivě nelogicky s velkou rezervou první plicní nádory¹, je to však dáno jejich extrémně nízkou léčitelností (pětileté přežití se v průměru pohybuje okolo pouhých 15 %¹¹) a často bezpříznakovým průběhem v ranných klinických stádiích¹². Ze statistik jasně vyplývá, že jakýkoliv posun v terapii plicních nádorů může pomoci obrovskému množství pacientů, což byl jeden z hlavních důvodů, proč jsme se tomuto typu solidních malignit začali v posledních letech detailně věnovat. Přehled incidence a úrovně mortality pro jednotlivé typy nádorových onemocnění je znázorněn na Obr. 2.



Obr. 2: Očekávaná incidence a mortalita pro jednotlivé typy malignit podle pohlaví v USA pro rok 2020. Převzato z¹.

Nádory jsou v průměru příčinou přibližně 30 % všech úmrtí, dosahují tak tedy prakticky identické úrovně jako kardiovaskulární choroby (Obr. 3). Zatímco celková incidence nádorových onemocnění kvůli stárnutí populace v rozvinutých zemích spíše stoupá, mortalita stagnuje či mírně klesá, a to zejména z důvodu lepší osvěty a prevence i díky vývoji nových diagnostických, prognostických a terapeutických prostředků¹.



Obr. 3: Graf podílu jednotlivých příčin smrti na celkové mortalitě sestavený na základě dat sesbíraných ve Spojeném království v roce 2014. Převzato z¹³.

1.1.3 Farmakoterapie

1.1.3.1 Historie protinádorové léčby

Nádorová onemocnění existovala po tisíciletí, jak dokládají např. nálezy nádorů kostí u ostatků obyvatel jižní Ameriky či mumií ze starého Egypta, velmi pravděpodobně jsou stejně stará jako lidstvo samo¹⁴. Již staří Egypťané či Řekové si uvědomovali nebezpečnost choroby a nevědomky byli prvními průkopníky onkologické léčby. Z této doby existují záznamy o resekcích postupech pro nádory prsu, tedy typu nádorů, které jsou snadno zjistitelné a lokalizovatelné i bez pokročilých diagnostických a zobrazovacích technik¹⁵. Chirurgická léčba se stala na mnoho staletí jediným relativně účinným terapeutickým prostředkem. Na přelomu 19. a 20. století byl pár let po objevu radioaktivity popsán a využit její potenciál pro diagnostiku a léčbu nádorového bujení¹⁶. Protinádorová farmakoterapie, jako poslední ze tří základních onkologických léčebných přístupů, se zrodila za druhé světové války díky odhalení antiproliferačních účinků mustinu, prototypu alkylačních látek. Za tímto přelomovým objevem stáli uznávaní guru farmakologie, L. S. Goodman a A. Gilman¹⁷. Od té doby do současnosti bylo vyvinuto velké množství protinádorových léčiv, přičemž dnes se jedná o jednu z nejširších farmakologických skupin. V klinické praxi se farmakoterapie běžně kombinuje s chirurgickými¹⁸ a/nebo radioterapeutickými přístupy¹⁹.

1.1.3.2 Konvenční protinádorová chemoterapie

Základním kamenem konvenční protinádorové chemoterapie je podávání cytostatik, která inhibují buněčné dělení a působí zánik buněk. Děje se tak skrze interferenci s buněčnými ději, které jsou pro proliferaci zásadní. Přehled jednotlivých skupin cytotoxických léčiv a jejich mechanismů účinku je uveden v Tab. 1. Mimo skupin popsanych v tabulce existují i jednotlivá léčiva s různými mechanismy účinku, např. L-asparagináza, hydroxyurea, tretinoin, anagrelid, trioxid arsenu či mitotan. V terapii hormon-dependentních nádorů se mimo standardních cytostatik uplatňují antiestrogeny, antiandrogeny, inhibitory aromatázy a analoga gonadorelinu²⁰. Součástí konvenční chemoterapie mohou být též glukokortikoidy²¹.

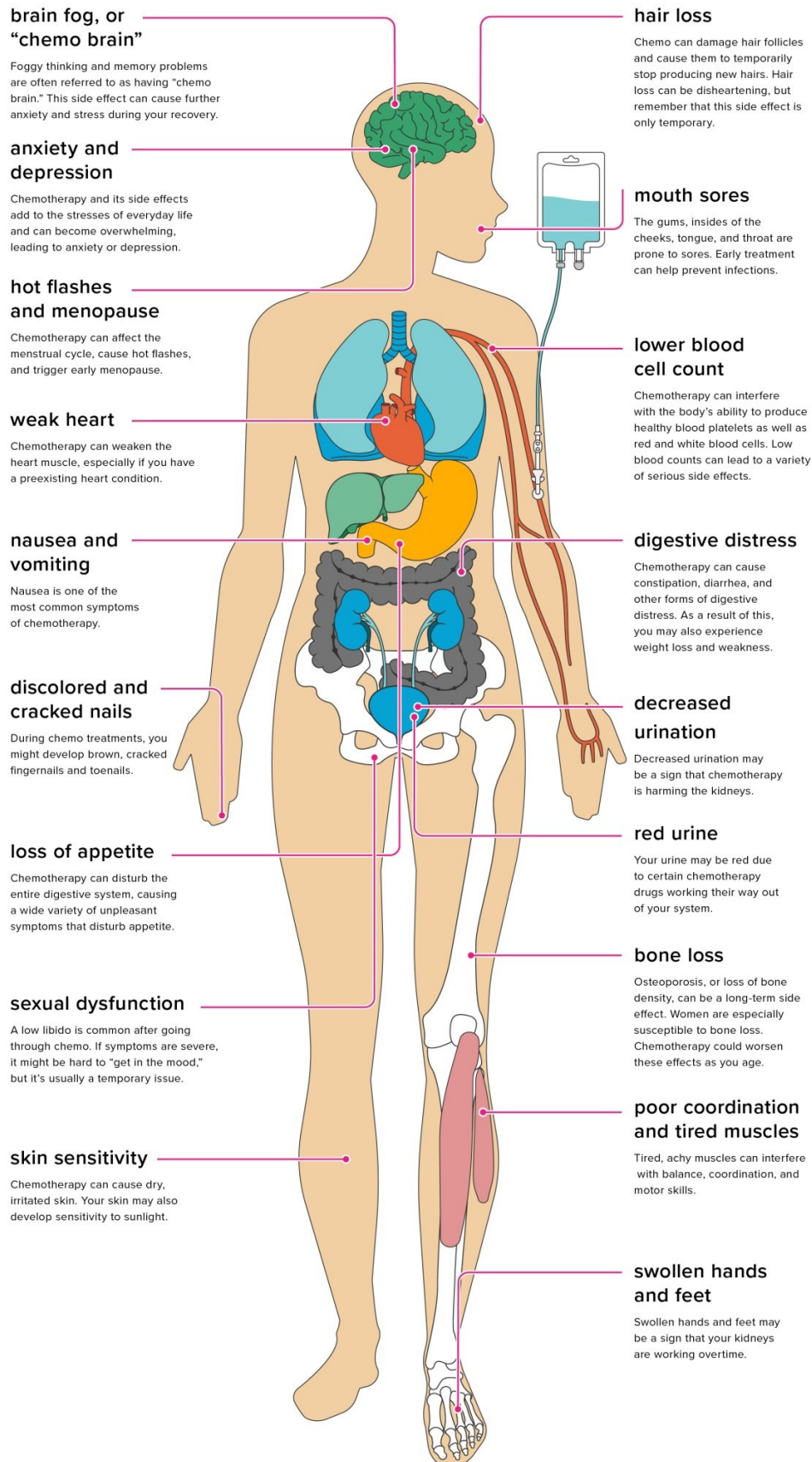
Cytostatika mohou být dělena z pohledu závislosti na konkrétní fázi buněčného cyklu na fázově specifická či nespecifická. Fázově specifická cytostatika působí na buňky v příslušných fázích buněčného cyklu (např. *Vinca* alkaloidy postihující M-fázi nebo antimetabolity ovlivňující S-fázi). Pro svůj účinek vyžadují, aby buňky aktivně procházely buněčným cyklem, a proto jsou účinné pouze na nádory s vysokou frakcí rychle proliferujících buněk (př. hematologické malignity)^{22,23}. Fázově nespecifická cytostatika (např. alkylační látky) postihují buňky nádorového bujení bez

ohledu na to, v jaké fázi buněčného cyklu se právě nachází, a tudíž jsou účinné i na solidní tumory s nízkým podílem intenzivně proliferujících buněk (př. ovariální karcinom)²².

Tab. 1: Zjednodušený přehled cytostatik a jejich mechanismů účinku. Koncipováno dle²⁰.

skupina	mechanismus účinku
alkylační látky	alkylace genomové DNA → inhibice transkripce a replikace
antimetabolity	inhibice syntézy nukleotidů a inhibice elongace řetězců nukleových kyselin → inhibice transkripce a replikace
<i>Vinca</i> alkaloidy <i>Taxus</i> alkaloidy	interakce s tubulinem a následné znemožnění normální funkce mitotického vřeténka → zástava buněčného cyklu v M-fázi
antracykliny deriváty antrachinonu deriváty akridinu	interkalace do DNA → inhibice transkripce a replikace
deriváty kamtotecinu deriváty epipodofylotoxinu antracykliny deriváty antrachinonu deriváty akridinu	inhibice topoizomerázy I nebo II → zlomy v DNA
epigenetická cytostatika	inhibice DNA metyltransferáz nebo histondeacetyláz → obnovení exprese nádorových supresorových genů
inhibitory proteazomu	inhibice proteazomu → signalizační chaos

Společným jmenovatelem všech konvenčních cytostatik je nízká selektivita jejich působení. Nechtěné zasažení fyziologických (zdravých) buněk vede k manifestaci nežádoucích účinků, které jsou pro cytostatika typické. Nejčastěji se vyskytuje toxicita reflektující postižení rychle proliferujících zdravých tkání (myelosuprese a následné poruchy tvorby krvetvorných buněk, gastrointestinální toxicita, reprodukční toxicita či veřejnosti dobře známá alopecie, která sice ve srovnání s ostatními nežádoucími účinky nemá závažné fyzické dopady, ale může výrazně negativně ovlivnit psychiku pacienta). Velmi časté jsou nauzea a zvracení, které také představují velkou psychickou zátěž a vedou ke sníženému příjmu potravy, dehydrataci a ztrátě minerálů^{20,22,24}. Oproti výše zmíněným obecným nežádoucím účinkům je výskyt specifických navázán na chemickou strukturu určitého cytostatika (či podskupiny cytostatik) a zvláštnosti mechanismu účinku či farmakokinetických vlastností. Do této skupiny nežádoucích účinků spadá nefrotoxicita a urotoxicita, kardiotoxicita, pneumotoxicita, poškození kůže, neurotoxicita, ototoxicita, teratogenita a výskyt sekundárních malignit²⁰. Manifestace nežádoucích účinků zpravidla vyžaduje podpůrnou léčbu a/nebo úpravu či změnu chemoterapeutického režimu²⁵. Přehled typických nežádoucích účinků chemoterapie je znázorněn na Obr. 4.



Obr. 4: Typické nežádoucí účinky konvenční chemoterapie. Převzato z²⁶.

Zásady racionální chemoterapie jsou založeny na několika základních pilířích (zpracováno dle²⁰):

- 1) Léčba by měla být zahájena co nejdříve po odhalení nádoru. Čím menší je velikost a nižší stádium nádoru, tím snadněji je cytostatiky zničen.
- 2) Využití kombinace cytostatik. Monoterapie má téměř výlučně menší účinnost než kombinace a často vede k rychlému rozvoji lékové rezistence na dané léčivo.
- 3) Využití cyklické léčby s přestávkami. Přestávky jsou zásadní pro regeneraci fyziologických tkání. Intervaly mezi cykly by měly být pečlivě zvoleny (předčasné zahájení dalšího cyklu může způsobit těžké postižení regenerujících zdravých buněk, opožděné pak vede k repopulaci nádoru a relapsu).
- 4) Dávky cytostatik by měly být dostatečně velké, aby byl zaručen spolehlivý protinádorový účinek. Nedostatečné dávkování je nejen neefektivní, ale zvyšuje též riziko vzniku lékové rezistence.
- 5) Léčba by měla pokračovat i určitou dobu po dosažení remise pro eliminaci zbytkové populace. Zbytkovou populaci, jež může být příčinou relapsu, nelze odhalit běžnými diagnostickými metodami. Její přítomnost lze očekávat jak po chemoterapii, tak po chirurgické resekci či radioterapii.

Ačkoliv v posledních třech dekadách došlo k překotnému vývoji farmakoterapeutických prostředků pro léčbu nádorových onemocnění, cytostatika nadále zůstávají nezastupitelnou součástí a standardem onkologické léčby. Objevy cytostatik s originálními mechanismy účinku už jsou sice sporadické, v seznamech schválených léčiv se ale přesto nová cytostatika stále objevují. Nejčastěji se jedná o modifikované lékové formy konvenčních cytostatik (nedávno schválené jsou např. lipozomální formy irinotekanu²⁷, daunorubicinu s cytarabinem²⁸, gelová formulace mechloretaminu²⁹ a paklitaxel PEGylovaný či navázaný na albuminové nanočástice³⁰). Nové formy nemusí nutně ovlivňovat účinnost, ale mohou pouze signifikantně vylepšit farmakokinetické vlastnosti a/nebo toxický profil účinné látky. Další variantou u nových konvenčních chemoterapeutik bývají tzv. „me too“ léčiva či noví zástupci stávajících farmakodynamických podskupin (př. nesteroidní antiandrogeny apalutamid a darolutamid³¹ nebo nové alkylojící cytostatikum trabektedin³² schválené během uplynulých pěti let).

1.1.3.3 Cílená protinádorová farmakoterapie a aktuální trendy ve vývoji protinádorových léčiv

V předchozí kapitole byl nastíněn neselektivní charakter konvenčních cytostatik včetně toxických důsledků této vlastnosti. V novodobé éře vývoje léčiv je kladen důraz nejen na vyšší účinnost nových léčiv, ale mnohem více než dříve také na jejich bezpečnost³³. Rozšiřující se znalost biologických drah podílejících se na kancerogenezi umožňuje vytipovat cíle, které jsou nadměrně aktivované v nádorových buňkách. Nová, tzv. cílená léčiva, interagují s těmito specifickými cíli, a vykazují tak ve srovnání s cytostatiky mnohem větší selektivitu vůči nádorovým buňkám³⁴. Tato charakteristická vlastnost ve výsledku vyúsťuje v menší počet závažných nežádoucích účinků³⁵. Časté (zj. u tzv. malých molekul) je perorální podání, které je pro pacienty komfortní a zvyšuje jejich adherenci k léčbě³⁶. První cílená léčiva působící na signální dráhy se začala objevovat v klinické praxi na konci minulého století, od té doby je k dispozici několik skupin nových léčiv s různými mechanismy účinku. Jejich přehled je uveden v Tab. 2.

Tab. 2: Zjednodušený přehled klinicky využívaných skupin cílených protinádorových léčiv.

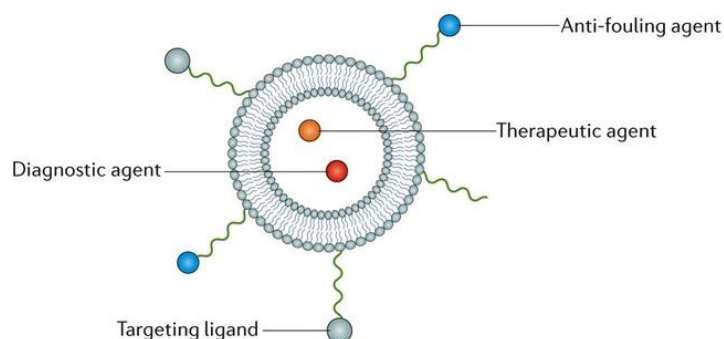
skupina	mechanismus účinku	v praxi od (první zástupce)*
monoklonální protilátky ^{37,38}	1) blokáda extracelulárního onkogenního receptoru (př. VEGF) → inhibice proliferace, neovaskulogeneze, metastazování a jiných dějů řízených receptorem + komplementem nebo leukocyty zprostředkovaná cytotoxická reakce 2) vazba na specifický CD znak leukemických/lymfomových/myelomových buněk (CD3, CD19, CD20, CD30, CD38, CD52, CD319...) → indukce apoptózy, komplementem nebo leukocyty zprostředkovaná cytotoxická reakce	1997 (rituximab)
inhibitory imunitních kontrolních bodů ^{39**}	blokáda imunitních kontrolních bodů CTLA-4, PD-1, PD-L1 → obnova „zviditelnění“ nádorových buněk pro T-buňky	2011 (ipilimumab)
inhibitory proteinkináz ^{40,41}	inhibice onkogenních proteinkináz (př. VEGF, MET, BRAF, ALK, CDK...) → inhibice proliferace, neovaskulogeneze, metastazování, podpora diferenciac a apoptózy	2001 (imatinib)
PARP inhibitory ⁴²	akumulace dvouválcových zlomů během replikace → selektivní replikační stres v buňkách s mutací DNA reparačních genů <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>PALB2</i>	2014 (olaparib)
modulátory apoptotických drah ⁴³	inhibice antiapoptotických proteinů (BCL-2, v klinickém zkoušení jsou látky cílí na protein IAP) nebo agonismus „death receptorů“ (v klinickém zkoušení cíl TRAIL) → indukce apoptózy	2016 (venetoclax)
inhibitory drah Hedgehog, Wnt a Notch ⁴⁴	inhibice SMO a GLI1/2 (druhý jmenovaný cíl v klinickém zkoušení) → eliminace přirozeně chemorezistentní populace nádorových kmenových buněk	2012 (vismodegib)
inhibitory izocitrátdehydrogenáz ⁴⁵	inhibice mutované formy IDH1 nebo IDH2 → inhibice tvorby R-enantiomeru 2-hydroxyglutarátu → obnovení aktivity DNA demetyláz a histon demetyláz → obnovení exprese nádorových supresorových genů a diferenciac	2017 (enasidenib)
selektivní inhibitory nukleárního exportu ^{46,47}	inhibice exportinu 1 (XPO1) → blokáda nukleárního exportu tumor supresorových proteinů, růstových faktorů a mRNA onkogenů → zástava buněčného cyklu a indukce apoptózy	2019 (selinexor)

* Data z evropského a/nebo USA trhu.

** Z technologického pohledu tato skupina spadá do skupiny monoklonálních protilátek, ale funkčně bývá vyčleňována samostatně jako důležitá součást imunoterapie. Žádný nízkomolekulární inhibitor imunitních kontrolních bodů dosud nebyl schválen, několik látek je v preklinickém/klinickém vývoji⁴⁸.

Z cílených léčiv jsou nejrozšířenější monoklonální protilátky a inhibitory proteinkináz, každá z těchto dvou skupin dnes čítá několik desítek zástupců. Ostatní skupiny mají zástupců pouze několik, popř. pouze jednoho, a často mají svou specifickou indikaci (např. *BRCA*-mutantní nádory prsu a ovaria u *PARP* inhibitorů⁴² nebo bazocelulární karcinom u inhibitorů drah Hedgehog, Wnt a Notch⁴⁴). Velké naděje jsou vkládány do rozvoje imunoterapie⁴⁹, jejíž terapeutický potenciál je neoddiskutovatelný a která momentálně zažívá obrovský rozmach (cca 50 % z nově schválených protinádorových monoklonálních protilátek v posledních pěti letech jsou molekuly mířící na imunitní kontrolní body). Využití vlastního imunitního systému hostitele zaručuje vysokou úroveň selektivity, a jedná se tak o vysoce bezpečný přístup⁵⁰. V širším kontextu imunoterapie zahrnuje celou řadu přístupů a farmakoterapeutických prostředků (protinádorové vakcíny, imunomodulancia, interferony a interleukiny, hematopoetické růstové faktory či několik substrategií v rámci genové terapie)²⁰. Cílená léčiva se často kombinují s konvenčními chemoterapeutiky, ať už spolu nebo sekvenčně^{51,52}. Je nutné podotknout, že ačkoliv je někdy cílená léčba deklarována jako netoxická, i tento typ léčiv vykazuje nežádoucí účinky (dochází k určité úrovni interference s fyziologickými signálními drahami)²⁰. Nejčastějšími nežádoucími účinky je kožní a gastrointestinální toxicita (vyrážky, průjem), existuje však i celá řada dalších (např. proteinkinázové inhibitory vykazují vždy specifický soubor nežádoucích účinků v závislosti na dané cílové kináze, které se objevují bez ohledu na to, o jakého člena podskupiny se jedná)^{53,54}.

Mezi další nadějně strategie v aktuálním klinickém protinádorovém výzkumu patří modulační autofagie⁵⁵ a nádorově specifického metabolismu⁵⁶ či hypoxií aktivovaná proléčiva⁵⁷. Více méně samostatně stojícím přístupem je teranostika, resp. nanoteranostika, která integruje terapii a diagnostiku do jednoho prvku, přičemž respektuje interindividuální rozdíly mezi pacienty. Ideální (nano)teranostikum umožňuje diagnózu a prognózu odpovědi na léčbu, cílené doručení protinádorového léčiva do tumoru, popř. i monitoring odpovědi na léčbu^{58,59} (Obr. 5).



Nature Reviews | [Materials](#)

Obr. 5: Koncept moderního teranostika. Diagnostická složka může být nahrazena či ideálně doplněna o prognostický či monitorovací prvek. Převzato z⁵⁸.

Žádné teranostikum v tomto komplexním moderním pojetí zatím nebylo schváleno (přítom za teranostikum je považován i obyčejný radioaktivní jód používaný několik desetiletí pro léčbu a diagnostiku některých poruch štítné žlázy⁵⁸). (Nano)teranostika se překrývá s konceptem cíleného směřování léčiv (alternativně též cílené distribuce). Ten se nesoustředí na diagnostické či prognostické aspekty, ale pouze na selektivní doručení léčiva do buněk nádoru⁶⁰. Cílená distribuce je široké téma, obecně se jedná o spojení standardního protinádorového léčiva s určitým ligandem (př. monoklonální protilátka, oligonukleotid, polymer, sacharidový epitop), popř. umístění léčiva do určitých chemických struktur (př. funkcionalizované lipozomy), které specificky interagují s molekulami na povrchu nádoru a umožní selektivní internalizaci do jeho buněk^{61,62}. Pokrok v chemickém inženýringu umožňuje design pokročilých biodegradabilních struktur, které často nejsou zodpovědné pouze za selektivní doručení k nádoru, ale také podporují uvolnění v nádoru či zlepšují farmakokinetické chování léčiva (s ohledem na zvýšenou kyselost a hypoxii v nádorech jsou např. vyvíjeny různé pH nebo redox-senzitivní linkery, které v plazmě „drží léčivo na uzdě“ a v nádoru se rozloží a léčivo spolehlivě uvolní)⁶³⁻⁶⁶. Cílenou distribuci nepochybně čeká velká budoucnost, dosud však bylo schváleno pouze několik léčiv spadajících pod tuto strategii (gemtuzumab a inotuzumab ozogamicin, brentuximab vedotin a trastuzumab emtansine).

Samostatně stojící strategií, uplatňující se ve farmakoterapii různých onemocnění včetně nádorových, je genová terapie. Genetický podklad malignit ji přímo předurčuje pro využití v jejich terapii. V souladu s tím indikace nádorových onemocnění vykazuje více než 65% podíl na celkovém počtu genově terapeutických klinických zkoušek⁶⁷. Nejstarším přístupem, jehož princip byl formulován již v 70. letech minulého století, je vnesení geneticky správné varianty mutovaného genu a její exprese (tzv. „gene augmentation therapy“). Pro doručení genetické informace do buněk se používají buď virové nebo chemické transdukční/transfekční systémy, omezeně pak fyzikální metody. Dalším přístupem je blokáda exprese nadměrně exprimovaného patogenního genu pomocí antisense nebo antigene oligonukleotidů a metodik využívajících mechanismu RNA interference (siRNA, shRNA, miRNA, antagomiry)⁶⁸. Nejnovější substrategií je úprava genetické informace (tzv. „therapeutic genome editing“), která má největší potenciál⁶⁹ a zahrnuje využití čtyř nukleázových systémů, z nichž nejnovější je CRISPR-Cas9^{70,71} a jeho vylepšené varianty („prime editing“, mutovaný Cas9 enzym⁷²). Existuje ještě několik dalších specifických technik, které se obtížně zařazují (sebevražedné geny⁷³, DNA vakcíny⁷⁴, onkolytické viry⁷⁵, „splice-switching“ oligonukleotidy⁷⁶, ribozymy⁷⁷/DNAzymy⁷⁸ a aptamery⁷⁹). Mnoho potenciálních genových terapeutik je v klinickém zkoušení, pouze 5 jich bylo zavedeno v několika uplynulých letech do klinické praxe (viz. Tab. 3). Všechna z nich lze zároveň zařadit do imunoterapie a některé též do T-buněčné terapie⁸⁰.

Tab. 3: Genová/buněčná (imuno)terapeutika schválená FDA/EMA s onkologickou indikací (aktuální k září 2020).

název (rok první registrace)	kategorie	mechanismus účinku
talimogene laherparepvec ⁸¹ (2015)	<ul style="list-style-type: none">• onkolytické viry• <i>in vivo</i> virová genová terapie• imunoterapie	herpes simplex virus I s delecí genů ICP34.5 a ICP47 a vklonovaným genem pro lidský GM-CSF → delecí ICP34.5 způsobuje selektivní napadení nádorových buněk, delecí ICP47 zabraňuje downregulaci molekul prezentujících antigen, které jsou spolu s GM-CSF uvolněny během virem zprostředkované lýzy → systémová protinádorová imunitní odpověď a efektorová odpověď T buněk
nalotimagene carmaleucel ^{82*} (2016)	<ul style="list-style-type: none">• <i>ex vivo</i> virová genová terapie• T-buněčná imunoterapie• sebevražedné geny• adjuvantní léčba při transplantaci hematopoetických kmenových buněk	alogenní T buňky transdukované retrovirem nesoucím gen pro herpes simplex I virus thymidinázu (HSV-TK) → upravené T buňky pomáhají v boji proti infekci, zvyšují úspěšnost transplantace a podporují dlouhodobý protinádorový efekt, v případě vyvolání imunitní odpovědi a rizika rejekce transplantátu je možné T buňky selektivně eliminovat díky expresi sebevražedného genu HSV-TK (dodatečná léčba ganciklovirem/valganciklovirem)
tisagenlecleucel ⁸³ (2017)	<ul style="list-style-type: none">• <i>ex vivo</i> virová genová terapie• T-buněčná imunoterapie	autologní T buňky transdukované lentivirem kódujícím chimerický antigenní receptor (CAR), který rozpoznává CD19 znak na leukemických B buňkách → vyhledání a selektivní destrukce leukemických buněk
axicaptagene ciloleucel ⁸⁴ (2017)	<ul style="list-style-type: none">• <i>ex vivo</i> virová genová terapie• T-buněčná imunoterapie	stejný s předchozím, rozdíl pouze ve vektoru (zde retrovirus) a v intracelulárních signálních doménách CAR
brexucabtagene autoleucel ⁸⁵ (2020)	<ul style="list-style-type: none">• <i>ex vivo</i> virová genová terapie• T-buněčná imunoterapie	stejný s předchozím, rozdíl už pouze v intracelulárních signálních doménách CAR (retrovirový vektor je shodný s tím, který je využit pro produkci axicaptagene ciloleucelu)

* Produkt stažen z trhu v říjnu 2019.

Genová terapie je bezesporu nadějným směrem. Bohužel ale nelze opomenout v dnešní době asi nejzávažnější problém tohoto přístupu, jímž je obrovská finanční toxicita⁸⁶. Zatímco léčba cytostatiky vyjde zdravotní pojišťovny většinou na desetitisíce až statisíce Kč, genová léčba stojí v přepočtu až 25 milionů Kč na jedno podání (!). Řada genových terapeutik přitom musí být

podávána opakovaně. Tento fakt stojí za velmi nízkým využitím genových terapeutik (jednotky pacientů ročně celosvětově), přeprodáváním licencí mezi farmaceutickými firmami (př. terapeutikum Strimvelis vyžadující opakované podání, cena za 10 let terapie bezmála 100 milionů Kč)⁸⁷ či bankrotu farmaceutické firmy a stažení z trhu (příběh Glybery, bývalého nejdražšího léčivého přípravku na světě, který byl po dobu své existence mezi roky 2012-2016 podán jednomu pacientovi)⁸⁸. Spekuluje se, že pro širší klinické využití genové terapie bude nevyhnutelné zavést specifický nový farmakoekonomický business model⁸⁹. Vzhledem ke kurativnímu potenciálu genové terapie, zejména pak metody CRISPR-Cas9, by bylo velmi přínosné, kdyby se tuto restrukturalizaci povedlo realizovat.

Na závěr je vhodné poznamenat, že přehled všech výše uvedených moderních terapeutických strategií, které se uplatňují ve vývoji protinádorových léčiv, není vyčerpávající. V práci byly prezentovány pouze hlavní směry, které jsou akceptovány jako nejslibnější, uvedení minoritních je nad rámec rozsahu této práce. Na úplný konec kapitoly bych rád ještě uvedl, že pokrok v onkologické léčbě se netýká pouze farmakoterapie, ale výrazné posuny nastaly též v oblastech onkochirurgie a radioterapie. V prvním případě je cílem pokroku minimalizace invazivity a zvýšení šetrnosti zákroku při zachování dostatečné resekcí radikality (zavedením miniinvazivních technik se signifikantně snižuje doba rehabilitace)⁹⁰. V případě druhém pak zejména zvýšení přesnosti a šetrnosti, což zaručuje nižší incidenci a úroveň akutních i pozdních radiačních reakcí⁹¹. U všech základních tří onkologických léčebných postupů je tedy trendem zvýšení bezpečnosti léčby.

1.2 Farmakokinetická léková rezistence v protinádorové terapii

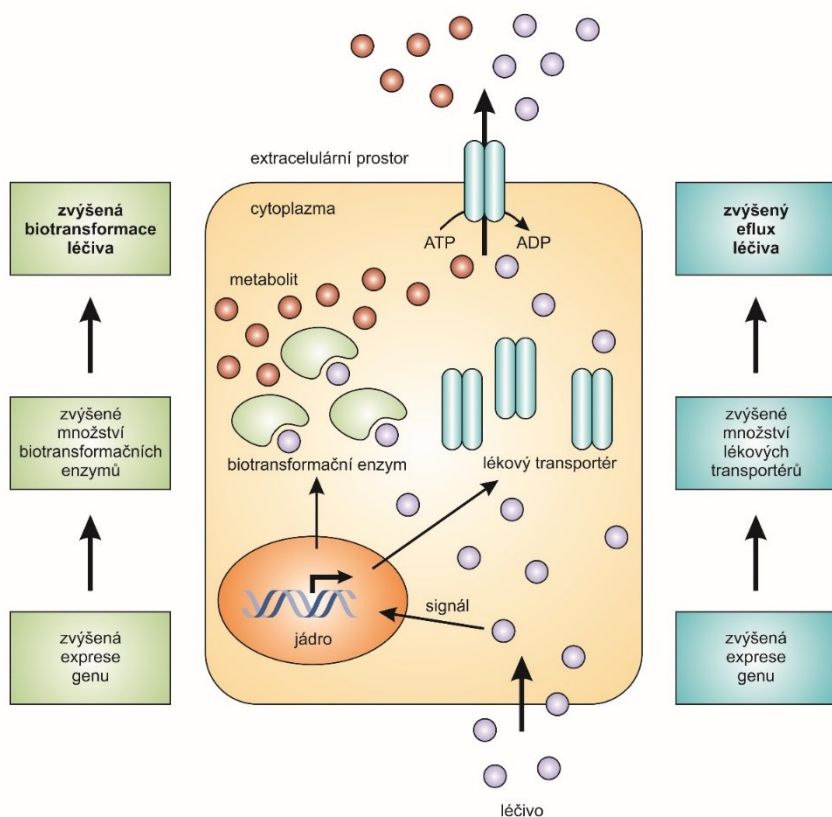
1.2.1 Obecné aspekty lékové rezistence

Farmakoterapie způsobila revoluci v onkologické léčbě, nicméně úspěch tohoto léčebného přístupu byl od počátku zastíněn faktem, že u velké části pacientů dochází po počáteční terapeutické odezvě k opětovnému nárůstu nádorové masy. U jiných pacientů pak dané chemoterapeutikum selhává již od začátku léčby. Tento jen je nazýván lékovou rezistencí a představuje jednu z hlavních překážek úspěšné protinádorové farmakoterapie². První zmíněná varianta je označována jako rezistence získaná. Vlivem přítomnosti chemoterapeutika dochází k selekci nádorových buněk, které jsou schopny vytvořit si obranné mechanismy a zakládají sekundární nádor, na nějž již dané léčivo dále nepůsobí^{92,93}. Pro snížení rizika vzniku tohoto typu rezistence je esenciální využití kombinace léčiv a dodržování dostatečného dávkování^{20,51}, tedy

základních zásad racionální chemoterapie popsaných v podkapitole 1.1.3.2. Druhá varianta (tzv. vnitřní rezistence) je dána genetickým pozadím nádoru a daného jedince, kdy je např. mutován/není přítomen cíl léčiva již před započítím léčby nebo nádor přirozeně exprimuje velké množství lékových transportérů, a léčivo je tak neefektivní ihned po zahájení léčby^{92,93}. Na rozdíl od rezistence získané, která má tvrdošijný a proměnlivý charakter, lze vnitřní rezistenci obejít jednoduše změnou výběru léčiva. Obecně platí, že nádory v nižším klinickém stadiu vykazují výrazně nižší úroveň vnitřní rezistence, a proto je důležité léčbu zahájit co nejdříve po stanovení diagnózy^{20,22}. Zmíněné základní prvky rezistence se s velkou podobností vyskytují i u některých jiných skupin léčiv, zj. u antibiotik⁹⁴. V tomto případě se jedná o značný problém, který v poslední dekádě bohužel začíná nabírat katastrální rozměr⁹⁵. Hodí se též zmínit, že léková rezistence rozhodně není výsadou pouze konvenčních protinádorových chemoterapeutik, ale ve stejné (ne-li ve větší) míře omezuje též terapeutické využití moderních cílených léčiv^{96,97}.

Vedle rozdělení rezistence podle závislosti na předchozím kontaktu s léčivem se rezistence dále dělí na farmakodynamickou a farmakokinetickou. Farmakodynamické aspekty zahrnují mechanismy, které souvisejí s ovlivněním cíle léčiva nebo jeho efektorových struktur. Nejčastěji se jedná o mutaci cíle (na mutovaný cíl se léčivo nenaváže nebo pouze omezeně)⁹⁸, aktivace alternativních „bypass“ signálních drah (u cílených léčiv)⁹⁹, příp. změny v DNA reparačních drahách (zvýšení úrovně oprav DNA může negovat účinky mnoha genotoxických léčiv)¹⁰⁰. Farmakodynamická rezistence vznikající mutací cíle je tak významnou a častou příčinou, že se její znalost v posledních několika letech stala nedílnou součástí vývoje cílených protinádorových léčiv. Šikovně to lze demonstrovat na příběhu EGFR inhibitorů. První generace (gefitinib, erlotinib) je aktivní vůči mutované formě EGFR L858R, která se přirozeně vyskytuje cca u 27 % pacientů s nemalobuněčným plicním karcinomem a je příčinou aberantní aktivace této dráhy. Získaná rezistence k první generaci inhibitorů je spojena s rozvojem aditivní aktivační mutace T790M, proti které byla vyvinuta druhá (afatinib, dacomitinib) a ještě účinnější třetí generace (osimertinib). Uplynulo pouze pár let od zavedení léčiv druhé a třetí generace do praxe, než bylo zjištěno, že indukují mutaci C797S. Pro pacienty s trojitou mutací tak dnes neexistuje účinná anti-EGFR léčba. Prakticky identický je i příběh tří generací ALK inhibitorů a některých jiných skupin proteinkinázových inhibitorů¹⁰¹⁻¹⁰³. Laikovi lze tuto situaci trefně připodobnit boji s bájnou Hydrou z řecké mytologie. Farmakokinetická rezistence, jejímuž fenoménu se věnuje tato habilitační práce, vzniká na podkladě změn ve farmakokinetice protinádorového léčiva. Podílí se na ní zejména aktivita lékových transportérů, které mohou snižovat koncentraci léčiva v nádoru^{104,105}. Ve srovnání s transportéry je mnohem méně prozkoumána role biotransformačních enzymů, které mohou léčiva v buňkách nádorového bujení deaktivovat, a redukovat tak množství parentní účinné

formy¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. Oba mechanismy schematicky znázorněné na Obr. 6 budou podrobně popsány v následujících kapitolách.



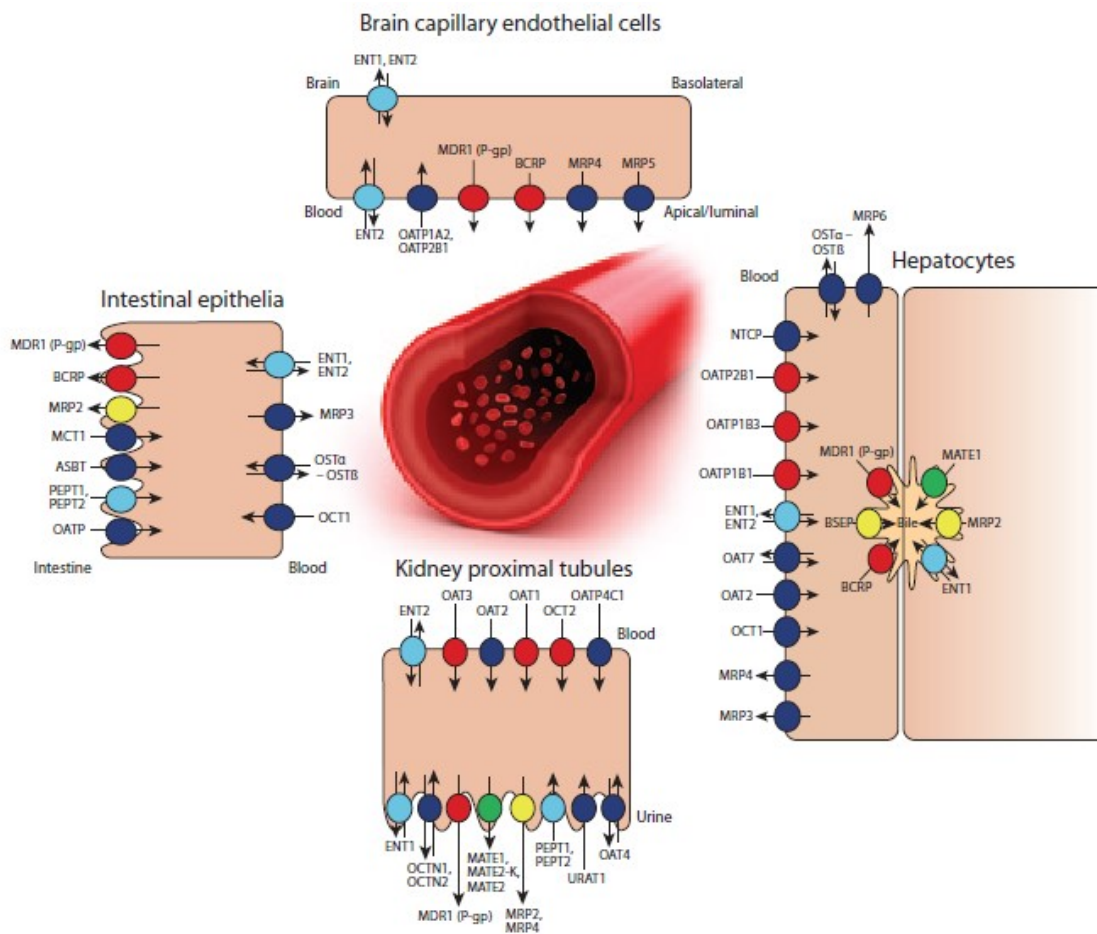
Obr. 6: Schéma účasti biotransformačních enzymů a lékových transportérů na získané farmakokinetické rezistenci. Převzato a upraveno z¹⁰⁹.

Obecně je ještě možné rezistenci rozlišit na systémovou a intratumorální. Systémová je dána systémovým ovlivněním farmakokinetiky léčiva-substrátu působením farmakokinetických mechanismů (nízká biologická dostupnost, rychlá exkrece), které ve výsledku vede k nízké AUC. Systémovou rezistenci lze v mnoha případech relativně jednoduše obejít úpravou dávkování, způsobem podání či výběrem léčiva, které není substrátem transportérů či enzymů¹⁰⁵. Intratumorální rezistence je založena na výše zmíněném snížení koncentrace (parentní formy) léčiva přímo v nádoru a její modulace je složitější (viz. kapitola 1.2.4).

1.2.2 Role lékových transportérů ve farmakokinetické rezistenci

Nadrodina ATP-binding cassette (ABC) efluxních transportérů je významnou skupinou aktivních transmembránových transportních proteinů čítající 48 členů¹¹⁰. Podrobný popis nomenklatury, struktury, lokalizace, regulace exprese a substrátové/inhibiční afinity ABC transportérů spojených s farmakokinetickou rezistencí byl již zpracován v mé dizertační práci, a proto se budu věnovat pouze nejdůležitějším aspektům tohoto rezistenčního mechanismu. ABC lékové transportéry jsou exprimovány ve vysoké míře v orgánech s absorpční, distribuční a eliminační schopností (střevo, dále hematoencefalická, placentární a hematotestikulární bariéra, játra a ledviny) a jejich fyziologickou funkcí je ochrana citlivých tkání před působením xenobiotik¹¹¹. Svým působením výrazně ovlivňují farmakokinetické chování léčiv (snižují biologickou dostupnost při perorálním podání, omezují přestup léčiv do mozku, plodu a spermií a zvyšují clearance léčiv vylučovaných žlučí a močí)¹¹². Transportéry P-glykoprotein (ABCB1) a breast cancer resistance protein (ABCG2) jsou místem lékových interakcí (např. klinicky významné interakce s makrolidy, cyklosporinem A, digoxinem, statiny či rifampicinem)¹¹³⁻¹¹⁵. Z tohoto důvodu jsou součástí portfolia transportérů doporučených pro interakční testování v guidelineech lékových agentur EMA a FDA^{115,116}. Mimo fyziologických tkání jsou někteří zástupci ABC transportérů nadměrně exprimováni v nádorové tkáni solidních i hematologických malignit¹¹⁷, zejména pak v subpopulaci označované jako nádorové kmenové buňky (u leukemií se jedná o subpopulaci CD34⁺/CD38⁻). Nádorové kmenové buňky jsou přirozeně chemorezistentní nejen kvůli specificky aktivovaným drahám Hedgehog, Wnt a Notch (viz. 1.1.3.3), ale také právě kvůli vysoké expresi lékových transportérů^{118,119}. ABC lékové efluxní transportéry jsou schopny pumpovat celou řadu protinádorových léčiv ven z nádorové buňky, a omezovat tak jejich účinek. Mezi cytostatika známá jako oběti transportéry zprostředkované rezistence patří zj. *Taxus* a *Vinca* alkaloidy, antracykliny, deriváty kamptotecinu, epipodofylotoxinu a antrachinonu^{104,109,120}. Substrátovou afinitu vykazuje též mnoho cílených nízkomolekulárních léčiv, nejvíce pak ze skupiny proteinkinázových inhibitorů¹²¹. Téměř polovina (19 z 48 členů) ABC lékových transportérů je schopna zprostředkovat eflux protinádorových léčiv¹²², avšak pouze u ABCB1, ABCG2 a multidrug resistance-associated proteinu 1 (ABCC1) byla prokázána *in vivo* relevance tohoto procesu^{104,122}. Klinické výzkumy prokázaly, že exprese těchto tří transportérů je spojena s nízkou odpovědí na léčbu a špatnou prognózou nádorových onemocnění¹²³⁻¹²⁶. ABC lékové transportéry jsou polyspecifické (transportují celou řadu strukturně nesouvisejících léčiv), a mohou tak negativně ovlivnit účinek hned několika různých protinádorových léčiv najednou. Z této vlastnosti byl odvozen termín mnohočetná léková rezistence, který je v souvislosti s transportéry zprostředkovanou rezistencí nejčastěji užíván^{104,127}.

Méně pozornosti bylo věnováno roli influxních transportérů v ovlivnění účinku protinádorových léčiv. Influxní transportéry sdružuje nadrodina solute carrier (SLC) transportérů. Ve srovnání s ABC transportéry se jedná o mnohem rozmanitější skupinu transportních proteinů (dohromady více než 300 zástupců ve více než 50 rodinách), které zprostředkovávají sekundárně aktivní influx/uptake či usnadněnou difuzi endogenních látek, ale hrají též důležitou roli ve farmakokinetice léčiv (ovlivňují zj. biliární a renální exkreci) a v neposlední řadě rovněž v lékových interakcích^{113,128}. Lokalizace nejvýznamnějších SLC a ABC transportérů je znázorněna na Obr. 7.



Obr. 7: Schéma lokalizace a směru transportu pro nejvýznamnější SLC a ABC transportéry, které hrají roli ve farmakokinetice farmak. Převzato z¹¹⁴.

Ve vztahu k rezistenci je nejvíce prozkoumána rodina transportérů organických kationtů (OCT), zejména pak člen OCT1. Tento protein se podílí na uptake např. imatinibu, sorafenibu, daunorubicinu či platinových cytostatik. U imatinibu bylo provedeno mnoho korelačních studií a

bylo zjištěno, že exprese/aktivita *OCT1/OCT1* koreluje s odpovědí na léčbu a nízká exprese/aktivita je spojena s rezistencí na tento tyrozinkinázový inhibitor¹²⁹. Klinicky relevantní vliv na antitumorózní efekt imatinibu mohou mít rovněž genové polymorfismy *OCT1*¹³⁰. Velmi podobné závěry mají též studie s *OCT1* substrátem sorafenibem¹³¹. *OCT1*, *OCT2* a *OCT3* ovlivňují akumulaci a antiproliferační účinek platinových cytostatik (oxaliplatinu, cisplatinu), nicméně klinická relevance těchto interakcí nebyla dosud detailně prozkoumána. Výjimkou je zjištěná korelace mezi vyšší expresí *OCT2* a vyšší odpovědí u pacientů s nádory žaludku léčených cisplatinou a také vliv *OCT2* polymorfismů na klinickou odpověď na toto cytostatikum^{132,133}. Relativně nedávno byl popsán *OCT1*-zprostředkovaný transport daunorubicinu¹³⁴, nicméně klinický důsledek tohoto jevu nebyl dosud definován. Posledními dvěma rodinami SLC transportérů, které prokazatelně hrají roli v rezistenci vůči protinádorovým léčivům, jsou koncentrační nukleosidové (CNT) a ekvilibrační nukleosidové (ENT) transportéry. Jak název napovídá, tyto transportní proteiny jsou schopny transportovat nukleosidová analoga ze skupiny antimetabolitů a existují jasné důkazy, že exprese/aktivita je v klinickém vztahu k účinnosti těchto léčiv¹³⁵.

1.2.3 Role biotransformačních enzymů ve farmakokinetické rezistenci

Biotransformační enzymy katalyzují chemickou konverzi endogenních látek a xenobiotik na polární hydrofilní metabolity, které mohou být snáze vyloučeny z organismu žlučí či močí. Biotransformace léčiv má I. a II. fázi. V první fázi dochází k tvorbě reaktivní skupiny, která umožňuje následnou konjugaci s endogenní molekulou (př. kyselina glukuronová, glutathion aj.) ve fázi druhé. Biotransformační enzymy vykazují podobnou funkční tkáňovou lokalizaci jako lékové transportéry (zj. játra, ledviny, plíce)^{20,22}. Podobná orgánová distribuce spolu s překrývající se substrátovou/inhibiční afinitou a identickými expresně-regulačními mechanismy podporují široce uznávanou hypotézu, že transportéry spolu s enzymy vytváří jakousi kooperující detoxifikační jednotku, která brání vstupu a pomáhá eliminovat xenobiotika^{136,137}. Stejně jako transportéry jsou i metabolické enzymy místem pro farmakokinetické lékové interakce, přičemž ve srovnání s transportními systémy je jich evidováno mnohonásobně více¹³⁸. Biotransformační enzymy I. fáze generují metabolity s menší, stejnou nebo výrazně nižší farmakologickou aktivitou, enzymy II. fáze v drtivé většině případů léčivo deaktivují^{20,22}.

Ve srovnání s transportéry bylo věnováno mnohem méně pozornosti možné rezistenční roli biotransformačních enzymů. Intratumorální exprese biotransformačních enzymů I. i II. fáze je vysoce variabilní, liší se zejména v závislosti na daném enzymovém zástupci, typu nádoru a jeho klinickém stadiu, přičemž exprese v nádoru může být nižší, stejná nebo vyšší než ve zdravé tkáni¹³⁹.

¹⁴³. Výjimkou je enzym CYP1B1, jenž vykazuje nádorově specifickou expresi, je exprimován ve většině nádorových typů a není přítomen v tkáních zdravých¹⁴⁴. Díky této vlastnosti se stal potenciálním diagnostickým markerem a cílem pro vývoj protinádorových léčiv¹⁴⁵.

Nízkomolekulární protinádorová léčiva podléhají metabolismu stejně jako léčiva z jiných farmakologických skupin. Relativně častá je aktivace proléčiv pomocí enzymatického systému (př. aktivace cyklofosfamidu enzymy CYP2B6, 2C9 a 3A4)^{20,22}. Myšlenka cílené intratumorální aktivace je velmi lákavá a dala vzniknout např. konceptu sebevražedných genů zmíněných ve stati o genové terapii⁷³. Velká část protinádorových léčiv je metabolismem deaktivována, což vedlo k hypotéze, že by se biotransformační enzymy mohly podílet na farmakokinetické rezistenci spolu s lékovými transportéry^{106,107,139}. Tato hypotéza by neexistovala bez důkazů o expresi metabolických enzymů v nádorech, jak bylo popsáno v předchozím odstavci.

Z enzymů I. fáze byla ve vztahu k rezistenci nejvíce studována nadrodina cytochromů P450 (CYP). Protinádorové léčivo musí vykazovat 2 specifické vlastnosti, aby se mohlo stát modulovatelnou obětí enzymy zprostředkované rezistence: 1) metabolismus je predominantní exkreční cestou a 2) na metabolismu se podílí minimální počet enzymů, ideálně jen jeden. Z mnoha cytostatik tato kritéria splňují paklitaxel, docetaxel a vinkristin¹⁴⁶⁻¹⁵². Drtivá většina studií zaměřených na možný vliv cytochromů na antitumorózní účinek těchto cytostatik předkládá pouze nepřímé důkazy či je zatížena interferenčními elementy (např. multienzymový charakter modelů, který neumožňuje s jistotou určit, který z enzymů se na rezistenci podílí). Bylo popsáno, že intratumorální exprese CYP3A4/CYP3A4 u pacientek s nádory prsu koreluje s účinkem docetaxelu (nižší exprese je spojena s vyšší odpovědí na léčbu)^{153,154}. Rezistentní linie, získaná po jednoroční expozici buněk Caco-2 účinkům paklitaxelu, vykazovala indukci enzymu CYP2C8, což autory vedlo k hypotéze, že CYP2C8 může představovat rezistenční mechanismus pro toto léčivo¹⁵⁵. Ani u jednoho z taxanů však dodnes nebyl podán přímý důkaz, že by se cytochromy P450 na rezistenci opravdu podílely. Yao et al. popsali, že overexprese CYP3A4 způsobuje rezistenci vůči vinkristinu a vinblastinu¹⁵⁰. Nicméně výsledky této studie jsou diskutabilní, jelikož hlavní metabolit vinblastinu nevykazuje nižší, ale naopak vyšší antiproliferační aktivitu než parentní látka¹⁵⁶. Navíc celkový podíl metabolismu na exkreci vinblastinu je mizivý (metabolity představují pouze 1% exkreční podíl, zatímco u vinkristinu činí 40 %)^{157,158}. V naší studii jsme se zaměřili na zhodnocení role vybraných CYP izoform v rezistenci vůči výše popsaným třem cytostatikům s využitím HepG2 buněk transdukovaných specifickými izoformami, výstupy jsou prezentovány v kapitole 2.3. Ačkoliv by se dalo očekávat, že enzym CYP1B1 by mohl být ideálním kandidátním rezistenčním mechanismem (viz. zmínka o nádorově specifické expresi výše), není tomu tak. Ze skupiny cytostatik je substrátem tohoto enzymu pouze flutamid, který je metabolickou konverzí aktivován. Enzym interaguje také

s taxany, antracykliny, mitoxantronem a tamoxifenem, nicméně pouze ve smyslu inhibice¹⁵⁹. Z enzymů I. fáze nelze opomenout též nadrodiny aldo-ketoreduktáz (AKR) a dehydrogenáz/reduktáz s krátkým řetězcem (SDR). Několik zástupců (CBR1, AKR1C3, AKR1B1, AKR1B10, AKR1A1 a AKR7A2) deaktivuje antracyklinová cytostatika na neaktivní metabolity, které jsou zároveň více kardiotoxické než parentní léčiva¹⁶⁰. O studiu těchto enzymů, jejich roli v rezistenci a možnostech modulace pojednává hned několik publikací prezentovaných v rámci předložené habilitační práce (viz. 2.3).

Enzymy II. fáze byly rovněž zkoumány ve vztahu k rezistenci, ovšem i v tomto případě je řada studií založena spíše na nepřímých důkazech. Nejdůležitější roli v ovlivnění účinnosti protinádorových léčiv hrají UDP-glukuronosyltransferázy (UGT) a glutathion-S-transferázy (GST). Nejlépe popsána je rezistence vůči irinotekanu, resp. jeho aktivnímu metabolitu SN-38, zprostředkovaná rodinou UGT1A. Negativní vliv na účinnost byla též popsána u epirubicinu (deaktivační enzym UGT2B7) a etoposidu (UGT1A1)^{143,161,162}. Existuje několik desítek dalších protinádorových léčiv, včetně cílených, které jsou metabolizovány enzymy UGT, a jsou tak pravděpodobnými oběťmi farmakokinetické rezistence. Detailní studie však nebyly pro většinu z nich provedeny. Podobná situace panuje i u GST enzymů, i v tomto případě experimentální práce prokázaly souvislost mezi aktivitou GST a sníženým protinádorovým efektem některých léčiv, jmenovitě cyklofosfamidu, chlorambucilu, melfalanu a cisplatině^{142,163,164}. V současné době se ve spolupráci se zahraničními kolegy intenzivně věnujeme detailnímu popisu role vybraných UGT a GST enzymů v ovlivnění efektivity protinádorových léčiv.

1.2.4 Možnosti překonání farmakokinetické rezistence

Nejrozšířenějším a nejlépe prostudovaným přístupem v modulaci farmakokinetické rezistence je využití farmakokinetických interakcí, které má vést ke zvýšení akumulace protinádorového léčiva v buňce. Již v 80. letech minulého století bylo prokázáno, že verapamil a cyklosporin A jsou schopny potencovat toxicitu *Vinca* alkaloidů či daunorubicinu v rezistentních liniích s overexpresí ABCB1^{165,166}. Tato léčiva spolu s dalšími léčivy primárně používanými pro jiné indikace (např. chinin) zformovaly 1. generaci modulátorů. Prvotní klinické studie zahrnující tyto modulátory produkovaly nadějně výsledky (např. kombinace cytarabinu a daunorubicinu s cyklosporinem A u leukemických pacientů)¹⁶⁷, nicméně další se potýkaly s nedostatečnou účinností, popř. neschopností překonat rezistenci při netoxických koncentracích modulátoru^{104,168,169}. Objev analogu cyklosporinu A, valsopodaru, odstartoval éru modulátorů 2. generace. Tato látka vykazuje cca desetinásobně vyšší inhibiční afinitu k ABCB1 a zároveň postrádá

imunosupresivní účinky původního léčiva¹⁷⁰. V klinických zkouškách se bohužel projevila mimo protinádorového účinku do značné míry též systémová toxická reakce daná snížením metabolismu a celkové clearance současně podaných cytostatik. Následná úprava dávkování cytostatika vedla k vymizení pozitivního kombinačního účinku, navíc se projevily značné interindividuální rozdíly (někteří pacienti byli poddávkováni, u jiných se naopak manifestovala toxicita) vycházející z variability v expresi transportérů a enzymů^{171,172}. Tento neúspěch vedl k zastavení vývoje valspodaru i dalšího inhibitoru 2. generace, biricodaru¹⁰⁴. Analogický výstup měla i enzymově orientovaná studie kombinující inhibitor CYP3A4, ketokonazol, s docetaxelem. Kombinace sice vedla ke snížení clearance docetaxelu o téměř 50 %, ale zároveň se mnohonásobně zvýšilo riziko febrilní neutropenie, což muselo být kompenzováno snížením dávky docetaxelu¹⁷³. ABCB1 modulátory 3. generace (zosuquidar, elacridar, tariquidar) prokázaly schopnost inhibice ABCB1 již v nanomolárních koncentracích a byla omezena též jejich schopnost interakce s biotransformačními enzymy¹⁷⁴. V klinických studiích, nicméně, byla opět pozorována systémová toxicita současně podaných chemoterapeutik a klinický vývoj těchto dříve nadějných látek byl zastaven¹⁰⁹. Existují úvahy, že z kombinací testovaných ve výše zmíněných klinických zkouškách mohla profitovat subpopulace pacientů s vysokou expresí ABCB1 v nádoru, avšak tento efekt zanikl v celkové testované populaci. Personalizovaná medicína byla tehdy bohužel teprve v plenkách a ani v jedné ze studií nebyli pacienti genotypizováni a následně rozděleni do příslušných skupin¹²². Vedle látek inhibujících ABCB1 byly vyvíjeny i látky selektivně cílící na ABCG2 (fumitremorgin C¹⁷⁵, Ko143¹⁷⁶) či ABCC1 (MK-571¹⁷⁷), které se používají *in vitro* i *in vivo* výzkumech. Do klinického zkoušení se tyto látky nedostaly, stejně tak jako nebylo dosud klinicky hodnoceno využití modulace aktivity SLC transportérů, UGT a GST enzymů.

Ačkoliv přístup překonání farmakokinetické rezistence pomocí využití farmakokinetických interakcí dosud nedosáhl klinického úspěchu, tato myšlenka je v současné době stále živá, ale je rozvíjena trochu jiným směrem. Místo využití netoxických modulátorů, cílících pouze na aktivitu rezistenčních mechanismů, jsou zkoumány látky ze skupiny cílených protinádorových léčiv. Některé z těchto látek lze charakterizovat jako duální modulátory, které inhibicí transportéru/enzymu zvyšují akumulaci cytostatika-oběti, přičemž vykazují i svou vlastní protinádorovou aktivitu^{178,179}. Výsledný synergický efekt může být zásadní pro využití této strategie. Několik látek (jmenovitě erlotinib, lapatinib, nintedanib a sorafenib) s vlastností duálního modulátoru nedávno vstoupilo do klinického testování, které hodnotí jejich schopnost překonat transportéry zprostředkovanou rezistenci¹⁸⁰. Většina vědeckých prací prezentovaných v rámci předložené habilitační práce se věnuje právě tématu využití interakcí nových cílených léčiv pro překonání farmakokinetické rezistence.

Vedle využití farmakokinetických interakcí existují další přístupy překonání rezistence, jimž bylo obecně věnováno méně pozornosti. Převážně se jedná o snížení exprese rezistenčních mechanismů, popř. o zábranu zvýšení jejich exprese v důsledku léčby. Zkoumáno bylo využití RNA interference^{181,182}, exprese transkripčních represorů¹⁸³ a antagonistů nukleárních receptorů¹⁰⁴. Tyto přístupy zatím nedosáhly úrovně klinického testování. Za jeden z posledních hlavních přístupů pro překonání farmakokinetické rezistence je považován vývoj léčiv, která nejsou substráty transportérů a enzymů. Přitom se nemusí jednat o léčiva strukturně nová, ale též o tzv. „me too“ léčiva. Jako příklad může být uveden analog kamptotecinu ST1481, který při zachování protinádorového účinku původního léčiva postrádá substrátovou afinitu k ABCG2¹⁸⁴.

2. Komentáře k předloženým pracím

2.1 Cíle práce

Předložená habilitační práce je tvořena souborem původních vědeckých prací, které vznikly v letech 2008-2020 během mého působení na Katedře farmakologie a toxikologie (postgraduální studium, akademická dráha) a Katedře biochemických věd (postdok). Všechny práce jsou experimentálního charakteru a jejich vznik byl finančně podpořen několika grantovými agenturami, často s podporou Evropské unie. Hlavním cílem je studium mechanismů farmakokinetické rezistence a možnosti jejich modulace. Dílčí cíle lze definovat takto:

- I. Studium role enzymu AKR1C3 v rezistenci vůči antracyklinovým cytostatikům
- II. Studium role enzymů CYP3A4, CYP3A5 a CYP2C8 v rezistenci vůči taxanům a vinkristinu
- III. Popis interakcí nových cílených léčiv s ABC lékovými transportéry a cytochromy P450 a jejich využití pro překonání cytostatické rezistence
- IV. Popis interakcí přírodních látek a nových cílených léčiv s karbonyl redukujícími enzymy a jejich využití pro překonání antracyklinové rezistence
- V. Popis interakcí konvenčních chemoterapeutik s karbonyl redukujícími enzymy a jejich možného významu pro synergické působení s antracykliny

2.2 Práce předkládané v rámci habilitační práce

- P1. **Hofman J.**, Ahmadimoghaddam D., Hahnova L., Pavek P., Ceckova M., Staud F.: Olomoucine II and purvalanol A inhibit ABCG2 transporter *in vitro* and *in situ* and synergistically potentiate cytostatic effect of mitoxantrone. *Pharmacol Res* 2012; 65 (3): 312 – 9
- P2. **Hofman J.**, Kučera R., Cihalova D., Klimes J., Ceckova M., Staud F.: Olomoucine II, but Not Purvalanol A, Is Transported by Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1). *PLoS One* 2013; 8 (10): e75520
- P3. Cihalova D., **Hofman J.**, Ceckova M., Staud F.: Purvalanol A, olomoucine II and roscovitine inhibit ABCB1 transporter and synergistically potentiate cytotoxic effects of daunorubicin *in vitro*. *PLoS One* 2013; 8 (12): e83467

- P4. **Hofman J.**, Malcekova B., Skarka A., Novotna E., Wsol V.: Anthracycline resistance mediated by reductive metabolism in cancer cells: the role of aldo-keto reductase 1C3. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014; 278 (3): 238 - 48
- P5. Skarydova L., **Hofman J.**, Chlebek J., Havrankova J., Kosanova K., Skarka A., Hostalkova A., Plucha T., Cahlikova L., Wsol V.: Isoquinoline alkaloids as a novel type of AKR1C3 inhibitors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 143: 250 – 8
- P6. **Hofman J.**, Skarka A., Havrankova J., Wsol V.: Pharmacokinetic interactions of breast cancer chemotherapeutics with human doxorubicin reductases. *Biochem Pharmacol* 2015; 96 (3): 168 - 78
- P7. Zemanova L., **Hofman J.**, Novotna E., Musilek K., Lundova T., Havrankova J., Hostalkova A., Chlebek J., Cahlikova L., Wsol V.: Flavones Inhibit the Activity of AKR1B10, a Promising Therapeutic Target for Cancer Treatment. *J Nat Prod* 2015; 78 (11): 2666 - 74
- P8. **Hofman J.**, Kučera R., Neumanova Z., Klimes J., Ceckova M., Staud F.: Placental passage of olomoucine II, but not purvalanol A, is affected by p-glycoprotein (ABCB1), breast cancer resistance protein (ABCG2) and multidrug resistance-associated proteins (ABCCs). *Xenobiotica* 2016; 46(5): 416-23
- P9. Hintzpete J., Seliger J.M., **Hofman J.**, Martin H.J., Wsol V., Maser E.: Inhibition of human anthracycline reductases by emodin - a possible remedy for anthracycline resistance. *Toxicol Appl Pharmacol* 2016; 293: 21-9
- P10. Siroka J., Ceckova M., Urbanek L., Krystof V., Gucky T., **Hofman J.**, Strnad M., Staud F.: LC-MS/MS method for determination of cyclin-dependent kinase inhibitors, BP-14 and BP-20, and its application in pharmacokinetic study in rat. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2018; 1089: 24-32
- P11. Sorf A., **Hofman J.**, Kucera R., Staud F., Ceckova M.: Ribociclib shows potential for pharmacokinetic drug-drug interactions being a substrate of ABCB1 and potent inhibitor of ABCB1, ABCG2 and CYP450 isoforms in vitro. *Biochem Pharmacol* 2018; 154: 10-7
- P12. Novotna E., Büküm N., **Hofman J.**, Flaxova M., Kouklikova E., Louvarova D., Wsol V.: Aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3): a missing piece of the puzzle in the dinaciclib interaction profile. *Arch Toxicol* 2018; 92: 2845-2857

- P13. Novotna E., Büküm N., **Hofman J.**, Flaxova M., Kouklikova E., Louvarova D., Wsol V.: Roscovitine and purvalanol A effectively reverse anthracycline resistance mediated by the activity of aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3). *Biochem Pharmacol* 2018; 156: 22-31
- P14. Büküm N., Novotna E., Morell A., **Hofman J.**, Wsol V.: Buparlisib is a novel inhibitor of daunorubicin reduction mediated by aldo-keto reductase 1C3. *Chem Biol Interact* 2019; 302: 101-7
- P15. Sorf A., Novotna E., **Hofman J.**, Morell A., Staud F., Wsol V., Ceckova M.: Cyclin-dependent kinase inhibitors AZD5438 and R547 show potential for enhancing efficacy of daunorubicin-based anticancer therapy: Interaction with carbonyl-reducing enzymes and ABC transporters. *Biochem Pharmacol* 2019; 163: 290-8
- P16. **Hofman J.**, Sorf A., Vagiannis D., Sucha S., Novotna E., Kammerer S., Küpper J-H., Ceckova M., Staud F.: Interactions of Alectinib with Human ATP-Binding Cassette Drug Efflux Transporters and Cytochrome P450 Biotransformation Enzymes: Effect on Pharmacokinetic Multidrug Resistance. *Drug Metab Dispos* 2019; 47(7): 699-709
- P17. **Hofman J.**, Sorf A., Vagiannis D., Sucha S., Kammerer S., Küpper J-H., Chen S., Guo L., Ceckova M., Staud F.: Brivanib Exhibits Potential for Pharmacokinetic Drug-Drug Interactions and the Modulation of Multidrug Resistance through the Inhibition of Human ABCG2 Drug Efflux Transporter and CYP450 Biotransformation Enzymes. *Mol Pharmaceut* 2019; 16(11): 4436-4450
- P18. Vagiannis D., Novotna E., Skarka A., Kammerer S., Küpper J-H., Chen S., Guo L., Staud F., **Hofman J.**: Ensartinib (X-396) Effectively Modulates Pharmacokinetic Resistance Mediated by ABCB1 and ABCG2 Drug Efflux Transporters and CYP3A4 Biotransformation Enzyme. *Cancers* 2020; 12(4): E813
- P19. Vagiannis D., Zhang Y., Novotna E., Morell A., **Hofman J.**: Entrectinib reverses cytostatic resistance through the inhibition of ABCB1 efflux transporter, but not the CYP3A4 drug-metabolizing enzyme. *Biochem Pharmacol* 2020; 178: 114061
- P20. Novotna E., Morell A., Büküm N., **Hofman J.**, Danielisová P., Wsól V.: Interactions of antileukemic drugs with daunorubicin reductases: could reductases affect the clinical efficacy of daunorubicin chemoregimens?. *Arch Toxicol* 2020; 94: 3059-3068
- P21. Tavares T. S., **Hofman J.**, Lekešová A., Želazková J., Wsól V.: Olaparib Synergizes the Anticancer Activity of Daunorubicin via Interaction with AKR1C3. *Cancers* 2020; 12(11): 3127

Práce v oponentním řízení (Doplňk 1)

PD1. **Hofman J.**, Vagiannis D., Chen S., Guo L.: The role of CYP3A4, CYP3A5 and CYP2C8 drug-metabolizing enzymes in the pharmacokinetic cytostatic resistance. Chem Biol Interact, submitováno

2.3 Stručný popis obsahu předložených prací

Re cíl I: Studium role enzymu AKR1C3 v rezistenci vůči antracyklinovým cytostatikům

V publikaci **P4** jsme se věnovali možné roli enzymu AKR1C3 v rezistenci vůči antracyklinům. Pro tento účel jsme zavedli několik *in vitro* metodik. Prokázali jsme schopnost enzymu AKR1C3 redukovat antracykliny daunorubicin, doxorubicin a idarubicin. Následně jsme využili přístupu transientní overexprese AKR1C3 v několika buněčných modelech a prokázali, že tento enzym je schopen snížit protinádorovou aktivitu vybraných antracyklinů, přičemž specifická inhibice 2'-hydroxyflavanonem tento jev anuluje. Mimo to jsme prokázali, že antracykliny jsou schopny nastolit získanou rezistenci vůči sobě samotným skrze indukci AKR1C3. Jedná se o velmi významné poznatky vzhledem k tomu, že enzym AKR1C3 patří mezi nejaktivnější antracyklinreduktázy *in vivo* a bývá overexprimován v některých typech nádorů^{160,185}. Zvláštní význam publikace P4 je reflektován skutečností, že se jedná o nejcitovanější práci z celého prezentovaného souboru.

Re cíl II: Studium role enzymů CYP3A4, CYP3A5 a CYP2C8 v rezistenci vůči taxanům a vinkristinu

Roli cytochromů P450 v cytostatické rezistenci se dosud věnovalo pouze pár studií, přičemž vesměs podávaly buď nepřímé důkazy nebo byly zatíženy interferenčními elementy. V naší nejnovější práci (**PD1** v recenzním řízení) jsme využili HepG2 buňky stabilně transdukované enzymy CYP3A4, CYP3A5 a CYP2C8 a studovali vliv funkční exprese těchto enzymů na antitumorózní účinek paklitaxelu, docetaxelu a vinkristinu. Buňky byly získány od spolupracujícího pracoviště National Center for Toxicological Research, které je součástí americké lékové agentury FDA. Výsledky našich viabilitních a apoptotických měření prokázaly, že pouze enzym CYP3A4 je schopen podílet se na lékové rezistenci vůči docetaxelu a že tuto rezistenci je možné modulovat specifickým inhibitorem ketokonazolem. Poznatky získané v této studii sloužily jako důležitý podklad pro několik dalších prací (jmenovitě P16, P17, P18 a P19), jež se mimo jiné orientovaly na využití lékových interakcí nových cílených léčiv pro překonání rezistence k docetaxelu.

Re cíl III: Popis interakcí nových cílených léčiv s ABC lékovými transportéry a cytochromy P450 a jejich využití pro překonání cytostatické rezistence

Velkou část našich prací tvoří publikace zaměřené na studium interakcí nových cílených léčiv s ABC lékovými transportéry a cytochromy P450 a jejich využití pro překonání cytostatické rezistence. V této podoblasti jsme se zaměřovali na transportéry ABCB1, ABCG2 a ABCC1, u nichž byla prokázána role v lékové rezistenci *in vivo*^{104,109}. V případě cytochromů P450 jsme se věnovali enzymu CYP3A4 z důvodů popsaných v Re II a také dalším sedmi izoformám, které hrají důležitou roli ve farmakokinetických lékových interakcích¹¹⁶. Nejstarší jsou práce zaměřené na inhibitory cyklin-dependentních kináz (CDKi). Ve většině případů jsme se věnovali purinovým analogům včetně těch, které byly objeveny na spolupracujícím olomouckém pracovišti (Laboratoř růstových regulátorů ÚEB AV ČR).

V prvních pracích (**P1**, **P3**) jsme popsali inhibiční vlastnosti olomoucínu II, purvalanolu A a roskovitinu vůči transportérům ABCG2 a ABCB1. Současně jsme stanovili, že tyto interakce mohou být použity pro překonání rezistence vůči mitoxantronu a daunorubicinu. Pro kvantitativní analýzu kombinačních účinků jsme zavedli metodiku kombinačního indexu dle Chou-Talalaye¹⁸⁶. V publikaci **P2** jsme sledovali substrátovou afinitu purinových CDKi s využitím transportních experimentů přes polarizovanou monovrstvu MDCKII buněk. Vedle zjištění, že olomoucín II je substrátem transportérů ABCB1 a ABCG2, jsme čirou náhodou objevili, že je v buněčném modelu MDCKII výrazně sulfatován. Tento důležitý fakt naznačuje, že výsledky MDCKII transportních studií mohou být v určitých případech výrazně zkresleny, např. při využití radioaktivně značených látek. Výstupy publikace P2 byly použity jako podklad pro následující studii **P8**, kde jsme analyzovali transplacentární přestup purinových CDKi s využitím modelu duální perfuze potkaní placenty. Pozorovali jsme schopnost placentárních transportérů Abcb1, Abcg2 a Abcc usnadňovat přestup olomoucínu II ve fetomaternálním směru. Tento efekt demonstruje fakt, že placenta skýtá ochranu plodu vůči účinkům tohoto xenobiotika, což je v souladu s její funkcí distribuční bariéry. Druhou publikací, která mírně vybočuje z běžného zaměření, ale týká se CDKi, je **P10**. Práce analyzuje farmakokinetické parametry nových CDKi, BP-14 a BP-20, jež patří mezi analoga roskovitinu a byly vyvinuty na výše zmíněném olomouckém spolupracujícím pracovišti. Výsledky práce byly využity pro optimalizaci designu nových látek s vylepšenou farmakodynamickou aktivitou a vhodnějším farmakokinetickým chováním. Poslední studií zaměřenou na CDKi a spadající pod Re III, je **P11**. Ribociclib je inhibitor CDK4/6 schválený v roce 2017 v USA pro terapii pokročilého a metastatického stadia karcinomu prsu¹⁸⁷. V publikaci P11 jsme popsali inhibici transportérů ABCB1 a ABCG2, dále ABCB1 zprostředkovaný transport ribociclibu a schopnost inhibičních interakcí modulovat cytostatickou rezistenci v modelech s overexpresí studovaných transportérů. V P11

byly též poprvé publikovány výsledky metodiky zavedené pro testování interakcí s klinicky relevantními izoformami CYP. Zjištěna byla signifikantní inhibice enzymů CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5 a CYP2C9.

V novějších pracích jsme se zaměřili na látky ze skupiny tyrozinkinázových inhibitorů, které tvoří nejpočetnější a dosud nejúspěšnější skupinu nových cílených léčiv. Ve vědeckých pracích **P16**, **P17**, **P18** a **P19** jsme se věnovali popisu farmakokinetických interakcí alectinibu, brivanibu, ensartinibu a entrectinibu s lékovými transportéry ABCB1, ABCG2, ABCC1 a enzymy CYP1A2, CYP2B6, CYP2D6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 a CYP3A5. Testovaná léčiva byla vyvinuta pro terapii nemalobuněčného karcinomu plic, přičemž dvě z nich (brivanib, ensartinib) jsou ve III. fázi klinického zkoušení a druhá dvě (alectinib, entrectinib) byla nedávno uvedena na trh. Popsali jsme nejen inhibici výše popsaných farmakokinetických entit a schopnost modulovat transportéry zprostředkovanou rezistenci, ale demonstrovali jsme též, že studovaná léčiva nejsou obětí tohoto typu rezistence a nejsou schopna měnit farmakokinetický rezistenční fenotyp nádorových buněk v krátkodobém měřítku. V pracích P17, P18, P19 jsme se mimo transportérů věnovali též možnosti modulace CYP3A4 zprostředkované rezistence vůči docetaxelu. Pro tento účel jsme zavedli vhodné modely (zahrnující HepG2 buňky s overexpresí CYP3A4 od kolegů z USA), metody a analytický postup pro analýzu kombinačního účinku (senzitivizační efekt). Pouze u ensartinibu (P18) byla demonstrována schopnost překonat rezistenci zprostředkovanou aktivitou CYP3A4, u ostatních léčiv buď nebyla dosažena dostatečná úroveň inhibiční interakce na buněčné úrovni nebo nedošlo k potenciaci účinků docetaxelu v buňkách s overexpresí CYP3A4.

Re cíl IV: Popis interakcí přírodních látek a nových cílených léčiv s karbonyl redukujícími enzymy a jejich využití pro překonání antracyklinové rezistence

Značnou část našeho výzkumu tvoří též studium interakcí léčiv a přírodních látek s karbonyl redukujícími enzymy. Tyto enzymy představují další důležitý farmakokinetický mechanismus rezistence, jehož modulace má potenciál uplatnit se v klinické praxi.

Ve starších pracích **P5**, **P7** a **P9** jsme se věnovali přírodním látkám a popsali jejich inhibiční schopnosti vůči vybraným karbonyl redukujícím enzymům. V první práci (P5) jsme testovali možnou inhibici enzymu AKR1C3 působením devatenácti různých isochinolinových alkaloidů. Dva nejsilnější inhibitory (canadine, stylopine) byly dále testovány vůči enzymům AKR1C1, AKR1C2, AKR1C4 a CBR1. U alkaloidu stylopinu byl ověřen vliv na viabilitu a inhibiční účinek na buněčné úrovni. Podobné uspořádání měla práce P7, kde byly testovány interakce téměř čtyřiceti přírodních látek (flavonoidy, ostatní fenolické látky a alkaloidy) s enzymem AKR1B10. Základní

inhibiční studie s rekombinantním enzymem byla pro nejsilnější inhibitory rozšířena o stanovení typu inhibice a molekulární docking. Následné buněčné experimenty prokázaly schopnost apigeninu, luteolinu a 7-hydroxyflavonu inhibovat enzym AKR1C3 na buněčné úrovni, přičemž tyto tři látky vykazovaly přijatelnou toxicitu. Znalost vztahu mezi strukturou a inhibičním účinkem může inspirovat vývoj účinnějších semisyntetických či plně syntetických derivátů, které by mohly být využity v terapii nádorových onemocnění. Zájmu o tuto oblast odpovídá velmi slušný citační ohlas na diskutované publikace. Poslední z třetice publikací zaměřených na přírodní látky (P9) je věnována emodinu, antrachinonovému sekundárnímu metabolitu, jenž se vyskytuje v některých houbách a rostlinách¹⁸⁸. Na základě našich experimentů byl emodin identifikován jako inhibitor AKR1B1, AKR1B10 a CBR1 schopný výrazně inhibovat redukční metabolismus daunorubicinu v buněčném lyzátu. Provedli jsme detailní biochemickou analýzu interakce včetně molekulárního dockingu. Na závěr jsme demonstrovali, že emodin je schopen synergicky potencovat antiproliferační aktivitu daunorubicinu v buněčném modelu A549 (tento model exprimuje všechny důležité antracyklinreduktázy ve velkém množství).

V novějších studiích jsme se zaměřili na interakce nových cílených léčiv s neaktivnějšími antracyklinreduktázami. Vybírána byla zejména léčiva ze stejných skupin jako v Re III. V pracích **P12** a **P13** byla pomocí několika *in vitro* a *in situ* metodik detailně popsána interakce CDKi dinaciclibu, roskovitinu a purvalanolu A s enzymem AKR1C3 a možnost využití této interakce pro překonání rezistence k daunorubicinu. V publikaci **P15**, kterou lze částečně zařadit i pod Re III, jsme prokázali schopnost AZD5438 a R547, látek ze skupiny CDKi, interagovat s ABC lékovými transportéry a enzymem AKR1C3. Synergicky zvyšovat účinek daunorubicinu byla překvapivě schopná pouze enzymatická interakce, nikoliv transportérová. Výsledky této práce poukázaly skutečnost, že farmakokinetickou antracyklinovou rezistenci je nutné chápat jako komplexní záležitost a při snaze o její překonání je nutné zhodnotit reálný vliv příslušné interakce. Poslední dvě práce spadající pod Re IV byly zaměřeny na buparlisib (tyrozinkinázový inhibitor; **P14**) a olaparib (PARP inhibitor; **P21**). V obou případech byla opět zjištěna interakce s enzymem AKR1C3 a začíná tedy vycházet najevo, že co se týče schopnosti interagovat s léčivými a xenobiotiky, jedná se o extrémně promiskuitní enzym. U P21 jsme nastínili, že interakce s AKR1C3 může stát na pozadí synergického účinku mezi olaparibem a antracykliny, který byl pozorován v *in vivo* a klinických studiích¹⁸⁹⁻¹⁹¹.

Re cíl V: Popis interakcí konvenčních chemoterapeutik s karbonyl redukujícími enzymy a jejich možného významu pro synergické působení s antracykliny

V poslední oblasti našeho výzkumu jsme se snažili objasnit, zda by za klinickým úspěchem antracyklinových chemorežimů nemohla stát interakce karbonyl redukujících enzymů s některým z konvenčních cytostatik, která jsou součástí těchto kombinačních protokolů. V první takové studii (P6) jsme se zaměřili na paklitaxel, docetaxel, 5-fluorouracil, cyklofosfamid a tamoxifen a jejich schopnost interferovat s redukcí doxorubicinu, s nímž jsou kombinovány v rámci terapie prsních nádorů. Popsali jsme, že cyklofosfamid a zejména jeho aktivní metabolit, 4-hydroperoxyklofosfamid, inhibují nejaktivnější doxorubicinreduktázy (AKR1C3, AKR1A1 a CBR1) a jsou dokonce schopné vyvolat signifikantní inhibici metabolismu doxorubicinu v buněčných lyzátech včetně cytozolu z primárních lidských hepatocytů. Vliv testovaných cytostatik na expresi doxorubicinreduktáz naopak prokázán nebyl. S ohledem na získaná data lze očekávat, že na úspěchu kombinace cyklofosfamidu s doxorubicinem se (alespoň do určité míry) podílí interakce cyklofosfamidu s doxorubicinreduktázami. Podobně designovaná byla i druhá studie (P20). V tomto případě jsem hodnotili interakce léčiv tretinoinu (ATRA), cytarabinu, kladribinu a prednisolonu s nejaktivnějšími daunorubicinreduktázami. Vybraná léčiva jsou spolu s daunorubicinem součástí kombinačních chemorežimů využívaných v léčbě leukemií. Výsledky experimentů prokázaly, že ATRA inhibuje enzym AKR1C3 s vysokou afinitou v klinicky relevantních koncentracích. Interakci jsme detailně biochemicky analyzovali a v tomto případě jsme díky kombinačním studiím dokázali, že se opravdu může podílet na klinickém úspěchu kombinace ATRA-daunorubicin. Výstup obou prací přináší hypotézu, že by sekvence podání interagujících cytostatik (cyklofosfamid, ATRA) a příslušného antracyklinu mohly být upraveny tak, aby byl maximalizován výhodný efekt interakce.

3. Stručný souhrn, závěry a perspektivy

Navzdory obrovskému progresu ve vývoji protinádorových léčiv zůstává léková rezistence jednou z nejtěžších překážek ve farmakoterapii nádorových onemocnění. Spolu s farmakodynamickými aspekty hrají důležitou roli v tomto fenoménu též farmakokinetické mechanismy, jmenovitě lékové transportéry a biotransformační enzymy. Studium těchto mechanismů a možnosti jejich ovlivnění je hlavním cílem předložené habilitační práce.

Zatímco role ABC transportérů ve farmakokinetické rezistenci byla popsána relativně detailně, výzkum účasti biotransformačních enzymů zdaleka nedosahuje takového rozsahu. Tento výzkum je navíc komplikován multienzymovým charakterem využívaných modelů a účastí více enzymů na metabolismu jednoho léčiva. V našich studiích jsme využili modely s overexpresí vždy pouze jednoho enzymu a specificky jsme prokázali účast enzymů AKR1C3 a CYP3A4 na cytostatické rezistenci. Je nutné si uvědomit, že využití geneticky modifikovaných *in vitro* modelů sice skýtá možnost selektivně potvrdit roli příslušného mechanismu, nicméně jeho reálný podíl na rezistenci v *in vivo* podmínkách odhadnout neumožňuje. V současné linii našeho výzkumu se proto soustředíme na vyřešení této klíčové otázky a s kolegy z Fakultní nemocnice HK a zahraničí se snažíme zavést relevantní *in vivo* modely. V rámci našeho užšího zaměření se aktuálně věnujeme nemalobuněčnému plicnímu karcinomu, který spolu s ostatními plicními malignitami neochvějně okupuje první příčku v žebříčku mortality u onkologických chorob. Z tohoto důvodu mezi zaváděné modely patří primární kultury odvozené od resekovaných nádorů, které byly darovány pacienty trpícími tímto typem nádoru. V plánu je též zavedení vysoce sofistikovaného preklinického modelu, primárních 3D-strukturovaných organoidů ve formě myších xenograftů. Plnění tohoto úkolu je bohužel momentálně pozastaveno, jelikož má být realizován v rámci spolupráce s kanadským onkologickým centrem a současná epidemiologická situace tuto spolupráci neumožňuje. Nicméně věříme, že tuto překážku brzy překonáme a že plánované experimenty (expresní a farmakodynamické studie doplněné o modulaci aktivity či exprese studovaných enzymů) pomohou lépe porozumět *in vivo* roli biotransformačních enzymů v cytostatické rezistenci na intratumorální úrovni.

V klinických studiích se ukázalo, že velkým problémem při snaze o překonání rezistence s využitím lékových interakcí je změna celkové farmakokinetiky konvenčního chemoterapeutika. Tento děj vede k manifestaci toxických nežádoucích účinků cytostatika a nutnosti redukovat jeho dávku^{104,109}. V našich pracích jsme se snažili vytipovat léčiva, která by mohla fungovat jako tzv. duální modulátory^{178,179}. Tento koncept je v současnosti považován za jednu z nejnadějnějších strategií pro překonání farmakokinetické rezistence. Duální modulátory fungují synergicky

s cytostatiky, jež jsou oběťmi farmakokinetické rezistence. Synergismus umožňuje snížit dávky kombinovaných léčiv, a při zachování/zvýšení terapeutické účinnosti tak výrazně redukovat riziko výskytu nežádoucích účinků⁵¹. Charakter duálního modulátoru se nám podařilo prokázat u více než deseti látek a navrhli jsme několik kombinací, jež by mohly pomoci optimalizovat léčbu u pacientů s prokázanou expresí daného rezistenčního mechanismu. Podobně jako v předchozím případě si uvědomujeme, že zásadní je ověření využitelnosti našich výsledků *in vivo* a později též v klinických podmínkách. V současné době již pracujeme na tomto úkolu a testujeme vybrané kombinace ve výše zmíněných primárních kulturách a v budoucnu plánujeme pro tento účel využít též xenograftových modelů.

Na snahu o překonání rezistence lze do určité míry nahlížet jako na Sisyfovskou práci. Obtížnost tohoto úkolu je dána zejména extrémní proměnlivostí nádorových buněk a jejich schopností rychle se přizpůsobit novým podmínkám. Situaci dále znesnadňuje extrémní heterogenita, která je pro nádory typická (anatomicky zdánlivě celistvý nádor je často tvořen několika subpopulacemi buněk, které se navzájem odlišují odolností vůči léčbě). Pro snížení rizika rozvoje rezistence je zásadní dodržování základních principů protinádorové farmakoterapie²⁰. Pokud je již rezistence přítomna, je pro její překonání ideální cílit na více mechanismů najednou, ať už farmakodynamických či farmakokinetických. Podobně jako jsou nádorové buňky schopné v případě inhibice onkogenní dráhy aktivovat dráhu alternativní, mají jednotliví zástupci lékových transportérů a biotransformačních enzymů schopnost se do určité míry zastoupit (substrátová afinita se často překrývá). V dnešní době je tak akceptováno, že ideální modulátor farmakokinetické rezistence by měl být multipotentní, tedy např. schopen ovlivnit více lékových transportérů najednou¹²². Hned několik látek z našich studií tomuto principu vyhovuje. Dalším požadavkem, který je v dnešní době akcentován a je pro aplikaci strategie duálních modulátorů esenciální, je důsledné dodržování principů personalizované medicíny. V praxi to znamená genotypizaci experimentálních modelů, subjektů klinického hodnocení či pacientů a určení exprese rezistenčního mechanismu, na nějž daný duální modulátor cílí. Jelikož primárním cílem řady nových léčiv (fungujících jako duální modulátory) je interakce se specificky mutovanou onkogenní dráhou, pro optimální výstup lékové kombinace by měla být analyzována rovněž přítomnost této mutace. V oblasti překonání rezistence se v budoucnu velmi pravděpodobně uplatní řada moderních směrů, mezi nimi např. genová terapie či cílená distribuce. S ohledem na dvojí tvář farmakokinetických mechanismů (ochranná detoxikační role ve fyziologických tkáních vs. role v rezistenci u nádorů) má zejména cílená distribuce obrovský potenciál. S pomocí tohoto přístupu by bylo možné zasáhnout farmakokinetické rezistenční mechanismy (ať už na úrovni ovlivnění aktivity či exprese) selektivně v prostředí nádoru. Cílená distribuce by tak mohla pomoci

překonat Achillovu patu přístupu využívajícího lékové interakce, kterou je ovlivnění systémové farmakokinetiky chemoterapeutika kombinovaného s modulátorem.

Na závěr se sluší konstatovat, že nádorová onemocnění ani lékovou rezistenci lidstvo sice pravděpodobně nikdy nevymytí, ale dílčími pokroky lze terapii v této oblasti stále vylepšovat, a pomoci tak mnoha pacientům. Doufáme, že se v budoucnu podaří prokázat klinickou využitelnost alespoň části výsledků našich *in vitro* studií, abychom se na tomto pokroku mohli podílet i my.

4. Podíl předkladatele na jednotlivých publikacích

- P1. **Hofman J.**, Ahmadimoghaddam D., Hahnova L., Pavek P., Ceckova M., Staud F.: Olomoucine II and purvalanol A inhibit ABCG2 transporter *in vitro* and *in situ* and synergistically potentiate cytostatic effect of mitoxantrone. *Pharmacol Res* 2012; 65 (3): 312 – 9, IF₂₀₁₂ = 4.346
- **první autor, podíl na designu experimentů, realizace všech experimentů, analýza dat, sepsání publikace, příprava revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P2. **Hofman J.**, Kučera R., Cihalova D., Klimes J., Ceckova M., Staud F.: Olomoucine II, but Not Purvalanol A, Is Transported by Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1). *PLoS One* 2013; 8 (10): e75520, IF₂₀₁₃ = 3.534
- **první autor, podíl na designu experimentů, realizace všech experimentů vyjma HPLC-MS analýzy, analýza dat, sepsání publikace, příprava revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P3. Cihalova D., **Hofman J.**, Ceckova M., Staud F.: Purvalanol A, olomoucine II and roscovitine inhibit ABCB1 transporter and synergistically potentiate cytotoxic effects of daunorubicin *in vitro*. *PLoS One* 2013; 8 (12): e83467, IF₂₀₁₃ = 3.534
- **realizace části experimentů, podíl na analýze dat a sepsování manuskriptu**
- P4. **Hofman J.**, Malcekova B., Skarka A., Novotna E., Wsol V.: Anthracycline resistance mediated by reductive metabolism in cancer cells: the role of aldo-keto reductase 1C3. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014; 278 (3): 238 – 48, IF₂₀₁₄ = 3.705
- **první autor, autor tématu, design experimentů, realizace všech experimentů vyjma Western blotting analýzy, analýza dat, sepsání publikace, příprava revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P5. Skarydova L., **Hofman J.**, Chlebek J., Havrankova J., Kosanova K., Skarka A., Hostalkova A., Plucha T., Cahlikova L., Wsol V.: Isoquinoline alkaloids as a novel type of AKR1C3 inhibitors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 143: 250 – 8, IF₂₀₁₄ = 3.628
- **design a realizace buněčných experimentů, podíl na analýze dat, sepsování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P6. **Hofman J.**, Skarka A., Havrankova J., Wsol V.: Pharmacokinetic interactions of breast cancer chemotherapeutics with human doxorubicin reductases. *Biochem Pharmacol* 2015; 96 (3): 168 – 78, IF₂₀₁₅ = 5.091
- **první autor, autor tématu, design experimentů, realizace všech experimentů vyjma Western blotting analýzy a několika inkubačních experimentů, analýza dat, sepsání publikace, příprava revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**

- P7. Zemanova L., **Hofman J.**, Novotna E., Musilek K., Lundova T., Havrankova J., Hostalkova A., Chlebek J., Cahlikova L., Wsol V.: Flavones Inhibit the Activity of AKR1B10, a Promising Therapeutic Target for Cancer Treatment. *J Nat Prod* 2015; 78 (11): 2666 - 74, IF₂₀₁₅ = 3.662
- **design a realizace buněčných experimentů, podíl na analýze dat, sepisování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P8. **Hofman J.**, Kučera R., Neumanova Z., Klimes J., Ceckova M., Staud F.: Placental passage of olomoucine II, but not purvalanol A, is affected by p-glycoprotein (ABCB1), breast cancer resistance protein (ABCG2) and multidrug resistance-associated proteins (ABCCs). *Xenobiotica* 2016; 46(5): 416-23, IF₂₀₁₆ = 1.932
- **první autor, podíl na designu experimentů, realizace všech experimentů s výjimkou HPLC-MS analýzy a několika opakování perfuzních experimentů, analýza dat, sepsání publikace, příprava revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P9. Hintzpeter J., Seliger J.M., **Hofman J.**, Martin H.J., Wsol V., Maser E.: Inhibition of human anthracycline reductases by emodin - a possible remedy for anthracycline resistance. *Toxicol Appl Pharmacol* 2016; 293: 21-9, IF₂₀₁₆ = 3.791
- **design a realizace buněčných experimentů, podíl na analýze dat, sepisování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P10. Siroka J., Ceckova M., Urbanek L., Krystof V., Gucky T., **Hofman J.**, Strnad M., Staud F.: LC-MS/MS method for determination of cyclin-dependent kinase inhibitors, BP-14 and BP-20, and its application in pharmacokinetic study in rat. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2018; 1089: 24-32, IF₂₀₁₈ = 2.813
- **farmakokinetická analýza dat, podíl na sepisování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P11. Sorf A., **Hofman J.**, Kucera R., Staud F., Ceckova M.: Ribociclib shows potential for pharmacokinetic drug-drug interactions being a substrate of ABCB1 and potent inhibitor of ABCB1, ABCG2 and CYP450 isoforms in vitro. *Biochem Pharmacol* 2018; 154: 10-7, IF₂₀₁₈ = 4.825
- **design a realizace experimentů zaměřených na cytochromy P450, podíl na analýze dat, sepisování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P12. Novotna E., Büküm N., **Hofman J.**, Flaxova M., Kouklikova E., Louvarova D., Wsol V.: Aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3): a missing piece of the puzzle in the dinaciclib interaction profile. *Arch Toxicol* 2018; 92: 2845-2857, IF₂₀₁₈ = 5.741
- **podíl na designu experimentů, analýze dat, sepisování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P13. Novotna E., Büküm N., **Hofman J.**, Flaxova M., Kouklikova E., Louvarova D., Wsol V.: Roscovitine and purvalanol A effectively reverse anthracycline resistance mediated by the activity of aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3). *Biochem Pharmacol* 2018; 156: 22-31, IF₂₀₁₈ = 4.825

- **podíl na designu experimentů, analýze dat, sepsování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P14. Büküm N., Novotna E., Morell A., **Hofman J.**, Wsol V.: Buparlisib is a novel inhibitor of daunorubicin reduction mediated by aldo-keto reductase 1C3. Chem Biol Interact 2019; 302: 101-7, IF_{2019/2020} = 3.723
- **podíl na sepsování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P15. Sorf A., Novotna E., **Hofman J.**, Morell A., Staud F., Wsol V., Ceckova M.: Cyclin-dependent kinase inhibitors AZD5438 and R547 show potential for enhancing efficacy of daunorubicin-based anticancer therapy: Interaction with carbonyl-reducing enzymes and ABC transporters. Biochem Pharmacol 2019; 163: 290-8, IF_{2019/2020} = 4.960
- **podíl na analýze dat, sepsování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P16. **Hofman J.**, Sorf A., Vagiannis D., Sucha S., Novotna E., Kammerer S., Küpper J-H., Ceckova M., Staud F.: Interactions of Alectinib with Human ATP-Binding Cassette Drug Efflux Transporters and Cytochrome P450 Biotransformation Enzymes: Effect on Pharmacokinetic Multidrug Resistance. Drug Metab Dispos 2019; 47(7): 699-709, IF_{2019/2020} = 3.231
- **první a korespondující autor, autor tématu, design experimentů, realizace části experimentů, analýza dat, sepsání publikace, příprava revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P17. **Hofman J.**, Sorf A., Vagiannis D., Sucha S., Kammerer S., Küpper J-H., Chen S., Guo L., Ceckova M., Staud F.: Brivanib Exhibits Potential for Pharmacokinetic Drug-Drug Interactions and the Modulation of Multidrug Resistance through the Inhibition of Human ABCG2 Drug Efflux Transporter and CYP450 Biotransformation Enzymes. Mol Pharmaceut 2019; 16(11): 4436-4450, IF_{2019/2020} = 4.321
- **první a korespondující autor, autor tématu, design experimentů, realizace části experimentů, analýza dat, sepsání publikace, příprava revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P18. Vagiannis D., Novotna E., Skarka A., Kammerer S., Küpper J-H., Chen S., Guo L., Staud F., **Hofman J.**: Ensartinib (X-396) Effectively Modulates Pharmacokinetic Resistance Mediated by ABCB1 and ABCG2 Drug Efflux Transporters and CYP3A4 Biotransformation Enzyme. Cancers 2020; 12(4): E813, IF_{2019/2020} = 6.126
- **korespondující autor, školitel prvního autora, autor tématu, design experimentů, podíl na analýze dat, sepsání publikace, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**
- P19. Vagiannis D., Zhang Y., Novotna E., Morell A., **Hofman J.**: Entrectinib reverses cytostatic resistance through the inhibition of ABCB1 efflux transporter, but not the CYP3A4 drug-metabolizing enzyme. Biochem Pharmacol 2020; 178: 114061, IF_{2019/2020} = 4.960

- **korespondující autor, školitel prvního autora, autor tématu, design experimentů, podíl na analýze dat, sepsání publikace, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**

P20. Novotna E., Morell A., Büküm N., **Hofman J.**, Danielisová P., Wsól V.: Interactions of antileukemic drugs with daunorubicin reductases: could reductases affect the clinical efficacy of daunorubicin chemoregimens?. Arch Toxicol 2020; 94: 3059-3068, IF_{2019/2020} = 5.059

- **autor tématu, podíl na analýze dat, sepsování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**

P21. Tavares T. S., **Hofman J.**, Lekešová A., Želazková J., Wsól V.: Olaparib Synergizes the Anticancer Activity of Daunorubicin via Interaction with AKR1C3. Cancers 2020; 12(11): 3127

- **autor tématu, design experimentů, podíl na analýze dat, sepsování manuskriptu, přípravě revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**

Práce v oponentním řízení (Doplněk 1)

PD1. **Hofman J.**, Vagiannis D., Chen S., Guo L.: The role of CYP3A4, CYP3A5 and CYP2C8 drug-metabolizing enzymes in the pharmacokinetic cytostatic resistance. Chem Biol Interact, submitováno

- **první a korespondující autor, autor tématu, design experimentů, realizace části experimentů, analýza dat, sepsání publikace, příprava revidované verze manuskriptu a odpovědi oponentům**

5. Seznam použité literatury

1. Siegel, R.L., Miller, K.D. & Jemal, A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* **70**, 7-30 (2020).
2. Housman, G., *et al.* Drug resistance in cancer: an overview. *Cancers (Basel)* **6**, 1769-1792 (2014).
3. Motofei, I.G. Biology of Cancer; From Cellular Cancerogenesis to Supracellular Evolution of Malignant Phenotype. *Cancer Invest* **36**, 309-317 (2018).
4. Chik, F., Szyf, M. & Rabbani, S.A. Role of epigenetics in cancer initiation and progression. *Adv Exp Med Biol* **720**, 91-104 (2011).
5. Seyfried, T.N. & Huysentruyt, L.C. On the origin of cancer metastasis. *Crit Rev Oncog* **18**, 43-73 (2013).
6. Hanahan, D. & Weinberg, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**, 646-674 (2011).
7. Rahner, N. & Steinke, V. Hereditary cancer syndromes. *Dtsch Arztebl Int* **105**, 706-714 (2008).
8. Godtfredsen, N.S., Prescott, E. & Osler, M. Effect of smoking reduction on lung cancer risk. *JAMA* **294**, 1505-1510 (2005).
9. Laconi, E., Marongiu, F. & DeGregori, J. Cancer as a disease of old age: changing mutational and microenvironmental landscapes. *Br J Cancer* **122**, 943-952 (2020).
10. Masarykův onkologický ústav. Kalkulačka rizik. Available at <https://www.mou.cz/kalkulacka-rizik?do=genderAgeForm-submit>. Accessed 15th September 2020.
11. Hubbard, M.O., Fu, P., Margevicius, S., Dowlati, A. & Linden, P.A. Five-year survival does not equal cure in non-small cell lung cancer: a Surveillance, Epidemiology, and End Results-based analysis of variables affecting 10- to 18-year survival. *J Thorac Cardiovasc Surg* **143**, 1307-1313 (2012).
12. Ellis, P.M. & Vandermeer, R. Delays in the diagnosis of lung cancer. *J Thorac Dis* **3**, 183-188 (2011).
13. Bhatnagar, P., Wickramasinghe, K., Williams, J., Rayner, M. & Townsend, N. The epidemiology of cardiovascular disease in the UK 2014. *Heart* **101**, 1182-1189 (2015).
14. Faguet, G.B. A brief history of cancer: age-old milestones underlying our current knowledge database. *Int J Cancer* **136**, 2022-2036 (2015).
15. Lakhtakia, R. A Brief History of Breast Cancer: Part I: Surgical domination reinvented. *Sultan Qaboos Univ Med J* **14**, e166-169 (2014).
16. Sudhakar, A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *J Cancer Sci Ther* **1**, 1-4 (2009).
17. Fenn, J.E. & Udelsman, R. First use of intravenous chemotherapy cancer treatment: rectifying the record. *J Am Coll Surg* **212**, 413-417 (2011).
18. Nordlinger, B., *et al.* Combination of surgery and chemotherapy and the role of targeted agents in the treatment of patients with colorectal liver metastases: recommendations from an expert panel. *Ann Oncol* **20**, 985-992 (2009).
19. Hennequin, C., Guillerm, S. & Quero, L. Combination of chemotherapy and radiotherapy: A thirty years evolution. *Cancer Radiother* **23**, 662-665 (2019).
20. Švihovec, J., *et al.* Farmakologie. *Grada Publishing*, 1-962 (2018).
21. Coleman, R.E. Glucocorticoids in cancer therapy. *Biotherapy* **4**, 37-44 (1992).

22. Ritter, J., *et al.* Rang & Dale's Pharmacology. *Elsevier*, 1-808 (2019).
23. Gardner, S.N. Cell cycle phase-specific chemotherapy: computational methods for guiding treatment. *1*, 369-374 (2002).
24. Love, R.R., Leventhal, H., Easterling, D.V. & Nerenz, D.R. Side effects and emotional distress during cancer chemotherapy. *Cancer* **63**, 604-612 (1989).
25. Goodman, M. Managing the side effects of chemotherapy. *Semin Oncol Nurs* **5**, 29-52 (1989).
26. Pietrangelo, A. The Effects of Chemotherapy on Your Body. Available at <https://www.healthline.com/health/cancer/effects-on-body>. Accessed 21th September 2020.
27. Frampton, J.E. Liposomal Irinotecan: A Review in Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. *Drugs* **80**, 1007-1018 (2020).
28. Alfayez, M., Kantarjian, H., Kadia, T., Ravandi-Kashani, F. & Daver, N. CPX-351 (vyxeos) in AML. *Leuk Lymphoma* **61**, 288-297 (2020).
29. Kim, E.J., *et al.* Real-world experience with mechlorethamine gel in patients with mycosis fungoides-cutaneous lymphoma: Preliminary findings from a prospective observational study. *J Am Acad Dermatol* **83**, 928-930 (2020).
30. Nehate, C., *et al.* Paclitaxel formulations: challenges and novel delivery options. *Curr Drug Deliv* **11**, 666-686 (2014).
31. Mori, K., *et al.* Apalutamide, enzalutamide, and darolutamide for non-metastatic castration-resistant prostate cancer: a systematic review and network meta-analysis. *Int J Clin Oncol* (2020).
32. de Sande Gonzalez, L.M., Martin-Broto, J., Kasper, B., Blay, J.Y. & Le Cesne, A. Real-world evidence of the efficacy and tolerability of trabectedin in patients with advanced soft-tissue sarcoma. *Expert Rev Anticancer Ther*, 1-7 (2020).
33. Baldo, P., Fornasier, G., Ciolfi, L., Sartor, I. & Francescon, S. Pharmacovigilance in oncology. *Int J Clin Pharm* **40**, 832-841 (2018).
34. Yan, L., Rosen, N. & Arteaga, C. Targeted cancer therapies. *Chin J Cancer* **30**, 1-4 (2011).
35. Scavone, C., *et al.* Safety Profile of Anticancer and Immune-Modulating Biotech Drugs Used in a Real World Setting in Campania Region (Italy): BIO-Cam Observational Study. *Front Pharmacol* **8**, 607 (2017).
36. Geynisman, D.M. & Wickersham, K.E. Adherence to targeted oral anticancer medications. *Discov Med* **15**, 231-241 (2013).
37. Kubczak, M. & Rogalinska, M. [Evolution of monoclonal antibodies in cancer treatment]. *Postepy Biochem* **62**, 518-525 (2016).
38. Weiner, G.J. Building better monoclonal antibody-based therapeutics. *Nat Rev Cancer* **15**, 361-370 (2015).
39. de Miguel, M. & Calvo, E. Clinical Challenges of Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancer Cell* **38**, 326-333 (2020).
40. Pottier, C., *et al.* Tyrosine Kinase Inhibitors in Cancer: Breakthrough and Challenges of Targeted Therapy. *Cancers (Basel)* **12**(2020).
41. Cruz, M., Reinert, T. & Cristofanilli, M. Emerging Innovative Therapeutic Approaches Leveraging Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors to Treat Advanced Breast Cancer. *Clin Pharmacol Ther* **103**, 1009-1019 (2018).

42. Zhou, P., Wang, J., Mishail, D. & Wang, C.Y. Recent advancements in PARP inhibitors-based targeted cancer therapy. *Precis Clin Med* **3**, 187-201 (2020).
43. Baig, S., *et al.* Potential of apoptotic pathway-targeted cancer therapeutic research: Where do we stand? *Cell Death Dis* **7**, e2058 (2016).
44. Clara, J.A., Monge, C., Yang, Y. & Takebe, N. Targeting signalling pathways and the immune microenvironment of cancer stem cells - a clinical update. *Nat Rev Clin Oncol* **17**, 204-232 (2020).
45. Golub, D., *et al.* Mutant Isocitrate Dehydrogenase Inhibitors as Targeted Cancer Therapeutics. *Front Oncol* **9**, 417 (2019).
46. Podar, K., Shah, J., Chari, A., Richardson, P.G. & Jagannath, S. Selinexor for the treatment of multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother* **21**, 399-408 (2020).
47. Parikh, K., Cang, S., Sekhri, A. & Liu, D. Selective inhibitors of nuclear export (SINE)--a novel class of anti-cancer agents. *J Hematol Oncol* **7**, 78 (2014).
48. Smith, W.M., *et al.* Therapeutic targeting of immune checkpoints with small molecule inhibitors. *Am J Transl Res* **11**, 529-541 (2019).
49. Farkona, S., Diamandis, E.P. & Blasutig, I.M. Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? *BMC Med* **14**, 73 (2016).
50. Ventola, C.L. Cancer Immunotherapy, Part 2: Efficacy, Safety, and Other Clinical Considerations. *P T* **42**, 452-463 (2017).
51. Bayat Mokhtari, R., *et al.* Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget* **8**, 38022-38043 (2017).
52. Bareschino, M.A., Morgillo, F. & Ciardiello, F. Combination of standard chemotherapy and targeted agents. *J Thorac Oncol* **2**, S19-23 (2007).
53. Naglieri, E. Management of toxicity in patients treated with tyrosine kinase inhibitors (TKI). *European Journal of Cancer Supplements* **6**, 42-45 (2008).
54. Lacouture, M. & Sibaud, V. Toxic Side Effects of Targeted Therapies and Immunotherapies Affecting the Skin, Oral Mucosa, Hair, and Nails. *Am J Clin Dermatol* **19**, 31-39 (2018).
55. Levy, J.M.M., Towers, C.G. & Thorburn, A. Targeting autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer* **17**, 528-542 (2017).
56. Vernieri, C., *et al.* Targeting Cancer Metabolism: Dietary and Pharmacologic Interventions. *Cancer Discov* **6**, 1315-1333 (2016).
57. Hunter, F.W., Wouters, B.G. & Wilson, W.R. Hypoxia-activated prodrugs: paths forward in the era of personalised medicine. *Br J Cancer* **114**, 1071-1077 (2016).
58. Chen, H., Zhang, W., Zhu, G., Xie, J. & Chen, X. Rethinking cancer nanotheranostics. *Nat Rev Mater* **2**(2017).
59. Sivasubramanian, M., Chuang, Y.C., Chen, N.T. & Lo, L.W. Seeing Better and Going Deeper in Cancer Nanotheranostics. *Int J Mol Sci* **20**(2019).
60. Patra, J.K., *et al.* Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *J Nanobiotechnology* **16**, 71 (2018).
61. Nikezic, A.V.V., Bondzic, A.M. & Vasic, V.M. Drug delivery systems based on nanoparticles and related nanostructures. *Eur J Pharm Sci* **151**, 105412 (2020).
62. Khan, A.U., Khan, M., Cho, M.H. & Khan, M.M. Selected nanotechnologies and nanostructures for drug delivery, nanomedicine and cure. *Bioprocess Biosyst Eng* **43**, 1339-1357 (2020).

63. Zhou, H., Qin, F. & Chen, C. Designing Hypoxia-Responsive Nanotheranostic Agents for Tumor Imaging and Therapy. *Adv Healthc Mater*, e2001277 (2020).
64. He, Q., et al. Tumor microenvironment responsive drug delivery systems. *Asian J Pharm Sci* **15**, 416-448 (2020).
65. Moradi Kashkooli, F., Soltani, M. & Souiri, M. Controlled anti-cancer drug release through advanced nano-drug delivery systems: Static and dynamic targeting strategies. *J Control Release* **327**, 316-349 (2020).
66. Mi, P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery, tumor imaging, therapy and theranostics. *Theranostics* **10**, 4557-4588 (2020).
67. Ginn, S.L., Amaya, A.K., Alexander, I.E., Edelstein, M. & Abedi, M.R. Gene therapy clinical trials worldwide to 2017: An update. *J Gene Med* **20**, e3015 (2018).
68. Wang, D. & Gao, G. State-of-the-art human gene therapy: part II. Gene therapy strategies and clinical applications. *Discov Med* **18**, 151-161 (2014).
69. Doudna, J.A. The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature* **578**, 229-236 (2020).
70. Haas, S.A., Dettmer, V. & Cathomen, T. Therapeutic genome editing with engineered nucleases. *Hamostaseologie* **37**, 45-52 (2017).
71. Rosenblum, D., Gutkin, A., Dammes, N. & Peer, D. Progress and challenges towards CRISPR/Cas clinical translation. *Adv Drug Deliv Rev* (2020).
72. Kantor, A., McClements, M.E. & MacLaren, R.E. CRISPR-Cas9 DNA Base-Editing and Prime-Editing. *Int J Mol Sci* **21**(2020).
73. Navarro, S.A., et al. Cancer suicide gene therapy: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* **26**, 1095-1104 (2016).
74. Lopes, A., Vandermeulen, G. & Preat, V. Cancer DNA vaccines: current preclinical and clinical developments and future perspectives. *J Exp Clin Cancer Res* **38**, 146 (2019).
75. Goradel, N.H., et al. Oncolytic virotherapy: Challenges and solutions. *Curr Probl Cancer*, 100639 (2020).
76. Rad, S.M., et al. Transcription factor decoy: a pre-transcriptional approach for gene downregulation purpose in cancer. *Tumour Biol* **36**, 4871-4881 (2015).
77. Mulhbachter, J., St-Pierre, P. & Lafontaine, D.A. Therapeutic applications of ribozymes and riboswitches. *Curr Opin Pharmacol* **10**, 551-556 (2010).
78. Karnati, H.K., Yalagala, R.S., Undi, R., Pasupuleti, S.R. & Gutti, R.K. Therapeutic potential of siRNA and DNazymes in cancer. *Tumour Biol* **35**, 9505-9521 (2014).
79. Fu, Z. & Xiang, J. Aptamers, the Nucleic Acid Antibodies, in Cancer Therapy. *Int J Mol Sci* **21**(2020).
80. Sutherland, A.R., Owens, M.N. & Geyer, C.R. Modular Chimeric Antigen Receptor Systems for Universal CAR T Cell Retargeting. *Int J Mol Sci* **21**(2020).
81. Larocca, C.A., LeBoeuf, N.R., Silk, A.W. & Kaufman, H.L. An Update on the Role of Talimogene Laherparepvec (T-VEC) in the Treatment of Melanoma: Best Practices and Future Directions. *Am J Clin Dermatol* (2020).
82. Farkas, A.M., et al. Advanced Therapy Medicinal Products for Rare Diseases: State of Play of Incentives Supporting Development in Europe. *Front Med (Lausanne)* **4**, 53 (2017).
83. Ali, S., et al. The European Medicines Agency Review of Kymriah (Tisagenlecleucel) for the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia and Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Oncologist* **25**, e321-e327 (2020).

84. Jain, M.D., Bachmeier, C.A., Phuoc, V.H. & Chavez, J.C. Axicabtagene ciloleucel (KTE-C19), an anti-CD19 CAR T therapy for the treatment of relapsed/refractory aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ther Clin Risk Manag* **14**, 1007-1017 (2018).
85. Beyar-Katz, O. & Gill, S. Advances in chimeric antigen receptor T cells. *Curr Opin Hematol* (2020).
86. Santomasso, B., Bachier, C., Westin, J., Rezvani, K. & Shpall, E.J. The Other Side of CAR T-Cell Therapy: Cytokine Release Syndrome, Neurologic Toxicity, and Financial Burden. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* **39**, 433-444 (2019).
87. Paton, J. Tiny U.K. Biotech Takes On Glaxo's \$730,000 Gene Therapy. *Bloomberg* (2018). Available at <https://www.bloomberg.com/news/articles/2018-03-06/tiny-biotech-takes-on-goliath-glaxo-s-730-000-gene-therapy>. Accessed 28th September 2020.
88. Crowe, K. The million-dollar drug. *CBC News* (2018). Available at <https://newsinteractives.cbc.ca/longform/glybera>. Accessed 28th September 2020.
89. Driscoll, D., Farnia, S., Kefalas, P. & Maziarz, R.T. Concise Review: The High Cost of High Tech Medicine: Planning Ahead for Market Access. *Stem Cells Transl Med* **6**, 1723-1729 (2017).
90. Naredi, P. & La Quaglia, M.P. The future of trials in surgical oncology. *Nat Rev Clin Oncol* **12**, 425-431 (2015).
91. Vordermark, D. Ten years of progress in radiation oncology. *BMC Cancer* **11**, 503 (2011).
92. Haider, T., Pandey, V., Banjare, N., Gupta, P.N. & Soni, V. Drug resistance in cancer: mechanisms and tackling strategies. *Pharmacol Rep* (2020).
93. Luqmani, Y.A. Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Med Princ Pract* **14 Suppl 1**, 35-48 (2005).
94. Davidovich, N.V., Kukalevskaya, N.N., Bashilova, E.N. & Bazhukova, T.A. [General principles of antibiotic resistance evolution in bacteria (review of literature)]. *Klin Lab Diagn* **65**, 387-393 (2020).
95. French, G.L. The continuing crisis in antibiotic resistance. *Int J Antimicrob Agents* **36 Suppl 3**, S3-7 (2010).
96. Fujita, N. [Mechanisms of resistance to molecular targeted drugs]. *Nihon Rinsho* **72**, 1151-1156 (2014).
97. Noguchi, K. Novel Mechanisms of Resistance to Investigational Molecularly Targeted Drugs. *Yakugaku Zasshi* **137**, 151-160 (2017).
98. Holohan, C., Van Schaeybroeck, S., Longley, D.B. & Johnston, P.G. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nat Rev Cancer* **13**, 714-726 (2013).
99. Nussinov, R., Tsai, C.J. & Jang, H. A New View of Pathway-Driven Drug Resistance in Tumor Proliferation. *Trends Pharmacol Sci* **38**, 427-437 (2017).
100. Lord, C.J. & Ashworth, A. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature* **481**, 287-294 (2012).
101. Herbst, R.S., Morgensztern, D. & Boshoff, C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature* **553**, 446-454 (2018).
102. Yoda, S., Dagogo-Jack, I. & Hata, A.N. Targeting oncogenic drivers in lung cancer: Recent progress, current challenges and future opportunities. *Pharmacol Ther* **193**, 20-30 (2019).
103. Tripathi, S.K., Pandey, K., Rengasamy, K.R.R. & Biswal, B.K. Recent updates on the resistance mechanisms to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors and resistance reversion strategies in lung cancer. *Med Res Rev* (2020).

104. Szakacs, G., Paterson, J.K., Ludwig, J.A., Booth-Genthe, C. & Gottesman, M.M. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov* **5**, 219-234 (2006).
105. Alfarouk, K.O., *et al.* Resistance to cancer chemotherapy: failure in drug response from ADME to P-gp. *Cancer Cell Int* **15**, 71 (2015).
106. Rochat, B. Importance of influx and efflux systems and xenobiotic metabolizing enzymes in intratumoral disposition of anticancer agents. *Curr Cancer Drug Targets* **9**, 652-674 (2009).
107. Vadlapatla, R.K., Vadlapudi, A.D., Pal, D. & Mitra, A.K. Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy: coordinated role and regulation of efflux transporters and metabolizing enzymes. *Curr Pharm Des* **19**, 7126-7140 (2013).
108. McFadyen, M.C., Melvin, W.T. & Murray, G.I. Cytochrome P450 enzymes: novel options for cancer therapeutics. *Mol Cancer Ther* **3**, 363-371 (2004).
109. Fletcher, J.I., Haber, M., Henderson, M.J. & Norris, M.D. ABC transporters in cancer: more than just drug efflux pumps. *Nat Rev Cancer* **10**, 147-156 (2010).
110. Wilkens, S. Structure and mechanism of ABC transporters. *F1000Prime Rep* **7**, 14 (2015).
111. Holland, I.B. ABC transporters, mechanisms and biology: an overview. *Essays Biochem* **50**, 1-17 (2011).
112. Szakacs, G., Varadi, A., Ozvegy-Laczka, C. & Sarkadi, B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug Discov Today* **13**, 379-393 (2008).
113. International Transporter, C., *et al.* Membrane transporters in drug development. *Nat Rev Drug Discov* **9**, 215-236 (2010).
114. Giacomini, K.M. & Huang, S.M. Transporters in drug development and clinical pharmacology. *Clin Pharmacol Ther* **94**, 3-9 (2013).
115. Gessner, A., Konig, J. & Fromm, M.F. Clinical Aspects of Transporter-Mediated Drug-Drug Interactions. *Clin Pharmacol Ther* **105**, 1386-1394 (2019).
116. Zhang, L., Zhang, Y.D., Zhao, P. & Huang, S.M. Predicting drug-drug interactions: an FDA perspective. *AAPS J* **11**, 300-306 (2009).
117. Muriithi, W., *et al.* ABC transporters and the hallmarks of cancer: roles in cancer aggressiveness beyond multidrug resistance. *Cancer Biol Med* **17**, 253-269 (2020).
118. Dean, M. ABC transporters, drug resistance, and cancer stem cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* **14**, 3-9 (2009).
119. Begicevic, R.R. & Falasca, M. ABC Transporters in Cancer Stem Cells: Beyond Chemoresistance. *Int J Mol Sci* **18**(2017).
120. Sun, Y.L., Patel, A., Kumar, P. & Chen, Z.S. Role of ABC transporters in cancer chemotherapy. *Chin J Cancer* **31**, 51-57 (2012).
121. Deng, J., Shao, J., Markowitz, J.S. & An, G. ABC transporters in multi-drug resistance and ADME-Tox of small molecule tyrosine kinase inhibitors. *Pharm Res* **31**, 2237-2255 (2014).
122. Robey, R.W., *et al.* Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. *Nat Rev Cancer* **18**, 452-464 (2018).
123. Zochbauer, S., *et al.* P-glycoprotein expression as unfavorable prognostic factor in acute myeloid leukemia. *Leukemia* **8**, 974-977 (1994).
124. Chan, H.S., Grogan, T.M., Haddad, G., DeBoer, G. & Ling, V. P-glycoprotein expression: critical determinant in the response to osteosarcoma chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* **89**, 1706-1715 (1997).

125. Nakanishi, T. & Ross, D.D. Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2): its role in multidrug resistance and regulation of its gene expression. *Chin J Cancer* **31**, 73-99 (2012).
126. Kunicka, T. & Soucek, P. Importance of ABCC1 for cancer therapy and prognosis. *Drug Metab Rev* **46**, 325-342 (2014).
127. Gillet, J.P., Efferth, T. & Remacle, J. Chemotherapy-induced resistance by ATP-binding cassette transporter genes. *Biochim Biophys Acta* **1775**, 237-262 (2007).
128. Lin, L., Yee, S.W., Kim, R.B. & Giacomini, K.M. SLC transporters as therapeutic targets: emerging opportunities. *Nat Rev Drug Discov* **14**, 543-560 (2015).
129. Watkins, D.B., Hughes, T.P. & White, D.L. OCT1 and imatinib transport in CML: is it clinically relevant? *Leukemia* **29**, 1960-1969 (2015).
130. Zach, O., Krieger, O., Foedermayr, M., Zellhofer, B. & Lutz, D. OCT1 (SLC22A1) R61C polymorphism and response to imatinib treatment in chronic myeloid leukemia patients. *Leuk Lymphoma* **49**, 2222-2223 (2008).
131. Herraes, E., *et al.* Expression of SLC22A1 variants may affect the response of hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma to sorafenib. *Hepatology* **58**, 1065-1073 (2013).
132. Naka, A., *et al.* Organic cation transporter 2 for predicting cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy response in gastric cancer. *Am J Cancer Res* **5**, 2285-2293 (2015).
133. Wang, Y., *et al.* The association of transporter genes polymorphisms and lung cancer chemotherapy response. *PLoS One* **9**, e91967 (2014).
134. Andreev, E., Brosseau, N., Carmona, E., Mes-Masson, A.M. & Ramotar, D. The human organic cation transporter OCT1 mediates high affinity uptake of the anticancer drug daunorubicin. *Sci Rep* **6**, 20508 (2016).
135. Zhang, J., *et al.* The role of nucleoside transporters in cancer chemotherapy with nucleoside drugs. *Cancer Metastasis Rev* **26**, 85-110 (2007).
136. Benet, L.Z. & Cummins, C.L. The drug efflux-metabolism alliance: biochemical aspects. *Adv Drug Deliv Rev* **50 Suppl 1**, S3-11 (2001).
137. Benet, L.Z., Izumi, T., Zhang, Y., Silverman, J.A. & Wachter, V.J. Intestinal MDR transport proteins and P-450 enzymes as barriers to oral drug delivery. *J Control Release* **62**, 25-31 (1999).
138. Wienkers, L.C. & Heath, T.G. Predicting in vivo drug interactions from in vitro drug discovery data. *Nat Rev Drug Discov* **4**, 825-833 (2005).
139. Michael, M. & Doherty, M.M. Tumoral drug metabolism: overview and its implications for cancer therapy. *J Clin Oncol* **23**, 205-229 (2005).
140. Oyama, T., *et al.* Expression of cytochrome P450 in tumor tissues and its association with cancer development. *Front Biosci* **9**, 1967-1976 (2004).
141. Rodriguez-Antona, C. & Ingelman-Sundberg, M. Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. *Oncogene* **25**, 1679-1691 (2006).
142. Zhang, K., Mack, P. & Wong, K.P. Glutathione-related mechanisms in cellular resistance to anticancer drugs. *Int J Oncol* **12**, 871-882 (1998).
143. Allain, E.P., Rouleau, M., Levesque, E. & Guillemette, C. Emerging roles for UDP-glucuronosyltransferases in drug resistance and cancer progression. *Br J Cancer* **122**, 1277-1287 (2020).
144. Murray, G.I., *et al.* Tumor-specific expression of cytochrome P450 CYP1B1. *Cancer Res* **57**, 3026-3031 (1997).

145. McFadyen, M.C. & Murray, G.I. Cytochrome P450 1B1: a novel anticancer therapeutic target. *Future Oncol* **1**, 259-263 (2005).
146. Baker, S.D., Sparreboom, A. & Verweij, J. Clinical pharmacokinetics of docetaxel : recent developments. *Clin Pharmacokinet* **45**, 235-252 (2006).
147. Sonnichsen, D.S. & Relling, M.V. Clinical pharmacokinetics of paclitaxel. *Clin Pharmacokinet* **27**, 256-269 (1994).
148. Vaclavikova, R., Horsky, S., Simek, P. & Gut, I. Paclitaxel metabolism in rat and human liver microsomes is inhibited by phenolic antioxidants. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **368**, 200-209 (2003).
149. Jackson, D.V., Jr., Castle, M.C. & Bender, R.A. Biliary excretion of vincristine. *Clin Pharmacol Ther* **24**, 101-107 (1978).
150. Yao, D., Ding, S., Burchell, B., Wolf, C.R. & Friedberg, T. Detoxication of vinca alkaloids by human P450 CYP3A4-mediated metabolism: implications for the development of drug resistance. *J Pharmacol Exp Ther* **294**, 387-395 (2000).
151. Shou, M., *et al.* Role of human cytochrome P450 3A4 and 3A5 in the metabolism of taxotere and its derivatives: enzyme specificity, interindividual distribution and metabolic contribution in human liver. *Pharmacogenetics* **8**, 391-401 (1998).
152. Dennison, J.B., *et al.* Selective metabolism of vincristine in vitro by CYP3A5. *Drug Metab Dispos* **34**, 1317-1327 (2006).
153. Miyoshi, Y., *et al.* Prediction of response to docetaxel by CYP3A4 mRNA expression in breast cancer tissues. *Int J Cancer* **97**, 129-132 (2002).
154. Miyoshi, Y., Taguchi, T., Kim, S.J., Tamaki, Y. & Noguchi, S. Prediction of response to docetaxel by immunohistochemical analysis of CYP3A4 expression in human breast cancers. *Breast Cancer* **12**, 11-15 (2005).
155. Garcia-Martin, E., *et al.* Acquired resistance to the anticancer drug paclitaxel is associated with induction of cytochrome P450 2C8. *Pharmacogenomics* **7**, 575-585 (2006).
156. Owellen, R.J., Hartke, C.A. & Hains, F.O. Pharmacokinetics and metabolism of vinblastine in humans. *Cancer Res* **37**, 2597-2602 (1977).
157. Leveque, D. & Jehl, F. Molecular pharmacokinetics of catharanthus (vinca) alkaloids. *J Clin Pharmacol* **47**, 579-588 (2007).
158. Castle, M.C., Margileth, D.A. & Oliverio, V.T. Distribution and excretion of (3H)vincristine in the rat and the dog. *Cancer Res* **36**, 3684-3689 (1976).
159. Rochat, B., Morsman, J.M., Murray, G.I., Figg, W.D. & McLeod, H.L. Human CYP1B1 and anticancer agent metabolism: mechanism for tumor-specific drug inactivation? *J Pharmacol Exp Ther* **296**, 537-541 (2001).
160. Piska, K., *et al.* Metabolic carbonyl reduction of anthracyclines - role in cardiotoxicity and cancer resistance. Reducing enzymes as putative targets for novel cardioprotective and chemosensitizing agents. *Invest New Drugs* **35**, 375-385 (2017).
161. Mazerska, Z., Mroz, A., Pawlowska, M. & Augustin, E. The role of glucuronidation in drug resistance. *Pharmacol Ther* **159**, 35-55 (2016).
162. Starlard-Davenport, A., Lyn-Cook, B., Beland, F.A. & Pogribny, I.P. The role of UDP-glucuronosyltransferases and drug transporters in breast cancer drug resistance. *Exp Oncol* **32**, 172-180 (2010).
163. Ruzza, P., Rosato, A., Rossi, C.R., Floreani, M. & Quintieri, L. Glutathione transferases as targets for cancer therapy. *Anticancer Agents Med Chem* **9**, 763-777 (2009).

164. Townsend, D.M. & Tew, K.D. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* **22**, 7369-7375 (2003).
165. Tsuruo, T., Iida, H., Tsukagoshi, S. & Sakurai, Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res* **41**, 1967-1972 (1981).
166. Slater, L.M., Sweet, P., Stupecky, M. & Gupta, S. Cyclosporin A reverses vincristine and daunorubicin resistance in acute lymphatic leukemia in vitro. *J Clin Invest* **77**, 1405-1408 (1986).
167. List, A.F., *et al.* Benefit of cyclosporine modulation of drug resistance in patients with poor-risk acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group study. *Blood* **98**, 3212-3220 (2001).
168. Benson, A.B., 3rd, *et al.* Phase I study of vinblastine and verapamil given by concurrent iv infusion. *Cancer Treat Rep* **69**, 795-799 (1985).
169. Verweij, J., *et al.* A phase II study of epidoxorubicin in colorectal cancer and the use of cyclosporin-A in an attempt to reverse multidrug resistance. *Br J Cancer* **64**, 361-364 (1991).
170. Twentyman, P.R. & Bleehen, N.M. Resistance modification by PSC-833, a novel non-immunosuppressive cyclosporin [corrected]. *Eur J Cancer* **27**, 1639-1642 (1991).
171. Baer, M.R., *et al.* Phase 3 study of the multidrug resistance modulator PSC-833 in previously untreated patients 60 years of age and older with acute myeloid leukemia: Cancer and Leukemia Group B Study 9720. *Blood* **100**, 1224-1232 (2002).
172. Friedenberg, W.R., *et al.* Phase III study of PSC-833 (valspodar) in combination with vincristine, doxorubicin, and dexamethasone (valspodar/VAD) versus VAD alone in patients with recurring or refractory multiple myeloma (E1A95): a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Cancer* **106**, 830-838 (2006).
173. Engels, F.K., *et al.* Effect of cytochrome P450 3A4 inhibition on the pharmacokinetics of docetaxel. *Clin Pharmacol Ther* **75**, 448-454 (2004).
174. Fox, E. & Bates, S.E. Tariquidar (XR9576): a P-glycoprotein drug efflux pump inhibitor. *Expert Rev Anticancer Ther* **7**, 447-459 (2007).
175. Rabindran, S.K., Ross, D.D., Doyle, L.A., Yang, W. & Greenberger, L.M. Fumitremorgin C reverses multidrug resistance in cells transfected with the breast cancer resistance protein. *Cancer Res* **60**, 47-50 (2000).
176. Allen, J.D., *et al.* Potent and specific inhibition of the breast cancer resistance protein multidrug transporter in vitro and in mouse intestine by a novel analogue of fumitremorgin C. *Mol Cancer Ther* **1**, 417-425 (2002).
177. Gekeler, V., Ise, W., Sanders, K.H., Ulrich, W.R. & Beck, J. The leukotriene LTD4 receptor antagonist MK571 specifically modulates MRP associated multidrug resistance. *Biochem Biophys Res Commun* **208**, 345-352 (1995).
178. Kathawala, R.J., Gupta, P., Ashby, C.R., Jr. & Chen, Z.S. The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer: a review of the past decade. *Drug Resist Updat* **18**, 1-17 (2015).
179. Wang, Y.J., Zhang, Y.K., Kathawala, R.J. & Chen, Z.S. Repositioning of Tyrosine Kinase Inhibitors as Antagonists of ATP-Binding Cassette Transporters in Anticancer Drug Resistance. *Cancers (Basel)* **6**, 1925-1952 (2014).

180. Wu, S. & Fu, L. Tyrosine kinase inhibitors enhanced the efficacy of conventional chemotherapeutic agent in multidrug resistant cancer cells. *Mol Cancer* **17**, 25 (2018).
181. Pichler, A., Zelcer, N., Prior, J.L., Kuil, A.J. & Piwnica-Worms, D. In vivo RNA interference-mediated ablation of MDR1 P-glycoprotein. *Clin Cancer Res* **11**, 4487-4494 (2005).
182. Xu, D., Kang, H., Fisher, M. & Juliano, R.L. Strategies for inhibition of MDR1 gene expression. *Mol Pharmacol* **66**, 268-275 (2004).
183. Xu, D., Ye, D., Fisher, M. & Juliano, R.L. Selective inhibition of P-glycoprotein expression in multidrug-resistant tumor cells by a designed transcriptional regulator. *J Pharmacol Exp Ther* **302**, 963-971 (2002).
184. Perego, P., *et al.* A novel 7-modified camptothecin analog overcomes breast cancer resistance protein-associated resistance in a mitoxantrone-selected colon carcinoma cell line. *Cancer Res* **61**, 6034-6037 (2001).
185. Zhao, S.F., Wang, S.G., Zhao, Z.Y. & Li, W.L. AKR1C1-3, notably AKR1C3, are distinct biomarkers for liver cancer diagnosis and prognosis: Database mining in malignancies. *Oncol Lett* **18**, 4515-4522 (2019).
186. Chou, T.C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev* **58**, 621-681 (2006).
187. Eggersmann, T.K., Degenhardt, T., Gluz, O., Wuerstlein, R. & Harbeck, N. CDK4/6 Inhibitors Expand the Therapeutic Options in Breast Cancer: Palbociclib, Ribociclib and Abemaciclib. *BioDrugs* **33**, 125-135 (2019).
188. Dong, X., *et al.* Emodin: A Review of its Pharmacology, Toxicity and Pharmacokinetics. *Phytother Res* **30**, 1207-1218 (2016).
189. Park, H.J., *et al.* The PARP inhibitor olaparib potentiates the effect of the DNA damaging agent doxorubicin in osteosarcoma. *J Exp Clin Cancer Res* **37**, 107 (2018).
190. Eetezadi, S., *et al.* Ratio-Dependent Synergism of a Doxorubicin and Olaparib Combination in 2D and Spheroid Models of Ovarian Cancer. *Mol Pharm* **15**, 472-485 (2018).
191. Del Conte, G., *et al.* Phase I study of olaparib in combination with liposomal doxorubicin in patients with advanced solid tumours. *Br J Cancer* **111**, 651-659 (2014).

6. Soubor publikovaných prací

P1. **Hofman J.**, Ahmadimoghaddam D., Hahnova L., Pavek P., Ceckova M., Staud F.: Olomoucine II and purvalanol A inhibit ABCG2 transporter *in vitro* and *in situ* and synergistically potentiate cytostatic effect of mitoxantrone. *Pharmacol Res* 2012; 65 (3): 312 – 9

P2. **Hofman J.**, Kučera R., Cihalova D., Klimes J., Ceckova M., Staud F.: Olomoucine II, but Not Purvalanol A, Is Transported by Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2) and P-glycoprotein (ABCB1). PLoS One 2013; 8 (10): e75520

P3. Cihalova D., **Hofman J.**, Ceckova M., Staud F.: Purvalanol A, olomoucine II and roscovitine inhibit ABCB1 transporter and synergistically potentiate cytotoxic effects of daunorubicin in vitro. PLoS One 2013; 8 (12): e83467

P4. **Hofman J.**, Malcekova B., Skarka A., Novotna E., Wsol V.: Anthracycline resistance mediated by reductive metabolism in cancer cells: the role of aldo-keto reductase 1C3. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014; 278 (3): 238 - 48

P5. Skarydova L., **Hofman J.**, Chlebek J., Havrankova J., Kosanova K., Skarka A., Hostalkova A., Plucha T., Cahlikova L., Wsol V.: Isoquinoline alkaloids as a novel type of AKR1C3 inhibitors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 143: 250 – 8

P6. **Hofman J.**, Skarka A., Havrankova J., Wsol V.: Pharmacokinetic interactions of breast cancer chemotherapeutics with human doxorubicin reductases. *Biochem Pharmacol* 2015; 96 (3): 168 - 78

P7. Zemanova L., **Hofman J.**, Novotna E., Musilek K., Lundova T., Havrankova J., Hostalkova A., Chlebek J., Cahlikova L., Wsol V.: Flavones Inhibit the Activity of AKR1B10, a Promising Therapeutic Target for Cancer Treatment. J Nat Prod 2015; 78 (11): 2666 - 74

P8. **Hofman J.**, Kučera R., Neumanova Z., Klimes J., Ceckova M., Staud F.: Placental passage of olomoucine II, but not purvalanol A, is affected by p-glycoprotein (ABCB1), breast cancer resistance protein (ABCG2) and multidrug resistance-associated proteins (ABCCs). *Xenobiotica* 2016; 46(5): 416-23

P9. Hintzpeter J., Seliger J.M., **Hofman J.**, Martin H.J., Wsol V., Maser E.: Inhibition of human anthracycline reductases by emodin - a possible remedy for anthracycline resistance. *Toxicol Appl Pharmacol* 2016; 293: 21-9

P10. Siroka J., Ceckova M., Urbanek L., Krystof V., Gucky T., **Hofman J.**, Strnad M., Staud F.: LC-MS/MS method for determination of cyclin-dependent kinase inhibitors, BP-14 and BP-20, and its application in pharmacokinetic study in rat. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2018; 1089: 24-32

P11. Sorf A., **Hofman J.**, Kucera R., Staud F., Ceckova M.: Ribociclib shows potential for pharmacokinetic drug-drug interactions being a substrate of ABCB1 and potent inhibitor of ABCB1, ABCG2 and CYP450 isoforms in vitro. *Biochem Pharmacol* 2018; 154: 10-7

P12. Novotna E., Büküm N., **Hofman J.**, Flaxova M., Kouklikova E., Louvarova D., Wsol V.: Aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3): a missing piece of the puzzle in the dinaciclib interaction profile. Arch Toxicol 2018; 92: 2845-2857

P13. Novotna E., Büküm N., **Hofman J.**, Flaxova M., Kouklikova E., Louvarova D., Wsol V.: Roscovitine and purvalanol A effectively reverse anthracycline resistance mediated by the activity of aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3). *Biochem Pharmacol* 2018; 156: 22-31

P14. Büküm N., Novotna E., Morell A., **Hofman J.**, Wsol V.: Buparlisib is a novel inhibitor of daunorubicin reduction mediated by aldo-keto reductase 1C3. *Chem Biol Interact* 2019; 302: 101-7

P15. Sorf A., Novotna E., **Hofman J.**, Morell A., Staud F., Wsol V., Ceckova M.: Cyclin-dependent kinase inhibitors AZD5438 and R547 show potential for enhancing efficacy of daunorubicin-based anticancer therapy: Interaction with carbonyl-reducing enzymes and ABC transporters. *Biochem Pharmacol* 2019; 163: 290-8

P16. **Hofman J.**, Sorf A., Vagiannis D., Sucha S., Novotna E., Kammerer S., Küpper J-H., Ceckova M., Staud F.: Interactions of Alectinib with Human ATP-Binding Cassette Drug Efflux Transporters and Cytochrome P450 Biotransformation Enzymes: Effect on Pharmacokinetic Multidrug Resistance. *Drug Metab Dispos* 2019; 47(7): 699-709

P17. **Hofman J.**, Sorf A., Vagiannis D., Sucha S., Kammerer S., Küpper J-H., Chen S., Guo L., Ceckova M., Staud F.: Brivanib Exhibits Potential for Pharmacokinetic Drug-Drug Interactions and the Modulation of Multidrug Resistance through the Inhibition of Human ABCG2 Drug Efflux Transporter and CYP450 Biotransformation Enzymes. *Mol Pharmaceut* 2019; 16(11): 4436-4450

P18. Vagiannis D., Novotna E., Skarka A., Kammerer S., Küpper J-H., Chen S., Guo L., Staud F., **Hofman J.**: Ensartinib (X-396) Effectively Modulates Pharmacokinetic Resistance Mediated by ABCB1 and ABCG2 Drug Efflux Transporters and CYP3A4 Biotransformation Enzyme. *Cancers* 2020; 12(4): E813

P19. Vagiannis D., Zhang Y., Novotna E., Morell A., **Hofman J.**: Entrectinib reverses cytostatic resistance through the inhibition of ABCB1 efflux transporter, but not the CYP3A4 drug-metabolizing enzyme. *Biochem Pharmacol* 2020; 178: 114061

P20. Novotna E., Morell A., Büküm N., **Hofman J.**, Danielisová P., Wsól V.: Interactions of antileukemic drugs with daunorubicin reductases: could reductases affect the clinical efficacy of daunorubicin chemoregimens?. Arch Toxicol 2020; 94: 3059-3068

P21. Tavares T. S., **Hofman J.**, Lekešová A., Želazková J., Wsól V.: Olaparib Synergizes the Anticancer Activity of Daunorubicin via Interaction with AKR1C3. *Cancers* 2020; 12(11): 3127

Práce v oponentním řízení (Doplněk 1)

PD1. **Hofman J.**, Vagiannis D., Chen S., Guo L.: The role of CYP3A4, CYP3A5 and CYP2C8 drug-metabolizing enzymes in the pharmacokinetic cytostatic resistance. Chem Biol Interact, submitováno