

ONKOGENNÍ KINASA Bcr-Abl A JEJÍ REZISTENCE K POUŽÍVANÝM INHIBITORŮM

VLADIMÍR KRYŠTOF

Laboratoř růstových regulátorů, Přírodovědecká fakulta
Univerzity Palackého v Olomouci & Ústav experimentální
botaniky AV ČR v.v.i., Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
vladimir.krystof@upol.cz

Došlo 13.2.08, přijato 15.4.08.

Klíčová slova: imatinib, inhibitor, chronická myeloidní
leukemie, kinasa, rakovina

Obsah

1. Úvod
2. Klasická chemoterapie
3. Onkogeny a moderní chemoterapie
4. Oranžová pilulka proti leukemii
 - 4.1. Chronická myeloidní leukemie
 - 4.2. Vývoj imatinibu a mechanismus jeho účinku
 - 4.3. Klinická rezistence vůči imatinibu
5. Druhá generace inhibitorů
6. Závěr

1. Úvod

Vývoj nových terapeutických postupů pro léčbu rakoviny je dnes znatelně urychlován studiem molekulární podstaty vzniku nádorů. Brzy po objevu nové vlastnosti nebo funkce určitého proteinu charakteristické pro nádorovou buňku následuje navržení možného využití v terapii. Moderní terapeutické postupy velmi často zasahují specifické signální či metabolické dráhy nádorových buněk a ovlivňují tím růst nádoru a jeho expanzi. Postihují přitom právě rozdíly mezi normální a nádorovou (transformovanou) buňkou, a tím snižují eventuální vedlejší účinky léčby.

2. Klasická chemoterapie

Až do začátku 80. let byl vývoj protinádorově aktivních látek směřován téměř výhradně k nukleovým kyselinám a buněčnému dělení. Ve své době to byly nejlépe prostudované a tedy i postžitelné cíle v nádorové buňce. Bohužel nejen v nádorové. Navzdory jednoznačné terapeutické účinnosti dodnes používaných antimetabolitů, alkylačních činidel a mikrotubulárních jedů, představuje klasická chemoterapie obrovskou zátěž pro celý organismus.

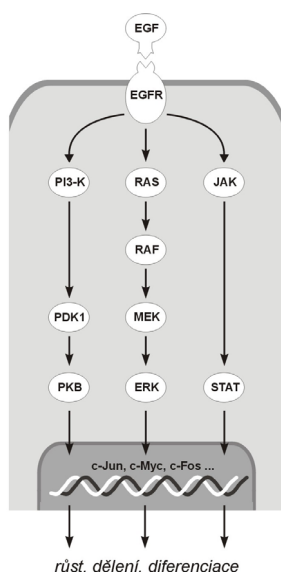
Vysoká toxicita a nízká selektivita způsobují nepříjemné vedlejší účinky. Po počáteční stabilizaci nebo i regresi nádoru často dochází ke vzniku chemorezistence. Naproti tomu molekulární onkologie pomohla v posledních dvaceti letech identifikovat velkou skupinu potenciálních cílů nových protinádorově aktivních látek zejména mezi onkogeny a stimulovala vývoj specifických preparátů, z nichž některé jsou již uvedeny do klinické praxe.

3. Onkogeny a moderní chemoterapie

Mezi onkogeny patří mnoho genů, jejichž produkty jsou za normálních podmínek zapojeny do přenosu růstových signálů z extracelulárního prostředí k jaderné DNA, kde dochází k aktivaci genů nezbytných pro růst a dělení buněk^{1,2}. Růstové signály jsou přenášeny z receptorů s proteinkinaseovou aktivitou fosforylačními kaskádami až do jádra, kde dochází k aktivaci specifických transkripčních faktorů (obr. 1). Jejich funkčnost opět často závisí na posttranslačních modifikacích včetně fosforylací. Transformující mutace, které z neškodných protoonkogenů vytvářejí onkogeny, mimikují v buňce na některé z mnoha úrovní přenosu signálu permanentní stimulaci k dělení². Výsledkem je nekontrolované množení transformované buněčné populace a růst nádoru.

Proteinkinasy představují dnes jednu z nejatraktivnějších enzymových skupin jako cílů moderní protinádorové chemoterapie, což dokládají výzkumná zaměření většiny farmaceutických firem produkujících nová léčiva. Vývoj specifických inhibitorů proteinkinase, které by se daly využít terapeuticky, byl však ještě začátkem 90. let považován za poněkud riskantní podnik. Za největší překážku vývoje a použití inhibitorů zaměřených proti aktivnímu místu byla pokládána vysoká koncentrace ATP v buňkách, s níž by případné inhibitory musely soutěžit. Tento argument však neobstál, když bylo prokázáno výrazné potlačení aktivity určitých kinase specifickými inhibitory i v buňkách. Značný problém představovala též podobnost aktivního místa enzymů využívajících ATP, který není pouhým zdrojem fosfátu, ale účastní se i celé řady biochemických reakcí jako všudypřítomný energetický zásobník. Vazebná místa enzymů využívajících ATP, a proteinkinase obzvláště, totiž vykazují vysoký stupeň podobnosti, což znesnadňuje vývoj inhibitorů specifických pro daný enzym.

Přes uvedené překážky již známe stovky více či méně specifických inhibitorů mnoha proteinkinase, které souvisejí s lidskými nemocemi³. Jejich design a optimalizaci podstatně usnadnily dostupné trojrozměrné struktury řady proteinkinase, získané rentgenostrukturní analýzou, často s ATP nebo inhibitorem lokalizovaným v aktivním místě enzymu. Další vývoj inhibitorů cílených proti určité pro-



Obr. 1. Schéma mitogenní signalizace iniciované vazbou růstového faktoru na příslušný membránově vázaný receptor. Prostřednictvím kaskád přenašečů signálu na bázi proteinkinasy dochází k aktivaci transkripčních faktorů a následně transkripci genů nutných k proliferaci. V podstatě každý z uvedených proteinů může být v buňce (mutací) hyperaktivován a přispívat tak k její transformaci v buňku nádorovou. EGF, epidermal growth factor; EGFR, epidermal growth factor receptor; PI3-K, phosphatidylinositol 3-kinase; PDK1, phosphoinositide-dependent kinase-1; PKB, protein kinase B; RAS, rat sarcoma virus oncogene homolog; RAF, murine leukemia viral oncogene homolog; MEK, mitogen activated kinase; ERK, extracellular signal-regulated kinase; JAK, Janus kinase; STAT, signal transducer and activator of transcription; c-Jun, avian sarcoma virus oncogene homolog; c-Myc, myelocytomatosis oncogene; c-Fos, murine osteosarcoma viral oncogene homolog

teinkinase v současnosti rovněž usnadňuje znalost lidského genomu. Na základě sekvenčních podobností bylo možné charakterizovat a klasifikovat lidský „kinom“, kompletní rodinu genů kódujících proteinkinasy⁴. Těch je v našem genomu obsaženo 518, přičemž více než dvě třetiny z nich vykazují anomálie ve spojení s některými lidskými nemocemi včetně rakoviny⁵. Přesto se jako léčiva uplatňují inhibitory pouze několika málo z nich, neboť síť jejich vzájemných interakcí je skutečně komplikovaná a zdaleka ne úplně popsaná.

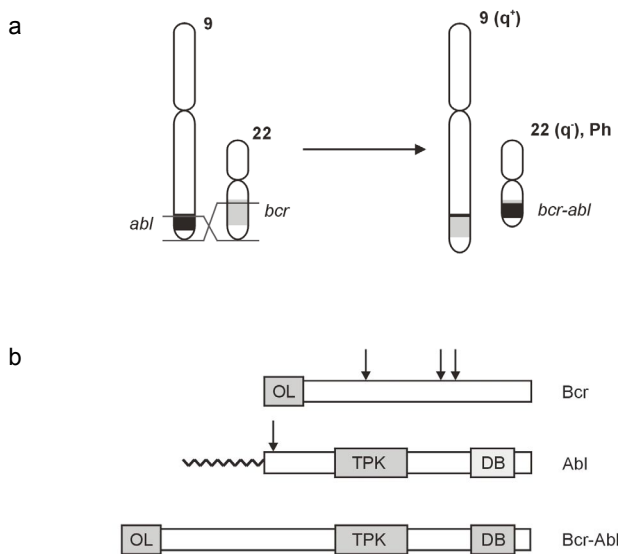
Aktivita proteinkinasy může být prakticky modulovatelná několika různými způsoby, zahrnujícími přímou inhibici enzymové aktivity, narušování interakcí s vazebnými proteiny, případně přímé potlačení exprese dané proteinkinasy. Jednoznačně nejčastěji volenou strategií jsou nízkomolekulární kompetitivní inhibitory, o čemž svědčí stovky odborných publikací věnovaných jejich vývoji, případně již popisujících výsledky klinického testování. Výrazně tak převažují nad nekompetitivními inhibitory, monoklonálními protilátkami anebo protisměrnými oligonukleotidy či inhibiční RNA.

4. Oranžová pilulka proti leukemii

Vůbec prvním registrovaným léčivem na bázi inhibitoru proteinkinasy se stal imatinib, s obchodním označením GlivecTM (cit.⁶). Od roku 2001 je v USA používán při terapii chronické myeloidní leukemie (CML), která se vyznačuje přítomností vysoce aktivní tyrosinové kinasy Bcr-Abl. Imatinib blokuje její katalytickou aktivitu kompeticí s ATP.

4.1. Chronická myeloidní leukemie

Onkogen *BCR-ABL*, charakteristický pro chronickou myeloidní leukemii a některé formy akutní lymfoblastické leukemie, vzniká reciprokou translokací mezi chromosomy 9 a 22. Jedná se v podstatě o vzájemnou výměnu ramének dvou chromosomů, která ve svém důsledku fúzuje gen *Bcr* s genem *Abl* v oblasti odpovídající *N*-terminální části *Abl* tyrosinové kinasy (obr. 2). Tento onkogen je lokalizován na zkráceném chromosomu 22q⁻, označovaném také jako chromosom Philadelphia, a transkripční onkogen *BCR-ABL* vzniká konstitutivně aktivovaná kinasa^{7,8}. Fúzní protein Bcr-Abl má sice zachovanou svou katalytickou funkci, ale chybí mu ona *N*-terminální doména důležitá pro regulaci; místo ní obsahuje část proteinu Bcr. Gen *Bcr* je normálně transkribován docela silně, čímž podstatně zvyšuje koncentraci celého onkoproteinu Bcr-Abl. Navíc pod-



Obr. 2. Mechanismus vzniku onkogeny *BCR-ABL* chromosomální translokací (a) a struktura proteinů Bcr, Abl a fúzního onkoproteinu Bcr-Abl (b) s některými důležitými doménami (OL, oligomerizační doména; TPK, doména tyrosinové proteinkinasy; DB, DNA vazebná doména). Šipky znázorňují přibližnou polohu známých míst zlomů v obou genech, přičemž pozice zlomu genu *BCR* určuje velikost výsledného onkoproteinu Bcr-Abl (190-230 kDa). Myristoylace C-konce proteinu Abl, důležitá pro jeho regulaci, fúzi zaniká

poruje oligomerizaci Bcr-Abl a tím i aktivaci autofosforylací; podjednotky v oligomeru si navzájem fosforylují své aktivační domény a tím o několik řádů vzrůstá jejich katalytická aktivita. Hyperaktivovaná Bcr-Abl pak bez jakékoli kontroly přebírá funkci normální Abl a překotně fosforyluje její substráty, proteiny zapojené do signálních drah pro růst a přežívání (např. kinasy Raf, PKB, PI3-K, transkripční faktory c-Myc, Stat atd.). Takto transformované buňky ztrácejí schopnost vzájemné adheze, jsou vyplavovány z kostní dřeně, zvyšují svůj proliferační potenciál a navíc snižují citlivost na apoptotické podněty (např. při konvenční chemoterapii)⁶.

4.2. Vývoj imatinibu a mechanismus jeho účinku

Vzhledem k funkci Bcr-Abl při vzniku a vývoji CML představuje katalytická doména této kinasy jedinečný terapeutický cíl. Screening sloučenin schopných blokovat její aktivitu vedl k identifikaci řady inhibitorů jako potenciálních kandidátů pro farmakologické využití. Výchozím bodem ve vývoji imatinibu se stal 2-fenylaminopyrimidin, poměrně slabý inhibitor proteinkinasy C se snadno modifikovatelnou molekulou. Důkladné studium vlivu modifikací této molekuly na její inhibiční schopnosti pak vedlo k syntéze molekuly výrazně účinnější a selektivnější k Bcr-Abl: připojení pyridylu zvýšilo buněčnou aktivitu, amidická skupina zesílila interakci s tyrosinovými kinasami a následně vnesení methylu pak omezilo nežádoucí vliv na proteinkinasu C. Připojení dalšího postranního řetězce na bázi *N*-methylpiperazinu nakonec zlepšilo rozpustnost a zároveň orální dostupnost finální podoby imatinibu⁹.

Rentgenostrukturní analýza společného krystalu Abl kinasy s imatinibem posléze potvrdila, že vazebním místem pro inhibitor je právě aktivní místo poutající ATP (cit.¹⁰). Toto vazebné místo se nachází ve štěrbině mezi *C*-terminální a *N*-terminální doménou Abl, podobně jako je tomu u řady dalších proteinkinas. Imatinib navíc s vyšší afinitou interaguje s neaktivní formou kinasy a svou vazbou ji v této formě stabilizuje¹⁰. Jak však může stabilizovat neaktivní konformaci Abl, která je přitom konstitutivně aktivována fúzí s Bcr proteinem? Pravděpodobně vysvětlení spočívá v dynamice procesu aktivující fosforylace – buněčné fosfatasy totiž permanentně defosforylují a inaktivují Bcr-Abl, která se ale účinně brání opakovanou autofosforylací. Jakmile je však aktivační smyčka defosforylována, imatinib může vstoupit do vazebného místa a stabilizovat tuto konformaci. Konformace neaktivní Bcr-Abl je v kinomu poněkud neobvyklá, což opět přispívá ke specifitě inhibitoru¹¹.

Důležitou vlastností imatinibu je jeho selektivita; inhibitor až na výjimky neovlivňuje aktivitu žádných dalších proteinkinas^{6,12}. Na buněčné úrovni se projevuje anti-proliferační potenciál výhradně na buněčných liniích s aktivním onkogenem *BCR-ABL*, a na jiné buňky vliv prakticky nemá⁶. Signální dráhy ovládané onkogenní kinasou Bcr-Abl v těchto buňkách zůstávají po působení imati-

nibu zablokovány, a tudíž např. nefosforylovaný aktivátor transkripce Stat5, který patří mezi substráty Bcr-Abl, zůstává neaktivní, není schopen vyvolat expresi antiapoptického genu *Bcl-X_L* a buňky umírají. Původní Abl kinasa, od níž je onkogenní Bcr-Abl odvozena, sice má svou fyziologickou funkci, ale její inhibice v normálních buňkách nepředstavuje pro organismus výraznější problém, neboť ji mohou zastoupit jiné enzymy. A tím nemůže způsobovat nežádoucí vedlejší účinky v normálních buňkách.

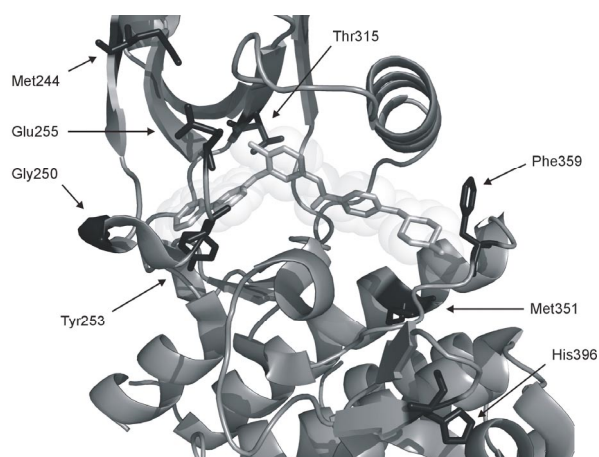
Pozdější důkladné biochemické experimenty však přece jen prokázaly schopnost imatinibu interagovat s některými ze strukturně příbuzných kinas, a to např. s receptorem pro růstový faktor uvolňovaný trombocyty (PDGFR) a Kit¹³. Buď jedna nebo druhá z těchto kinas bývá mutací hyperaktivována v některých gastrointestinálních nádorech, a tak je dnes imatinib používán také při terapii nádorů, jež se uvedenou mutací vyznačují, a konvenční chemoterapii bývají obtížně léčitelné^{14,15}.

4.3. Klinická rezistence vůči imatinibu

Již během první fáze klinických zkoušek bylo zjištěno, že část pacientů na terapii imatinibem zprvu dobře odpovídá, ale nedostaví se u nich kompletní vyléčení. Po několika měsících CML recidivuje a dokonce přestává odpovídat na imatinib. Dochází u nich ke vzniku rezistentní populace myeloidních buněk. Překvapením však byla povaha snížené citlivosti *BCR-ABL* pozitivních buněk na imatinib. Kromě běžných mechanismů rezistence transformovaných buněk na chemoterapeutika (např. zesílený transport inhibitoru ven z buněk pomocí P-glykoproteinů či jeho inaktivace vazbou na proteiny) je často u pacientů s rezistencí pozorována amplifikace onkogenu *BCR-ABL* (cit.^{16,17}). Buňky s touto amplifikací syntetizují větší množství Bcr-Abl, na což už terapeuticky používané dávky imatinibu nestačí.

Nejčastější a poměrně překvapivou informací však byla identifikace bodových mutací Bcr-Abl, které brání vstupu imatinibu do vazebného místa, a přitom zachovávají afinitu k ATP a enzymovou aktivitu. Vůbec první popsaná mutace spočívá v záměně threoninu 315, který interaguje vodíkovým můstkem s aminoskupinou inhibitoru, za objemnější a nepolární isoleucin, jenž můstek s inhibitorem netvoří a navíc mu v aktivním místě překáží¹⁷. Thr315 leží hluboko v aktivním místě, až na okraji oblasti interagující s ATP, takže jeho vazbu vůbec neovlivňuje. Dnes známe již přes 50 dalších aminokyselinových záměn v rezistentních formách Bcr-Abl, z nichž většina se kupodivu nachází mimo aktivní místo. Tyto obvykle zesilují schopnost autofosforylační aktivity anebo přímo stabilizují aktivní konformaci Bcr-Abl, která vazbu imatinibu vylučuje¹⁸. Mnoho popsaných bodových mutací je ovšem poměrně vzácných, a tak 60–70 % všech případů připadá na rezidua Gly250, Tyr253, Glu255, Thr315, Met351 a Phe359 (obr. 3).

Nakolik se ale sám imatinib podílí na vzniku bodových mutací, není zatím zřejmé, přestože byl popsán vliv Bcr-Abl na zvýšení genetické nestability (podpora produk-



Obr. 3. Detail struktury aktivního místa kinasy Abl v komplexu s imatinibem. Zvýrazněny jsou některé aminokyseliny, jejichž mutace způsobují k imatinibu rezistenci

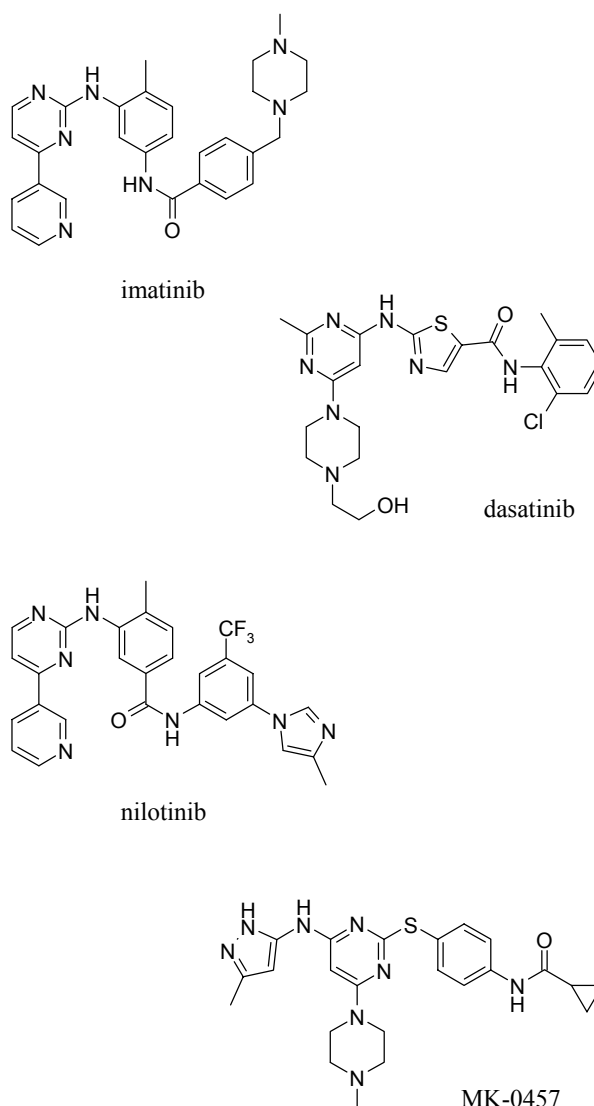
ce reaktivních forem kyslíku, inaktivace mechanismů opravujících poškození DNA), která vede k četnějším mutacím v celém genomu nádorové buňky¹⁹. Buněčné populace s některými bodovými mutacemi Bcr-Abl byly totiž nalezeny i u neléčených pacientů, u nichž většinou propukají agresivnější formy CML. Působením imatinibu v organismu pak zřejmě dochází k selekci a expanzi buněčného klonu s některou z uvedených forem rezistence (anebo jejich kombinací) a ke zhoršení prognózy pacienta²⁰.

5. Druhá generace inhibitorů

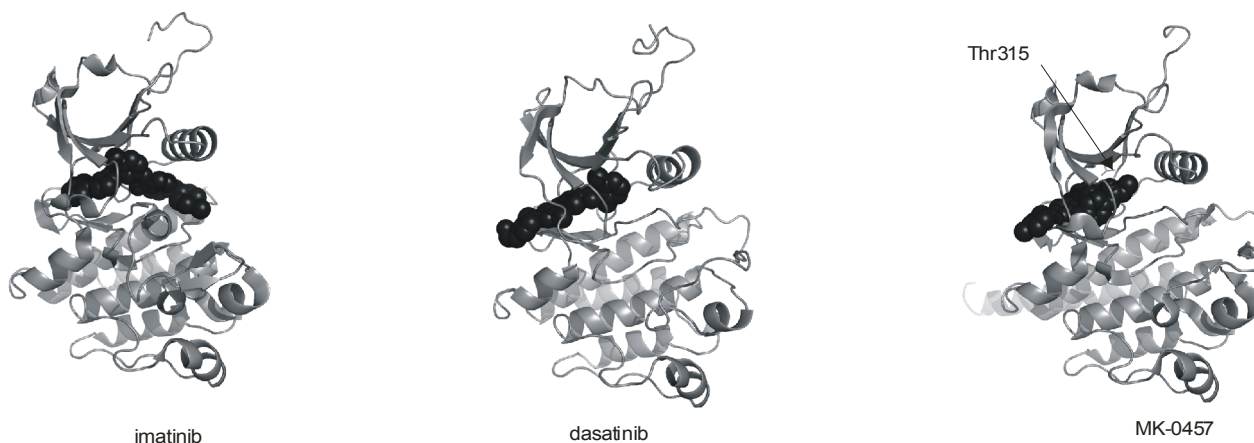
Poměrně podrobná znalost struktury a funkce onkogenní Bcr-Abl podnítila vývoj alternativních inhibitorů, které by byly schopny blokovat také mutantní formy necitlivé k imatinibu. Úsilí biochemiků, strukturních biologů a medicánálních chemiků vyvrcholilo poměrně brzy úspěšným vývojem několika typů druhé generace specifických farmak (obr. 4), která jsou několikanásobně účinnější než původní imatinib a interagují s řadou mutantních forem Bcr-Abl (cit.¹⁸). U pacientů s agresivnější formou CML, kteří neodpovídají na léčbu imatinibem, se tak dnes nasazuje dasatinib, jenž byl v USA i v Evropě schválen v roce 2006. Protože se jedná o cca 300× účinnější inhibitor než imatinib, a je schopen také účinně deaktivovat některé mutantní formy Bcr-Abl, používá se pro léčbu CML u pacientů s rezistencí k imatinibu. Dasatinib interaguje také s dalšími kinasami (např. Kit, PDGFR a celé skupině Src kinas), což je pravděpodobně dáno tím, že se na rozdíl od imatinibu váže do aktivní formy Bcr-Abl, která se mnohem více podobá ostatním kinasám. Jeho nižší selektivita je pro terapeutický efekt dokonce výhodná, neboť kromě přímé inhibice Bcr-Abl dasatinib také blokuje aktivitu Src kinas, které bývají v leukemických buňkách aktivovány fosforylací Bcr-Abl. Ovšem ani tento inhibitor není scho-

pen interakce s nejčastějším mutantem Bcr-Abl nesoucí Thr315Ile (cit.¹²).

Preklinické a klinické zkoušení dalších inhibitorů proto stále probíhá^{18,21}. Za zmínku stojí např. nilotinib, který je sice jen 30× efektivnější než imatinib, vyznačuje se však podstatně vyšší selektivitou, a proto i mnohem mírnějšími vedlejšími účinky^{12,18}. Zřejmě nejzajímavějším preparátem se v současnosti jeví látka MK-0457 (dříve označovaná jako VX-680), která byla původně vyvinuta jako inhibitor zcela jiné proteinkiny – aurory A¹⁸. Teprve během pozdějších biochemických testů byla objevena schopnost MK-0457 inaktivovat také Bcr-Abl, a to překvapivě i v klinicky nejvýznamnějších mutantních podobě



Obr. 4. Strukturální vzorce inhibitorů onkogenní kinasy Bcr-Abl. Imatinib, dasatinib a nilotinib jsou již jako léčiva používány, MK-0457 se zatím podrobuje klinickým zkouškám



Obr. 5. Struktury komplexů kinasové domény Abl s farmakologicky významnými inhibitory. Zvýrazněn je Thr315, který s MK-0457 vůbec neinteraguje a jeho mutace nijak inhibitor neomezuje

s Thr315Ile (cit.²²). Tento účinek je způsoben tím, že se MK-0457 v aktivním místě domény Abl vyhýbá právě interakci s reziduem 315 (obr. 5, cit.^{23,24}). Přestože patří tato látka evidentně k těm méně selektivním, anebo možná právě proto, je schopna účinně likvidovat leukemické buňky s indukovanou rezistencí k imatinibu a dasatinibu jak v kulturách *in vitro*, tak ve zvířecích modelech.

6. Závěr

Zavedení imatinibu jako léčiva je považováno za milník nejen v terapii CML, ale v protinádorové chemoterapii vůbec. Jeho komerční úspěšnost totiž vyvolala obrovskou vlnu zájmu o farmakologické inhibitory dalších proteinkinas. Svou podstatou je ovšem CML mezi ostatními nádorovými onemocněními poněkud výjimečná, neboť za její vznik a rozvoj zodpovídá pouze jeden onkogen, který se navíc v žádných dalších buňkách organismu nevyskytuje. Představuje proto ideální cíl pro chemoterapeutickou intervenci. Relativně snadné vyšetření přítomnosti chromosomu Philadelphia v leukemických buňkách navíc jednoznačně předurčuje pacienta ke specifické terapii imatinibem.

Které ze stovek dalších proteinkinas či jiných onkoproteinů a jak bude třeba inaktivovat v určitém nádoru pro úspěšnou terapii, je v současnosti předmětem intenzivního výzkumu. Kromě imatinibu a dasatinibu bylo začátkem roku 2008 v klinické praxi již sedm dalších léčiv na bázi inhibitorů proteinkinas a odhaduje se, že v pokročilých fázích klinického zkoušení jsou dnes desítky dalších, což snad poskytuje jistou míru optimismu do budoucnosti. Nicméně zavedení diagnostických metod, které umožní identifikovat aktivní onkogeny vhodné jako terapeutické cíle individuálně u každého pacienta, představuje úkol stejně důležitý (a naprosto nezbytný) jako dostupnost specifického léku.

Autor je podporován výzkumným záměrem MSM 6198959216.

LITERATURA

1. Shaul Y. D., Seger R.: *Biochim. Biophys. Acta* 1773, 1213 (2007).
2. McCubrey J. A., Steelman L. S., Chappell W. H., Abrams S. L., Wong E. W., Chang F., Lehmann B., Terrian D. M., Milella M., Tafuri A., Stivala F., Libra M., Basecke J., Evangelisti C., Martelli A. M., Franklin R. A.: *Biochim. Biophys. Acta* 1773, 1263 (2007).
3. Fabbro D., Ruetz S., Buchdunger E., Cowan-Jacob S.W., Fendrich G., Liebetanz J., Mestan J., O'Reilly T., Traxler P., Chaudhuri B., Fretz H., Zimmermann J., Meyer T., Caravatti G., Furet P., Manley P. W.: *Pharmacol. Ther.* 93, 79 (2002).
4. Manning G., Whyte D. B., Martinez R., Hunter T., Sudarsanam S.: *Science* 298, 1912 (2002).
5. Greenman C., Stephens P., Smith R., Dalgliesh G. L., Hunter C., Bignell G., Davies H., Teague J., Butler A., Stevens C., Edkins S., O'Meara S., Vastrik I., Schmidt E. E., Avis T., Barthorpe S., Bhamra G., Buck G., Choudhury B., Clements J., Cole J., Dicks E., Forbes S., Gray K., Halliday K., Harrison R., Hills K., Hinton J., Jenkinson A., Jones D., Menzies A., Mironenko T., Perry J., Raine K., Richardson D., Shepherd R., Small A., Tofts C., Varian J., Webb T., West S., Widaa S., Yates A., Cahill D. P., Louis D. N., Goldstraw P., Nicholson A. G., Basseur F., Looijenga J., Weber B. L., Chiew Y. E., DeFazio A., Greaves M. F., Green A. R., Campbell P., Birney E., Easton D. F., Chenevix-Trench G., Tan M. H., Khoo S. K., Teh B. T., Yuen S. T., Leung S. Y., Wooster R., Futreal P. A., Stratton M. R.: *Nature* 446, 153 (2007).
6. Capdeville R., Buchdunger E., Zimmermann J., Mat-

- ter A.: *Nat. Rev. Drug Discov.* 1, 493 (2002).
7. Rowley J. D.: *Nature* 243, 290 (1973).
 8. Kelliher M. A., McLaughlin J., Witte O. N., Rosenberg N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87, 6649 (1990).
 9. Zimmermann J., Buchdunger E., Mett H., Meyer T., Lydon N. B.: *Bioorgan. Med. Chem. Lett.* 7, 187 (1997).
 10. Nagar B., Bornmann W. G., Pellicena P., Schindler T., Veach D. R., Miller W. T., Clarkson B., Kuriyan J.: *Cancer Res.* 62, 4236 (2002).
 11. Noble M. E., Endicott J. A., Johnson L. N.: *Science* 303, 1800 (2004).
 12. O'Hare T., Walters D. K., Stoffregen E. P., Jia T., Manley P. W., Mestan J., Cowan-Jacob S. W., Lee F. Y., Heinrich M. C., Deininger M. W., Druker B. J.: *Cancer Res.* 65, 4500 (2005).
 13. Fabian M. A., Biggs W. H. 3rd, Treiber D. K., Atteridge C. E., Azimioara M. D., Benedetti M. G., Carter T. A., Ciceri P., Edeen P. T., Floyd M., Ford J. M., Galvin M., Gerlach J. L., Grotzfeld R. M., Herrgard S., Insko D. E., Insko M. A., Lai A. G., Lélías J. M., Mehta S. A., Milanov Z. V., Velasco A. M., Wodicka L. M., Patel H. K., Zarrinkar P. P., Lockhart D. J.: *Nat. Biotechnol.* 23, 329 (2005).
 14. Heinrich M. C., Corless C. L., Demetri G. D., Blanke C. D., von Mehren M., Joensuu H., McGreevey L. S., Chen C. J., Van den Abbeele A. D., Druker B. J., Kiese B., Eisenberg B., Roberts P. J., Singer S., Fletcher C. D., Silberman S., Dimitrijevic S., Fletcher J. A.: *J. Clin. Oncol.* 21, 4342 (2003).
 15. Baselga J., Arribas J.: *Nat. Med.* 10, 786 (2004).
 16. le Coutre P., Tassi E., Varella-Garcia M., Barni R., Mologni L., Cabrita G., Marchesi E., Supino R., Gambacorti-Passerini C.: *Blood* 95, 1758 (2000).
 17. Gorre M. E., Mohammed M., Ellwood K., Hsu N., Paquette R., Rao P. N., Sawyers C. L.: *Science* 293, 876 (2001).
 18. Weisberg E., Manley P. W., Cowan-Jacob S. W., Hochhaus A., Griffin J. D.: *Nat. Rev. Cancer* 7, 345 (2007).
 19. Penserga E. T., Skorski T.: *Oncogene* 26, 11 (2007).
 20. Hofmann W. K., Komor M., Wassmann B., Jones L. C., Gschaidmeier H., Hoelzer D., Koeffler H. P., Ottmann O. G.: *Blood* 102, 659 (2003).
 21. Zhou T., Parillon L., Li F., Wang Y., Keats J., Lamore S., Xu Q., Shakespeare W., Dalgarno D., Zhu X.: *Chem. Biol. Drug Des.* 70, 171 (2007).
 22. Carter T. A., Wodicka L. M., Shah N. P., Velasco A. M., Fabian M. A., Treiber D. K., Milanov Z. V., Atteridge C. E., Biggs W. H. 3rd, Edeen P. T., Floyd M., Ford J. M., Grotzfeld R. M., Herrgard S., Insko D. E., Mehta S. A., Patel H. K., Pao W., Sawyers C. L., Varmus H., Zarrinkar P. P., Lockhart D. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 11011 (2005).
 23. Young M. A., Shah N. P., Chao L. H., Seeliger M., Milanov Z. V., Biggs W. H. 3rd, Treiber D. K., Patel H. K., Zarrinkar P. P., Lockhart D. J., Sawyers C. L., Kuriyan J.: *Cancer Res.* 66, 1007 (2006).
 24. Cheetham G. M., Charlton P. A., Golec J. M., Pollard J. R.: *Cancer Lett.* 251, 323 (2007).

V. Kryštof (*Laboratory of Growth Regulators, Palacký University and Institute of Experimental Botany, Academy of Science of the Czech Republic, Olomouc, Czech Republic*): **Oncogenic Kinase Bcr-Abl and Its Resistance to Pharmacological Inhibitors**

The advances in understanding of neoplastic transformation considerably help the design of molecular-targeted therapies. Protein kinases are critical components of cellular signalling pathways and, due to their frequent deregulation in cancer cells, they have become one of the most important targets in drug development. The efficiency of imatinib in the treatment of chronic myeloid leukemia is a strong evidence that kinase inhibitors can be effective drugs, although some patients develop resistance to them. The structure-based design, however, allows synthesis of second-generation drugs, which are able to overcome this resistance. The review focuses on oncogenic Bcr-Abl as an example of a rational target for kinase inhibitors, their development and biochemical properties.