

VYDÁVÁ
ČESKÁ
LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST
J. E. PURKYNĚ

V NAKLADATELSTVÍ
ApS BRNO, SPOL. S R. O.

Redakce:
Masarykův
onkologický ústav
Brno

Žlutý kopec č. 7
656 53 Brno

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:
Bohuslav Havlíček

Tiskne Moravská typografie, a. s.
Brno, Moravské náměstí 13

Vychází 6krát ročně

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Podávání novinových zásilek
povoleno Oblastní správou pošt Brno
čj: P/2-3057/94
ze dne 6. 9. 1994

F 5158 Mič 46-772
ISSN 0862-495 X

INTERNET - vstupní adresa:
<http://www.mou.cz/klinicka.onkologie/onko.htm>

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI A SLOVENSKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALES

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO
REDAKTORA: KOZA IVAN

VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

BEDNAŘÍK OTAKAR
MAYER JIŘÍ
ČOUPEK PETR

SHEARD MICHAEL
KOCÁK IVO
NĚMEC JAROSLAV
ŽALOUĐÍK JAN

REDAKČNÍ RADA

ADAM ZDENĚK, Brno
BABUSÍKOVÁ OLGA, Bratislava
BEDNAŘÍK OTAKAR, Brno
BEŠKA FRANTIŠEK, Ostrava
BILDER JOSEF, Brno
ČOUPEK PETR, Brno
DRBAL JOSEF, Brno
ECKHARDT SANDOR,
Budapešť
FAIT VUK, Brno
CHODOUNSKÝ ZDENĚK,
Praha

JURGA LUDOVIT, Trnava
KALLAY JOZEF, Bratislava
KAUŠITZ JURAJ, Bratislava
KLÁŠTERSKÝ JAN, Brusel
KEENER PAVEL, Praha
KOCÁK IVO, Brno
KOUTECKY JOSEF, Praha

KOVAŘÍK JAN, Brno
KOZA IVAN, Bratislava
LAGINOVÁ VIERA, Bratislava
MAYER JIŘÍ, Brno
MECHL ZDENĚK, Brno
NĚMEC JAROSLAV, Brno
ONRUS DALIBOR, Bratislava
PAČOVSKÝ ZDENĚK, Brno
PLESKO IVAN, Bratislava
PETRUŽELKALUBOŠ, Praha
REJTHAR ALEŠ, Brno
SIRACKÝ JÁN, Bratislava
SPURNÝ VLADIMÍR, Brno
UJHÁZY VILIAM, Bratislava
VORLÍČEK JIŘÍ, Brno
VYZULA ROSTISLAV, Brno
WAGNEROVÁ MARIA, Košice
ŽALOUĐÍK JAN, Brno

OBSAH

Přehled

Vyzula R., Malaska J.

Cirkadiánní rytmy leukocytů a chronomodulační účinek růstového faktoru

G - CSF (granulocyte colony stimulating factor) 3

Pešek M., Lisá M., Tamášová M.

Duplicity zhoubných nádorů u nemocných s plicní rakovinou 7

Lang B. A.

Hormonální systém vitamínu D₃ a onkologie 12

Původní práce

Hochmann J.

Vliv věku na množství estrogenních receptorů v karcinomech prsu 22

Řiháčková P., Mayer J.

Tropisetron v profylaxi nevolnosti a zvracení u pacientů s vysokodávkovanou chemoterapií 27

Informace

Konsenzus přístupu k diagnostice a léčbě dusnosti u nemocných s pokročilým nádorovým onemocněním 30

Konsenzus přístupu k diagnostice a léčbě nevolnosti a zvracení u nemocných s pokročilým nádorovým onemocněním 31

MediClub 11

Věcný a jmenný rejstřík 11. ročníku 31

CONTENTS

Reviews

Vyzula R., Malaska J.

Circadian rhythms of white blood cells and chronomodulatory effect of

granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) 3

Pešek M., Lisá M., Tamášová M.

Duplicity of malignant tumours in lung cancer patients 7

Lang B. A.

Oncology and the vitamin D₃ hormonal system 12

Original papers

Hochmann J.

The effect of age on the breast cancer estrogen receptor level 22

Řiháčková P., Mayer J.

Prophylaxis with tropisetron for nausea and emesis in patients undergoing

high dose chemotherapy 27

Information

Diagnosis and Treatment Consensus of breathlessness in advanced Cancer Patients 30

Diagnosis and Treatment Consensus of Nausea and Vomitus in advanced Cancer Patients 31

MediClub 11

Pragmati and nominal register 11 volume 31

CIRKADIÁNNÍ RYTMY LEUKOCYTŮ A CHRONOMODULAČNÍ ÚČINEK RŮSTOVÉHO FAKTORU G-CSF (GRANULOCYTE COLONY STIMULATING FACTOR)

CIRCADIAN RHYTHMS OF WHITE BLOOD CELLS AND CHRONOMODULATORY EFFECT OF GRANULOCYTE COLONY STIMULATING FACTOR (G-CSF)

R. VYZULA, J. MALASKA

ODDĚLENÍ KLINICKÉ ONKOLOGIE, FN BRNO

Souhrn: Hematopoetický systém se všemi komponentami je charakteristický multifrekvenční časovou strukturou s prominentními rytmy v buněčné proliferaci, buněčné funkci a hodnotami v periferní krvi v různých chronobiologických frekvencích. Cirkulující elementy v periferní krvi prokazují vysoce reprodukovatelné cirkadiánní rytmy. Časové závislosti a rozsah těchto rytmů byly stanoveny u zdravé lidské populace. Předvídat v čase se dá nejen počet buněk, ale i jejich funkce. Cirkadiánní rytmus buněčné proliferace v kostní dřeni může vést k načasování léčby fázově specifickými a nespecifickými látkami za účelem maximalizovat požadovaný účinek a přitom minimalizovat nežádoucí vedlejší účinky na kostní dřeň. Prokázán byl chronomodulační účinek G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor) u myši, který pokud bude potvrzen, může vést ke zlepšení cytotoxického účinku cytostatik stejně jako ke zlepšení stimulace periferních kmenových buněk nutných pro vysokodávkovanou chemoterapii s následnou transplantací těchto buněk. Chronoterapie růstovými faktory by mohla ve svém důsledku vést ke zlepšení situace v onkologii pokud se týká přežívání a kvality života nemocných.

Klíčová slova: chronobiologie - leukocyty - kostní dřeň - leukocytární růstový faktor - chronoterapie

Summary: The hematopoietic system in all its components is characterized by a multifrequency time structure with prominent rhythms in cell proliferation, cell function and appearance in the peripheral blood in different chronobiological frequencies. The circulating elements in the peripheral blood show highly reproducible circadian rhythms. The timing and the extent of these rhythms were established in a clinically healthy human population. Not only the number but also the reactivity of circulating blood cells varies predictably as a function of time. The circadian rhythm of cell proliferation in the bone marrow may allow timed treatment with cell cycle specific and nonspecific agents in an attempt to maximize the desired and to minimize the undesired treatment effects upon the marrow. A chronomodulatory effect of G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor) has also been shown in mice which, if confirmed, might reduce the cytotoxic effect of cytostatic drugs as well as improve the stimulation of peripheral stem cells for high dose chemotherapy regimens followed by transplantation of these cells. Chronotherapy by growth factors might lead to improvement of the situation in oncology - survival and quality of life.

Key words: chronobiology - white blood cells - bone marrow - white blood cells growth factor - chronotherapy

Chronobiologie

Pravděpodobně od samého začátku inteligentního života si lidstvo uvědomuje, že existence každého jednotlivce je ovlivňovaná pravidelně se opakujícími rytmy, pod jejichž vlivem se naše civilizace po stamiliony let vyvíjela. Trvalo však ještě velmi dlouho než se tyto rytmy začaly vědecky studovat a nejen simplictně a mysteriózně zneužívat pro tzv. okultní vědy. Snad nejvíce si uvědomujeme cirkadiánní (rytmus slunečního dne), cirkatrigintální (rytmus lunárního měsíce) a cirkanuální rytmy (roční rytmus), i když zajímavé jsou i méně známé rytmy ultradiánní (kratší než 20 hod.), infradiánní (delší jak 28 hod.) a cirkaseptální (týdenní). Zvláště poslední je zajímavý tím, že dosud neznáme ani nastínění mechanismu jeho vzniku, přesto se týdenní rytmy v našem životě vyskytují - např. rytmus teploty, srdeční akce, acidobazické rovnováhy a leukocytů (8). Zjišťování a vědecké zkoumání takových rytmů se stalo doménou posledního století a zvláště v posledních desetiletích můžeme vidět výrazný rozkvět studia chronobiologie, čímž se dostává tento vědní obor do širšího povědomí lékařů k jejich klinickému využití. Pokroky, kterých bylo dosaženo v chrono-onkologii (např. poznáním rytmu enzymu dihydroypyrimidin reduktázy) vedou k dalšímu zlepšení kvality života onkologických pacientů při podstupování chemoterapeutické léč-

by. Postupně se ukazují zajímavé rytmy i v hematopoetickém systému, jejichž využití se může odrazit v léčbě hematologických malignit. Správné načasování léčby, volba intervalů mezi léčbami, transplantace kostní dřene nebo periferních kmenových buněk, vysokodávkovaná terapie, stimulační terapie a časově závislé podávání růstových faktorů, které by vedly nejen ke zlepšení terapeutického indexu, ale i ekonomizaci léčby, jsou jistě zajímavými oblastmi chronobiologie, jejíž uznání a respektování může přinést užitek pacientovi.

Cílem tohoto krátkého přehledu je zaměřit se na dosavadní znalosti o chronobiologických rytmech části hematopoetického systému, pochopení jejich chování a nastínění dalšího směru využití chronobiologie ke stanovení optimálního účinku leukocytárního růstového faktoru a tím zlepšení terapeutických možností u indikovaných maligních onemocnění.

Cirkadiánní rytmus leukocytů a některých subpopulací v periferní lidské krvi

Rytmickým změnám leukocytů v periferní krvi se sice nevěnovalo mnoho vědců, ale přesto s podivem zjišťujeme, že již v minulém století se objevují první informace o kolísání hladin leukocytů (26). Přesné výsledky této i několika dalších historických zmínek se nepodařilo zjistit, ale i tak zmínka o těch

Tabulka 1

Přehled vývoje znalostí o cirkadiánním chování leukocytů a některých jejich subpopulací v periferní lidské krvi

autor	soubor	akrofáze	nadir	poznámky
Nasse (26) 1850	NA	NA	NA	uvádí kolísání leukocytů, blíže nezjištěno
Türk (38) 1912	NA	NA	časné ranní hodiny	leukocytóza digestivní a po cvičení
Sabin (29) 1925	NA	odpoledne		popisuje hodinové variances leukocytů, blíže nezjištěno
Shaw (31) 1927	NA	1. odpoledne 2. okolo 24.00		blíže nezjištěno
Smith (36) 1929	2	15.00 – 16.00	časné ranní hodiny	každý dobrovolník podstoupil 5 sérií měření
Zirm (44) 1933	34	1. 14.00 2. okolo 24.00	7.00 hod.	
Garrey (14) 1935	NA	1. odpoledne 2. okolo 24.00	časné ranní hodiny	blíže údaje nezjištěny
Haus (17) 1983	150	24.00 20.00 24.00-04.00 06.00 24.00	08.00 08.00 08.00 12.00 18.00	leukocyty neutrofilů lymfocyty B-buňky T-buňky

Poznámka: NA - není k dispozici, akrofáze - maximální vzestup, nadir - maximální pokles.

to snahách je informativní, a proto ji uvádíme v tabulce. Türk v roce 1912 informuje o zjištění rytmických změn v hladinách leukocytů. Popisuje nejnižší hodnoty (nadir) v časných ranních hodinách a zjištěné změny interpretuje jako digestivní leukocytózu nebo leukocytózu po cvičení (38). Podrobnější informace získáváme až v r. 1925 kdy práce prof. Sabina a spol. popisuje odpolední vrchol (akrofázi) v počtu leukocytů, na kterém se převážně podílejí polymorfonukleární neutrofilů (29). Stejně výsledky publikuje Shaw v roce 1927, uvádějící akrofázi v odpoledních a nočních hodinách, převážně způsobenou neutrofilními buňkami (31). V roce 1929 Smith a spol. sledují nejen charakter cirkadiánního rytmu leukocytů, ale i ovlivnění tohoto rytmu určitými fyziologickými pochody (menstruace, digestivní procesy) a různými fyziologickými stavy (mírné cvičení, únava) (36). Z jejich práce vyplývá potvrzení základních informací popsanych dříve (29,31). Zirm a spol. v roce 1933 opět potvrzují Shawovu práci, i když nacházejí méně vyjádřený noční vzestup (44). Tyto výsledky jsou dále potvrzeny o dva roky později Garreyem a spol. (14). Chronobiologickými zákonitostmi hematologických a imunologických parametrů se důkladně zabývala minnesotská skupina chronobiologů pod vedením prof. Halberga. Z jeho laboratoře pochází celá řada vynikajících prací, které shrnul na počátku 80. let Haus a spol. (17). Autoři sledovali u 150 zdravých dobrovolníků cirkadiánní změny leukocytů a zjistili poměrně plynulou sinusovou křivku jejich cirkadiánního výskytu i jednotlivých subpopulací s nadirem leukocytů v 8.00 ráno a akrofázi ve 24.00 hod. Cirkadiánní parametry jejich výsledků jsou uvedeny v tab. č. 1.

Na tomto místě je vhodné se zmínit o průkopnických studiích provedených Dérerem v Bratislavě, v předválečných, ale hlavně v 50. letech. Dérer pozoroval z chronobiologického hlediska několik parametrů, mezi kterými byly i hodnoty periferních leukocytů. U chronické lymfadenózy a myelózy zjištěl v průběhu podávání cytostatické léčby 6denní rytmus v poklesu leukocytů (7,8,11). Stejně výsledky popisuje po radiační, hormonální a pyrogenní zátěži jak u pacientů s myelózou, tak u zdravých dobrovolníků po pyrogenní zátěži (9). Periodické změny v tvorbě a zániku krvinek vysvětluje existencí rytmů v organismu, které jsou funkcí centrálního nervového systému, neurohumorálním mechanismem zvláště hypothalamo-hypofyzární osy. V dalším Dérer popisuje při-

pad periodické idiopatické neutropenie u dítěte, kde nachází 4-, 12- a 24denní periody a slabé periody 6denní. Poukazuje na možnost genetického ovlivnění těchto rytmů (10).

Cirkadiánní rytmy proliferace v kostní dřeni

S rozvojem zájmu o chronobiologii nejrůznějších parametrů se od 60. let začínají objevovat práce, které se nezabývají jen popisem cirkadiánních rytmů leukocytů (neutrofilů) v periférii, ale začínají si všimnout cirkadiánních změn proliferace aktivity kostní dřene samotné. Problematika, která je zvláště důležitá v dnešní době při podávání cytotoxické chemoterapie, která *de facto* není toxická leukocytům maturovaným a distribuovaným v periférii, ale toxická proliferujícím buňkám v kostní dřeni. Mauer v roce 1965 zveřejnil první práci na toto téma, studující diurnální změny proliferace kostní dřene pomocí inkorporace H^3 -thymidinu (22). Zjistil nadir mitotického indexu proliferujících buněk v 06.00 hod. a DNA syntézy myeloidních buněk ve 24.00 hod. a akrofázi mitotického indexu v 18.00 hod. Další práce pocházejí z laboratoře chronobiologů Smaaland a spol. V letech 1986 až 1988 provedli odběry kostní dřene u 16-ti zdravých dobrovolníků mužského pohlaví. Pomocí flowcytometrie sledovali cirkadiánní změny v aktivitě DNA syntézy ve všech buňkách kostní dřene. Stejně tak sledovali změny v počtu kultivovaných CFU - GM (Colony Forming Unit - Granulocyte-Macrophage). Výsledky ukázaly shodu v rytmu celkové syntézy DNA a v počtu kultivovaných kolonií CFU - GM. Maximální hodnoty DNA syntézy se zjistily v době od 08.00 hod. do 16.00 hod. s průměrem kolem 13.00 hod. a minimální od 24.00 hod. do 04.00 hod. s průměrem kolem 01.00 hod. (32-34).

Výše uvedené výsledky jsou zajímavé natolik, že by se daly okamžitě využít v klinické praxi pro stanovení optimální doby podání cytostatické léčby, která bude mít minimální myelosupresivní účinky, anebo optimální stimulační účinky růstových faktorů. Tyto výsledky však nevycházejí z komparativních studií a tím neumožňují posouzení míry vlivu stresu, ročního období, pohlaví a jiných variabilních parametrů, na kterých chronobiologická pravidla závisí. Smaaland a spol. (35) proto provedli novou práci, která v jedné klinické studii sledovala 16 mužských dobrovolníků, u kterých byly odebrány ve stejnou dobu vzorky kostní dřene a periferní krve ve 4 hodinových intervalech pokrývající 24 hod. období. Výsledky jsou shrnuty v tab. č. 3 a ukazují shodné nebo téměř shodné hodnoty s jednotlivými výše uvedenými studiemi.

Tabulka 2

Cirkadiánní variace v proliferaci aktivitě lidské kostní dřene

autor	soubor	akrofáze	nadir	poznámky
Mauer (22) 1965	11 mužů	1. 18.00	1. 06.00 2. 24.00	1. mitotický index 2. DNA syntéza
Smaaland (33) 1991	16 mužů	13.00 hod.	01.00 hod.	CFU-GM/DNA syntéza všech buněk kostní dřene

Poznámka: akrofáze - maximální vzestup, nadir - maximální pokles, CFU-GM = Colony Forming Unit - Granulocyte-Macrophage

Tabulka 3

Cirkadiánní variace periferních hematologických parametrů a hematopoetických parametrů v kostní dřeni.

Smaaland 1995, 16 mužů		
parametr	vzorek	akrofáze (medián)
leukocyty	periferní krev	15.36 hod.
neutrofilů	periferní krev	22.36 hod.
lymfocyty	periferní krev	03.24 hod.
CFU-GM	kostní dřeň	13.04 hod.
S-fáze/DNA syntéza	kostní dřeň	13.12 hod.

poznámka: CFU-GM = Colony Forming Unit - Granulocyte-Macrophage

Růstové faktory

Objevením a zavedením růstových faktorů typu G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor) a GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor) do klinické praxe se výrazně zlepšilo řešení myelosupresivního účinku cytostatické léčby a tak snížilo riziko infekčních komplikací. Jejich použití vedlo k tomu, že je nyní reálnější dodržování standardních cytostatických dávek v daných termínech u většiny pacientů a je možné používat vysokodávkované cytostatické režimy. Jedná se o glykoproteiny, které zasahují do proliferace a diferenciacie hematopoetických progenitorových buněk (27). Tyto typy růstových faktorů zasahují do zrání neutrofilů a makrofágů. Mimo tyto základní funkce se jeví, že stimulační faktory (CSF) hrají důležitou roli také v modulaci funkce zralých krevních elementů, ovlivňující i distribuci zralých a progenitorových buněk v těle (6). Uvádí se zvýšení fagocytární schopnosti, chemotaxe, imobilizace a další. CSF pravděpodobně účinkují prostřednictvím specifických receptorů, jejichž struktury jeví určitou vzájemnou příbuznost (18,40). Pro klinickou praxi se připravují rekombinantní technologii. G-CSF je dostupný jako r-HuG-CSF pod názvem filgrastim (Neupogen, Amgen Roche, Švýcarsko) a glykozylovaný lenograstim (Granocyte, Rhone-Poulenc Rorer, Francie). GM-CSF se vyrábí formou neglykozylovaného r-HuGM-CSF jako preparát molgramostim (Leucomax, Novartis, Švýcarsko) a formou glykozylovaného preparátu sargramostimu (Interberin, Wyeth-Lederle, v registračním řízení).

Klinické použití těchto myeloidních růstových faktorů v hemato-onkologické praxi je široké. Podávání je důležitou indikací u pacientů s neutropenií vyvolanou specifickou onkologickou léčbou (3,18,41). Seymour et al. dokázali, že podávání lenograstimu následně po chemoterapii nádorů nevede k úplnému vyhnutí se leukopenie, ale úspěšně vede ke zkrácení doby potřebné k normalizaci hladiny neutrofilů a stanovili optimální dávku 5 µg/kg/den (30). Další oblastí, ve které se s výhodou používají G-CSF a GM-CSF je použití po stimulačních režimech ke sběru progenitorových buněk (4,5,21,40) a podání vysokodávkované cytostatické chemoterapie. Celá řada studií ukázala, že po vysokodávkované chemoterapii podávání růstového faktoru signifikantně zkracuje návrat hladiny neutrofilů k normě, redukuje mikrobiologicky zdokumentované infekce během neutropenie, zkracuje trvání hospitalizace a užívání antibiotik (2,15,28,30,37). Základní dávkovací schéma bylo sice stanoveno, ale existují interindividuální rozdíly a stávající ekonomická situace ve zdravotnictví nás nutí přemýšlet nad dalšími možnými metodami, které by vedly k racionálnějšímu podávání růstových faktorů. Jednou z takových zkoušených metod se ukazuje chronobiologie - chronoterapie. Základní myšlenkou je, zda vhodným načasováním podání růstového faktoru nezískáme úsporu podaného množství a přitom adekvátní nebo i vyšší účinnost, jak při sběru progenitorových buněk, tak k překlenutí kritické neutropenie po vysokodávkované chemoterapii.

Preklinické studie s G-CSF

V naší práci, provedené v laboratořích prof. Hrusheskeho v Albany, U.S.A., jsme se pokusili zjistit zda cirkadiánní - časově závislé podání růstového faktoru může ovlivnit počty leukocytů a hlavně neutrofilů v periferní krvi (39). Použili jsme samičky myši C3HeB/FeJ průměrného věku 12-14 týdnů, které dostaly subkutánně buď r-metHuG-CSF (Neupogen, Amgen) nebo placebo (sterilní fyziologický roztok). G-CSF bylo podáno v dávce 5 µg/kg váhy po 5 dnů v jednom ze 6-ti denních časů, rozdělených ve 4 hodinových intervalech. Leukocyty byly měřeny z žilní krve v den před léčbou a dále denně po dobu 5-ti dní se začátkem poslední aplikace G-CSF a posledním odběrem den 11. Současně byly provedeny krevní nátěry ke zjištění počtu neutrofilů. Ze závěrů vyplývá (viz tab. č. 4.):

Tabulka 4

Chronomodulační účinky G-CSF na periferní leukocyty a neutrofilní buňky v preklinické studii.

Autor	soubor	HALO* dávka	vzestup	pokles
Vyzula (39) 1992	89 myši, C3HeB/FeJ	2,6,10,14,18,22 5 µg/kg/váhy	leu - 18 HALO neu-14,18,HALO	leu - 6,10 HALO neu - 10 HALO

Poznámka: *HALO - Hours After Light Onset, HALO 2,6,10 - období spánku, HALO 14,18,22 - období aktivity, leu - leukocyty, neu - neutrofilní buňky.

- koncentrace leukocytů a neutrofilů po aplikaci G-CSF jevíly variace v závislosti na denní době aplikace G-CSF
- nejvyšší hodnoty leukocytů byly dosaženy pokud byl G-CSF aplikován uprostřed denní aktivity (18 HALO) a nejvyšší hodnoty neutrofilů byly zaznamenány pokud byl G-CSF aplikován na začátku nebo uprostřed denní aktivity těchto nokturálních zvířat (14, 18 HALO)
- pokles leukocytů a neutrofilů byl zaznamenán, pokud byl G-CSF aplikován v době obvyklého probuzení těchto zvířat (10 HALO) a pokles leukocytů ještě navíc zasahoval do doby pozdního spánku (6 HALO).

Práce jednoznačně ukazuje, že podání G-CSF laboratorním myším, při zohlednění působení stresu při odběru materiálu, vede k odlišné odpovědi v počtech periferních leukocytů a neutrofilů v závislosti na denní době aplikace a způsobuje jak vzestup těchto buněk, tak paradoxně překvapující přechodný pokles.

Diskuse

Existují jednoznačné důkazy, že redukce cytostatické léčby nebo odklady v léčebném schématu snižují pravděpodobnost kontroly nebo vyléčení maligního onemocnění (12,19,20). Stejně tak se ukazuje, že léčebné výsledky některých maligních onemocnění se zlepšují, pokud se zvyšují dávky cytostatických léků (23,25). Je to dáno faktem, že účinnost některých cytostatických léků je závislá na tzv. dose intensity, tj. dávka/kg/týden, která může mít vyšší procento úspěšnosti. Proto se stává krajně důležitým minimalizovat toxické účinky na zdravé senzitivní tkáň, zvláště kostní dřeň.

Leukopenie a neutropenie jsou hlavní příčinou nedodržování předepsaných termínů nebo dávek chemoterapie a dále i morbidity a mortality onkologických pacientů. Febrilní neutropenie je častou komplikací cytostatické léčby vyžadující poměrně intenzivní zdravotní péči s hospitalizací, použití kombinací širokospektrých antibiotik a další náročnou podpůrnou léčbu. Navzdory intenzivní péči o takové pacienty je uváděna jejich až 10% mortalita. Objevení a zavedení do klinické praxe růstových faktorů umožňuje účinnější léčbu neutropenií a snížení počtu rizikových nebo kritických stavů vedoucích k nejasné prognóze. Použití leukocytárních růstových faktorů je indikované v definovaných situacích, ale zároveň finančně nákladné. Pokud by se však objevila metoda efektivnějšího podávání, která by vedla k racionálnějšímu podávání a dávkování, pak by se to jistě odrazilo i v celkových finančních úsporách, umožňujících případně širší indikace podání. Jednou z takových metod je možná chronobiologie - chronoterapie.

Na krátkém shrnutí, které jsme uvedli, je vidět, že množství leukocytů, neutrofilů v periferní krvi a jejich prekurzorů v kostní dřeni je závislé na čase odběru. Jejich proliferace a maturace podléhá cirkadiánním změnám. Stejně tak se ukazuje, i když zatím jen v preklinických studiích, že působení růstových faktorů, v našem případě G-CSF, může mít časově závislou účinnost. Vzhledem k cirkadiánním variacím DNA syntézy buněk kostní dřene (1) se nabízí řešení otázky redukce toxicity na kostní dřeň fázově specifickými cytostatiky působících v S fázi buněčného cyklu podáním cytostatika nebo

jeho největšího denního procenta dávky, při kontinuální infuzi, v době nejnižší proliferativní aktivity kostní dřeně, což je pozdní večer nebo v noci.

Na druhé straně se může využít doby maximální proliferace hemopoetických buněk kostní dřeně k efektivnější léčbě růstovými faktory jako jsou GM-CSF nebo G-CSF, podáním optimální dávky v optimální dobu, což je dle dosavadních výsledků doba časného odpoledne. Této skutečnosti se dá využít i při sběru periferních kmenových buněk pro autologní a i allogenní transplantace u hematologických, ale i vybraných ostatních maligních onemocnění. Je nutné však uvést, že optimální dobu podání růstového faktoru u lidí dosud neznáme a dosavadní klinické zkušenosti spíše vedou k jeho podání v pozdní odpoledne ke zmírnění projevů vedlejších účinků, které znepríjemňují život pacientů při aplikaci v ranní době. Je však na místě si uvědomit, že je logické i podání ve velmi časných ranních hodinách, ještě před nástupem maximální proliferativní

aktivity hemopoetických buněk v 08.00 hod.. Přesnějších informací se však můžeme dočkat jen po provedení patřičných klinických zkoušek, z nichž některé již probíhají.

Před zavedením pravidel optimální doby podávání růstových faktorů je nutné si uvědomit interindividuální rozdíly mezi jednotlivci, vedoucí k různě vyjádřeným biologickým rytům. Bude zřejmě nutné zavést nejprve stanovení biologických rytů daného jedince a teprve potom stanovit individuálně upravenou chronoterapii (tzv. tailored therapy).

Domníváme se, že podávání optimálních dávek v optimální dobu a individuálně upravená léčba pro daného jedince není vědecko-fantastickou spekulací, ale v některých případech již i dnes možná. V době, kdy náklady na zdravotní péči rok od roku rostou neúměrně možnostem společností i mnohem produktivnějších než je naše, je pravděpodobně vhodné se zaměřit na nové úspornější způsoby léčby, které chronobiologie a chronoterapie nabízí.

Literatura:

1. Abrahamsen, J.F., Smaaland, R., Sandberg, S. et al.: Circadian variation in serum cortisol and circulating neutrophils are markers for circadian variation of bone marrow proliferation in cancer patients. *Eur. J. Haematol.* 50, 1993, 206-212.
2. Bacigalupo, A.: The clinical benefits of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of cancer patients. *Eur. J. Cancer* 30A, 1994, Suppl 3, 26-29.
3. Balazovich, K.J., Almeida, H.I., Boxer, L.A.: Recombinant human G-CSF and GM-CSF prime human neutrophils for superoxide production through different signal transduction mechanisms. *J. Lab. Clin. Med.* 118, 1991, 576-584.
4. Baumann, I., Testa, N.G., Lange, C. et al.: Haemopoietic cells mobilised into circulation by lenograstim as alternative to bone marrow for allogeneic transplants. *Lancet* 341, 1993, 369.
5. Bregni, M., Siena, S., Nicola, M.D. et al.: Comparative effects of granulocyte-macrophage colony stimulating factor and granulocyte colony-stimulating factor after high-dose cyclophosphamide cancer therapy. *J. Clin. Oncol.* 14, 1996, 628-635.
6. Demetri, G.D., Griffin, J.D.: Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood* 78, 1991, 2791-2808.
7. Dérer, L.: O periodickej účinnosti chlóralkylamínu, rtg ožiarenia a ACTH pri leukemii. *Bratislavské lekárska listy* 8, 1953, 545-551.
8. Dérer, L.: Concealed Macroperiodicity in the reactions of the human organism. *Review of Czechoslovak medicine* 4, 1956, 277-287.
9. Dérer, L.: O leukocytárnej makroperiodike. *Sporník prác lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Košiciach*, 1959, II (1-2), 3-13.
10. Dérer, L., Čáp, J.: Pripad periodickej neutropénie. *Bratislavské lekárska listy* 1961, 540-551.
11. Dérer, L., Menkynová, R., Nepelová, L. et al.: O rytme vyvolanom cytostatikami (II.časť). *Bratislavské lekárska listy* 5, 1954, 477-483.
12. Evans, W.E.: Clinical pharmacodynamics of anticancer drugs: a basis for extending the concept of dose-intensity. *Blut* 56, 1988, 241-248.
13. Gabrilove, J.L., Jakubowski, A.: Granulocyte colony-stimulating factor. Preclinical and clinical studies. In: Golde, D.W., guest editor. *Hematopoietic growth factors. Hematology/oncology clinics of North America* 3, 1989, 427-440.
14. Garrey, W.E., Bryan, W.R.: Variations in white blood cell counts. *Physiol. Rev.* 15, 1935, 597-638.
15. Gisselbrecht, C., Prentice, H.G., Bacigalupo, A. et al.: Placebo-controlled phase III trial of lenograstim in bone-marrow transplantation. *Lancet* 343, 1994, 696-700.
16. Hattori, K., Shimizu, K., Takahashi, M. et al.: Quantitative in vivo assay of human granulocyte colony-stimulating factor using cyclophosphamide-induced neutropenic mice. *Blood* 75, 1990, 1228-1233.
17. Haus, E., Lakatua, D. J., Swoyer, J. et al.: Chronobiology in hematology and immunology. *Am. J. Anatomy* 168, 1983, 467-517.
18. Herrman, F., Lindemann, A., Mertelmann, R.: G-CSF and GM-CSF: From molecular biology to clinical application. *Biotherapy* 2, 1990, 315-324.
19. Hryniuk, W., Bush H.: The importance of dose intensity in chemotherapy of metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2, 1984, 1281.
20. Hryniuk, W., Figueredo A., Goodyear M.: Application of dose intensity to problems in chemotherapy of breast and colorectal cancer. *Semin. Oncol.* 14, 1987, Suppl 4.
21. Kohno, A., Takeyama, K., Narabayashi, M. et al.: Low-dose granulocyte colony-stimulating factor enables the efficient collection of peripheral blood stem cells after disease-oriented, convectional-dose chemotherapy for breast cancer, malignant lymphoma and germ cell tumor. *Bone Marrow Transplantation* 15, 1995, 45-54.
22. Mauer, A.M.: Diurnal variation of proliferative activity in the human bone marrow. *Blood* 26, 1965, 1-7.
23. Mayer J., Vorlíček J.: Vysokodávkovaná chemoterapie s transplantací kmenových krvetvorných buněk v komplexní léčbě zhoubných nádorů. *Vydala Masarykova univerzita v Brně* 1, 1997, 70.
24. Metcalf, D.: Colony Stimulating Factors. *Discovery, development and clinical applications. Cancer* 65, 1990, 2185-2195.
25. Moormeier, J.A., Williams, S.F., Kaminer, L.S. et al.: High-dose tri-alkylator chemotherapy with autologous stem cell rescue in patients with refractory malignancies. *J. Natl. Cancer Inst.* 82, 1990, 29.
26. Nasse : *Einfluss der Nahrung auf das blut*. Marburg, 1850.
27. Platzer, E., Welte, K., Gabrilove, J.L. et al.: Biological activities of a human pluripotent hemopoietic colony stimulating factor on normal and leukemic cells. *J. Exp. Med.* 162, 1985, 788-801.
28. Roche, H., Chevallier, B., Chollet, P. et al.: Lenograstim rHuG-CSF prevents morbidity from FEC-HD chemotherapy for inflammatory breast cancer. *Annals of Oncology* 9, 1994, Suppl 5, 457.
29. Sabin, F.R., Cunningham, R.S., Doan, C.A. et al.: The normal rhythm of white blood cells. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 37, 1925, 14-67.
30. Seymour, A.M., De Campos, E., Thatcher, N. et al.: A single-blind, randomised, vehicle-controlled, dose finding study of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rHuG-CSF; lenograstim) in patients undergoing chemotherapy for solid cancers and lymphoma. *Eur. J. Cancer* 31, 1995, 2157-2163.
31. Shaw, A.F.B.: The diurnal tides of the leucocytes of man. *J. Path. Bact.* 30, 1927, 1-19.
32. Sletvold, O., Smaaland, R., Laerum, O.D.: Cytometry and time-dependent variations in peripheral blood and bone marrow cells: A literature review and relevance to the chronotherapy of cancer. *Chronobiol. Internat.* 8, 1991, 235-250.
33. Smaaland, R., Laerum, O.D., Lote, K. et al.: DNA synthesis in human bone marrow is circadian stage dependent. *Blood* 12, 1991, 2603-2611.
34. Smaaland, R., Laerum, O.D., Sothorn, R.B. et al.: Colony-forming unit-granulocyte-macrophage and DNA synthesis of human bone marrow are circadian stage-dependent and show covariation. *Blood* 79, 1992, 2281-2287.
35. Smaaland, R., Sothorn, R., Lote, K. et al.: Circadian phase relationships between peripheral blood variables and bone marrow proliferative activity in clinical health. *In Vivo* 9, 1995, 379-390.
36. Smith, L.C., McDowell, A.M.: Normal rhythm of white blood cells in women. *Arch. Int. Med.* 43, 1929, 68-84.
37. Tamura, M., Matsumoto, M., Yoshino, T., et al.: Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on the mice receiving bone marrow transplantation following lethal irradiation: acceleration of recovery of the peripheral blood neutrophils and potentiation of anti-Pseudomonas resistance. *Exp. Hematol.* 19, 1991, 18-23.
38. Trk, W.: Vorlesung uber Klin. Haematol. *Klin. Wchnschr.* 15, 1912, 2, 715, 749.
39. Vyzula, R., Martynowicz, M., Sigurdsson, B. et al.: Circadian dependent effectiveness of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF). *Third Annual Meeting Society for Research on Biological Rhythms*. Amelia Island, USA, 1992 (abstr.).
40. Watts, M.J., Sullivan, A.M., Jamieson, E. et al.: A single apheresis algorithm for PBSCT. *Brit. J. Haemat.* 89, 1995, Suppl 1, 79.
41. Welte, K., Bonilla, M.A., Gillio, A.P. et al.: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Effects on hematopoiesis in normal and cyclophosphamide-treated primates. *J. Exp. Med.* 165, 1987, 941-948.
42. Williams, M.E., Quesenberry, P.J.: Hematopoietic growth factors. *Hematol. Path.* 6, 1992, 105-124.
43. Yong, K., Cohen, H., Khwaja, A. et al.: Lack of effect of granulocyte-macrophage and granulocyte colony-stimulating factors on cultured human endothelial cells. *Blood* 77, 1991, 1675-1680.
44. Zirm, K.L., Bauermeister, W.: ber physiologische Tagesschwankungen der Leukocyten. *Ztschr. F. Klin. Med.* 125, 1933, 282-293.

DUPLICITY ZHOUBNÝCH NÁDORŮ U NEMOCNÝCH S PLICNÍ RAKOVINOU

DUPLICITY OF MALIGNANT TUMOURS IN LUNG CANCER PATIENTS

M. PEŠEK, M. LISÁ, M. TAMÁŠOVÁ

KLINIKA PLICNÍCH NEMOCÍ A TUBERKULÓZY FN UK PLZEŇ
KLINIKA PNEUMOLOGIE A FTIZEOLOGIE FN UK BRATISLAVA

Souhrn: Autoři zhodnotili klinické údaje u 76 nemocných s ověřenou plicní rakovinou, u kterých byl současně, v předchorobí či následně zjištěn další zhoubný novotvar. V rozmezí let 1992–1997 se jednalo o 54 nemocných (4,36 %) z celkového počtu 1238 nemocných plicní rakovinou v Plzni a o 22 nemocných (8,0 %) z celkového počtu 275 pacientů v Bratislavě. Nejčastějšími duplicitními nádory byly karcinomy hlavy a krku, plic a gastrointestinálního traktu, u žen pak rakovina prsu a dělohy. Nejvyšší riziko manifestace duplicitní malignity je dle zjištění autorů do 7 let po zjištění prvního zhoubného novotvaru. V souboru jsou zahrnuti i 4 nemocní s nádorovou triplicitou. Pacienti se zhoubnými nádory představují významnou rizikovou skupinu i co do možností onemocnění rakovinou plic. Nicméně přežití nemocných nebývá výsledkem společného patologického působení více nádorů, ale úspěšností léčby nádorů více maligních. Výsledky autorů i literární údaje mluví pro aktivní přístup k terapii i vícečetných malignit.

Klíčová slova: rakovina plic, rakovina hlavy a krku, karcinom laryngu, karcinom dělohy, karcinomy mléčné žlázy.

Summary: During the period 1992–1997, 76 patients suffering from lung cancer and some duplicate malignant tumours were treated in both Czech and Slovak institutes. There were 51 Czech duplicate tumour patients selected from 1238 lung cancer patients and 21 Slovak from 275, an average of 4.36% of Czech and 8% of Slovak lung cancer populations ($p < 0.05$). Three of the Czech patients suffered from triplicate malignancies. The highest incidence of multiple tumours is in 60–69 old patients in both groups. The most frequent locations of second malignancy in men were head and neck cancer, second lung cancer and gastrointestinal tumours, whereas in women the first two were uterus and breast cancers. The highest risk of second malignancy appearance is till seven years after the first one. Common risk factors were cigarette smoking, genetic predisposition, occupational exposure to carcinogens and probably previous chemotherapy and/or radiotherapy as well as combinations of those. In general, in cancer patients, there is significant risk to develop a second malignant tumour, particularly during the first seven years after the first one. Our results as well as results of other authors justify an active therapeutic strategy even in such patients. It has been demonstrated that therapeutic outcome is comparable with other lung cancer patients.

Key words: multiple malignancy, second cancers, smoking lung cancer, head and neck cancer, laryngeal cancer, uterus cancer, breast cancer.

V pneumologické praxi se setkáváme s pacienty, u kterých v anamnéze, při vstupním vyšetření, či někdy až v průběhu následné péče zjišťujeme další zhoubný novotvar. Zlepšení diagnostiky a léčby, které pozorujeme výrazně zejména u mimoplicních zhoubných nádorů, zvyšuje pravděpodobnost dlouhodobého přežití či vyléčení mimoplicních malignit, ale přirozeně také i riziko onemocnět dalším zhoubným nádorem. Vzácněji se setkáváme se simultánní duplicitou či dokonce multiplicitou; zvláštní kapitolou je v tomto oboru plicní rakovina, kde celkem vzácně nalézáme synchronní či metachronní duplicitu (8, 15). Opačné situace, kdy se až v průběhu léčení plicní rakoviny objeví další, nejčastěji mimoplicní malignom, jsou s ohledem na fatalitu základní choroby výjimečné, nicméně také existují. V našem společném sdělení analyzujeme soubory nemocných duplicitními zhoubnými nádory, které jsme léčili na plzeňské a bratislavské plicní klinice v letech 1992–1997.

Metodika a materiál

V uvedeném období jsme z celkového počtu nemocných hospitalizovaných na obou plicních klinikách pro morfologicky ověřenou plicní rakovinu vybrali ty, u kterých bylo v předchorobí, při vstupním vyšetření či následně, diagnostikováno další onemocnění zhoubným nádorem. Do souboru jsme nezařadili nemocné, u kterých jedna z malignit nebyla morfologicky ověřena anebo zde byla pravděpodobná souvislost plicního postižení s prvně diagnostikovanou malignitou.

Soubor nemocných z kliniky TRN Plzeň jsme označili jako soubor A a soubor nemocných z kliniky TRN Bratislava ve stejném období jsme označili jako soubor B. U obou souborů jsme stanovili procentuální podíl z celkového

počtu všech nemocných s plicní rakovinou za uvedené období a dále pak údaje týkající se pohlaví, věku, lokalizace, objevení první malignity, časový interval do vzniku duplicity. Zajímaly nás také rizikové faktory vzniku nádorového bujení (rodinná anamnéza, kouření a profesionální expozice kancerogenů a potenciálně kancerogenní vlivy související s léčbou – radioterapie anebo chemoterapie), případně kombinace více kancerogenních vlivů, jakož i morfologie obou malignit. Do souboru byli dále zařazeni i nemocní s více než dvěma morfologicky ověřenými zhoubnými nádory v uvedeném období. Oba soubory jsme porovnali co do statisticky významných rozdílů.

Výsledky

Soubor A tvořilo celkem 54 nemocných (43 mužů a 11 žen, průměrného věku 64,2 roku, věkové rozmezí 47–82 let). Z celkového počtu 1238 nemocných s ověřenou plicní rakovinou, kteří byli na klinice TRN Plzeň hospitalizováni v uvedeném období, je to celkem 4,36 % pacientů. Čtyři nemocní (tři muži a žena) měli triplicitu zhoubných nádorů, 74letý muž následně ve dvacetiletém rozmezí melanom kůže zad, adenokarcinom sigmatu a plicní rakovina. 64letá žena měla simultánní triplicitu (urotelální karcinom ledviny, papilokarcinom ureteru a bronchioloalveolární karcinom). 56letý muž měl v předchorobí maligní lymfogranulom, po 20 letech se u něj manifestoval současně adenokarcinom pravé plice a bronchioloalveolární karcinom levé plice. 63letý muž prodělal rok po pravostranné horní lobektomii pro epidermoidní karcinom (stadium I) laryngektomií s následným ozářením pro karcinom laryngu. V průběhu následujícího roku u něj zjištěn duplicitní karcinom v levém horním plicním laloku.

Z uvedeného počtu 54 nemocných bylo celkem 46 kuřáků či bývalých kuřáků, u dvou nebyl údaj v anamnéze poznamenán. Nádorové onemocnění v rodinné anamnéze bylo zjištěno u 20 a pracovní rizika byla zjištěna u sedmi nemocných, léčba zářením, chemoterapií a kombinací obou byla zjištěna u 28 nemocných. Kombinace více faktorů (kuřáctví + pozitivní rodinná anamnéza) byla zjištěna u 13 nemocných, kuřáctví a profesionální anamnéza u třech, kuřáctví a léčení chemoterapií anebo radioterapií u 9 nemocných, pozitivní rodinná anamnéza a léčení chemoterapií a radioterapií u jednoho pacienta, a kombinace více než dvou faktorů 4 pacienti. Žádný časový odstup mezi manifestací prvního a druhého nádorového onemocnění – byl zjištěn u 11 pacientů. Roční odstup byl u pěti, dvouročný u pěti, tříletý u tří, čtyřletý u čtyř, pěti a šestiletý u třech, sedmiletý u pěti, devítiletý u dvou, desetiletý u tří, 11 letý u dvou, 12 letý u tří, 18 letý u dvou, 20 letý u jednoho a 23 letý u jednoho. Následně po objevení prvního plicního nádoru byl zjištěn další nádor u tří pacientů. Jeden nemocný se simultánní nádorovou plicní duplicitou byl 27 let před její manifestací léčen radioterapií pro maligní lymfogramom krčních uzlin.

Nejčastější typy plicní rakoviny u mužů byla rakovina epidermoidní (53,5 %), následovala anaplastická velkobuněčná (16,3 %), malobuněčná (16,2 %) a adenokarcinom aj. (14 %). Nemocný se simultánní plicní duplicitou, kterého jsme do tohoto rozpočtu nezahrnuli, měl v jedné plicí rozsáhlé nekrotický adenokarcinom, v němž byl místy přítomen i diferencovaný dlaždicový karcinom s ložiskovou dediferenciací v malobuněčnou rakovinu. V druhé plicí pak byl nalezen bronchioloalveolární karcinom. U žen byly nejčastější adenokarcinom a malobuněčná rakovina (každá 36,4 %), následovala epidermoidní (18 %) a anaplastická velkobuněčná (9 %). Nejčastější primární nádory u mužů byly: nádory hlavy a krku a nádory plic, GIT, zhoubné lymfomy a nádory močového měchýře, u žen byly nejčastější nádory dělohy a prsu.

V souboru B bylo 22 nemocných (13 mužů, 9 žen a průměrný věk mužů byl 64,7 let, žen 59,33 let). Podíl nemocných s duplicitními nádory z celkového počtu 275 pacientů za sledované období činil 8,0 %. Nejčastější duplicitní nádory u mužů byly nádory hlavy a krku a nádory gastrointestinálního traktu a u žen rakovina mléčné žlázy a rakovina dělohy.

Také v tomto souboru byla nejčastěji postižena věková skupina mužů i žen 60–69 let věku.

V souboru B bylo celkem 80 % kuřáků či bývalých kuřáků, 50 % pacientů s pozitivní rodinnou anamnézou nádorového onemocnění a jeden pacient s pozitivní pracovní anamnézou (expozice kancerogenů). Kombinaci rizikových faktorů kuřáctví a pozitivní nádorové rodinné anamnézy mělo v souboru B 40 % nemocných. Volba léčebných postupů u nemocných v souboru B směřovala rovněž k preferenci aktivního přístupu (jen 3 z 22 nemocných byli léčení symptomatickou terapií, 13,6 % nemocných bylo operováno pro duplicitní plicní rakovinu, a 68,2 % nemocných bylo léčeno chemoterapií anebo radioterapií).

Diskuse

K nejčastějším prvním malignitám patřily v bratislavském souboru nádory hlavy a krku, za kterými následovaly nádory GIT a prsu. V plzeňském souboru byly nejčastějšími prvními rovněž nádory hlavy a krku, na druhém místě však byly nádory plic a následovaly nádory GIT. Duplicity byly častější u mužů a duplicitní nádory se nejčastěji manifestovaly v sedmém deceniu. Cahen (2) v Memorial Sloan – Kettering Cancer Center prokazoval nejčastěji primární nádory hlavy a krku, dále pak plic, prsu a GIT. Hofmann

a spol. (5) registrovali ve 14letém období 5,2 % duplicitních nádorů, z 59 duplicit bylo 17 plicních. U mužů byly na druhém místě karcinomy kůže a na třetím zhoubné lymfomy, u žen byla situace podobná jako v našich souborech. Střední interval mezi oběma malignitami zjistili u plicních duplicit 4,9 roku, u mimoplicních byl tento interval u mužů 7 let, u žen pak 11 let.

Populace pacientů, kteří prodělali zhoubný nádor představuje rizikovou skupinu nejenom pokud jde o možnost recidivy, ale i z hlediska rizika onemocnění plicní rakovinou. V této populaci se další zhoubné novotvary vyskytují 4–11x častěji (2). Tentýž autor udává celkem 110 pozorování rakovinných multiplicit, předpokládá se zvýšená vnímavost k rakovině, přesto však jsou nádorové multiplicity chápány jako medicínská zvláštnost. Pro nádory prsu ústní dutiny, hlavy a krku, jícnu a plic se předpokládá společný kancerogen (2), jiná hypotéza (22) je založena na představě, že rakovina může být důsledkem metabolické deficiencie. V patogeneze těchto onemocnění se mohou uplatnit taková rizika, jako kuřáctví cigaret – je známý vztah kouření a výskytu nádorů hlavy a krku, plic, pánvičky ledvin, močového měchýře a děložního čípku. Rizikem mohou být i faktory genetické, jak předpokládá Sellers a spol. (16) a profesionální expozice kancerogenů, které dokládá Wright (19) na rozdíl od Rothweddera a spol. (15). Můžeme předpokládat i potenciálně kancerogenní účinky chemoterapie či radioterapie prvního ze zhoubných nádorů. Van Leeuwen (18) udává, že nemocní léčení radioterapií, ale i chemoterapií, pro zhoubné lymfomy, karcinomy mléčné žlázy a testikulární karcinomy, mají zvýšené riziko onemocnění plicní rakovinou. Toto riziko se výrazně zvyšuje u těch z nemocných, kteří současně či následně s uvedenou onkologickou terapií nezanechají kuřáckého návyku. Společným rizikovým faktorem mohou být podle literárních údajů i faktory dietetické (vysoký příjem tuků, nedostatečná konzumace zeleniny a ovoce). Wynder a spol. (20) dokládá význam zvýšené konzumace tuků pro rozvoj plicní rakoviny, nádorů hormonálně podmíněných a nádorů tračníku, u zvířat byl prokázán kancerogenní efekt tukové diety u nádorů kůže, mléčné žlázy, tračníku a slinivky. Jak vyplývá z analýzy našeho souboru, nacházíme často i vícečetné kombinace rizikových faktorů.

Na rozdíl od slovenského souboru jsme v českém zjišťovali časté duplicity plicních nádorů. Duplicitní plicní karcinomy se vyskytují podle údajů Doyle a Aisnera (4) 0,5 % pacientů s plicní rakovinou, ojedinělá pozorování z literatury uvádí i Petříková a spol. (14) a jí citovaní autoři. Kos a Důra (8) našli během 14 let v pitevním materiálu Šiklova ústavu duplicitní rakovinu plic u 1,55 % všech zemřelých na plicní rakovinu, podobnou frekvenci (1,2 %) udávají i Milleron a spol. (11). V našem souboru byla nejčastějším typem druhé plicní rakoviny rakovina malobuněčná. K rozlišení mezi metastázou a duplicitním plicním karcinomem mohou sloužit kromě Billrothových kritérií (cit. 8) ještě také rozdílný čas zdvojení obou malignit (Rothwedder 15) a podle Ichinose a spol. (6) také analýzy DNK nádorové tkáně metodou průtokové cytometrie, která může přispět k odlišení i u stejných histologických typů synchronních lézí od případných metastáz.

Relativně nízký výskyt tohoto typu duplicit nalezených až v době dispenzarizace patrně souvisí s vysokou fatalitou plicní rakoviny, jakožto prvního onemocnění. Podle zkušeností Auerbacha (cit. 8) je mnohočetné postižení respiračního epitelu kancerogeny ve smyslu dysplazie až karcinomu in situ velmi časté. Zde by se mohl uplatnit i zmíněný DNA profil jakožto důsledek předchozí chemoterapie anebo radioterapie (22), jakožto vyvolávající faktor proliferace. Epidermoidní a eventuálně malobuněčné rako-

Tabulka č. 1 – Nádorové duplicity v závislosti na věku a pohlaví

A			
Věk	muži	ženy	celkem
40-49	1	2	3
50-59	8	2	10
60-69	21	6	27
70-79	11	1	12
80-89	2	0	2
Celkem	43	11	54

Tabulka č. 2 – Lokalizace první malignity u nemocných s plicní rakovinou

A			
Lokalizace	muži	ženy	celkem
Hlava a krk	9	0	9
Plice	10*	0	10*
GIT	8	0	8
Prs	1	2	3
Děloha	0	4	4
Ovarium	0	1	1
Kůže (bazaliom)	1	1	2
Ledviny a močovod	3	1	4
Prostata	2	0	2
Močový měchýř	4	0	4
Zhoubné lymfomy	6	1	7
Maligní melanom	1	0	1
Celkem	43	11	54

Nemocný označený * se simultánní plicní nádorovou duplicitou prodělal před 27 lety maligní lymfomem, je tedy započten dvakrát.

Tabulka č. 3 – Primární lokalizace nádoru ve vztahu k morfologii plicní rakoviny

A				
Lokalita	epidermoidní	malobuněčná	adenoca	anaplastická
Hlava a krk	8	0	2	0
Plice	1	7	1*	0
GIT	2	4	0	2
Prs	1	0	1	1
Děloha	1	3	0	0
Ovarium	0	0	1	0
Kůže (bazaliom)	2	0	0	0
Ledviny a močovod	2	0	1	1
Prostata	0	0	1	1
Močový měchýř	2	1	0	1
Zhoubné lymfomy	4	1	2	1
Celkem	23	16	9	7

viny jsou relativně vzácné, McElvaney a spol. (12) viděl na rozdíl od nás velmi častý výskyt vícečetných lézí plicního adenokarcinomu (19 % jím publikovaného souboru). Tak vysokou frekvenci výskytu multiplicit jsme nenašli ani u jiných, nám dostupných sdělení. Jako vzácné typy duplicit jsou například synchronní kombinace malobuněčné rakoviny a anaplastické velkobuněčné doložené Rohwedderem (15), kdy jeden z těchto nádorů reagoval příznivě na chemoterapii, zatímco druhý ve stejné době progredoval. Krejch a Zatloukal (9) léčili nemocnou, u které po chemoterapii dosažené úplné remisi malobuněčné rakoviny chirurgicky odstranili epidermoidní karcinom lokalizovaný v druhé plicí. Také pozorování našeho pacienta se simultánní duplicitou smíšeného karcinomu v jedné plicí a bronchioloalveolární rakoviny v plicí druhé patří k neobvyklým. Z našich nemocných duplicitním malobuněčným plicním karcinomem žijí dva bez známek nemoci déle než 2 roky po chemoterapii, dva další nemocní zemřeli na generalizaci zhoubného nádoru GIT, v době klinické remise rakoviny plic.

Tabulka č. 4 – Časový odstup mezi manifestací prvního a druhého nádorového onemocnění

A			
Roky	Počet pacientů	12	3
0	11	13	0
1	5	14	0
2	5	15	0
3	3	16	0
4	4	17	0
5	3	18	2
6	3	19	0
7	5	20	1
8	0	21	0
9	2	22	0
10	3	23	1
11	2	27	1
		Celkem	54

Tabulka č. 5 – Nádorové duplicity v závislosti na věku a pohlaví

B			
Věk	muži	ženy	celkem
30-39	0	1	1
40-49	1	1	2
50-59	2	1	3
60-69	6	6	12
70-79	3	0	3
80-89	1	0	1
Celkem	13	9	22
Průměrný věk	64,69	59,33	

Tabulka č. 6 – Lokalizace první malignity u nemocných s plicní rakovinou

B			
Lokalizace	muži	ženy	celkem
Hlava a krk	8	0	8
Ledviny	1	0	1
GIT	2	1	3
Prs	0	3	3
Uterus	0	2	2
Bazaliom	1	1	2
Prostata	1	0	1
M. Hodgkin	0	1	1
Celkem	13	8	21

Tabulka č. 7 – Primární lokalizace nádoru ve vztahu k morfologii plicní rakoviny

B			
Lokalita	epidermoidní	malobuněčná	adenoca
Hlava a krk	5	3	0
Ledviny	1	1	0
GIT	1	0	2
Prs	1	2	1
Uterus	1	0	1
Bazaliom	0	1	1
Prostata	1	0	1
M. Hodgkin	0	1	0
Celkem	10	8	4

Legenda k tabulkám:

tab. 1-4: charakteristiky duplicitních nádorů u pacientů souboru A (Plzeň)
tab. 5-7: charakteristiky duplicitních nádorů u pacientů souboru B (Bratislava)

Výskyt nádorových duplicit či dokonce multiplicít je znám i u nádorů kůže, orofaryngu, žaludku, střeva, ovarií a mléčné žlázy, celkovou frekvenci výskytu zde uvádí Rohwedder (15) 2–4 %. Pokud jde o sdružení průduškové rakoviny s nádory faryngu a laryngu, prokázal Massard (10), že plicní léze u nemocných s předchozí či simultánní rakovinou hlavy a krku jsou s největší pravděpodobností primární karcinomy průdušek. Rakovina laryngu nemusí nutně předcházet manifestaci rakoviny plic, jak dokládá pozorování jednoho z našich nemocných, u kterého se rakovina laryngu objevila rok po úspěšné operaci velmi limitované plicní rakoviny. V našem souboru jsou vícečetné zhoubné nádory u 4,28 %, ve slovenském souboru u 7,6 %, tento rozdíl je statisticky významný, nicméně pro tuto skutečnost nemáme zatím vysvětlení. Průkaz více zhoubných nádorů u individuálního pacienta by mohl do jisté míry vést k nihilistickému přístupu, pokud jde o terapii. Nicméně čtyřicetileté zkušenosti Cahena (2) před takovým přístupem varují, neboť i zde je možno dosáhnout relativně velmi dobrých výsledků. Hofman a spol. (5) dokládá u jimi chirurgicky léčených duplicit plicních nádorů 5leté přežití u 33 % souboru, u operovaných plicních karcinomů, kde prvním z novotvarů byl mimoplicní nádor, bylo 5leté přežití operovaných dokonce 48 %. Dokladem jsou kromě těchto zkušeností i například naše pozorování tří nemocných s triplicitou rakoviny, kteří žijí pět let po skončení terapie. Z našeho souboru bylo celkem 11 pacientů léčeno chirurgicky, což odpovídá frekvenci indikací chirurgické léčby u ostatních nemocných plicní rakovinou na naší klinice. Pouze 17 % nemocných našeho souboru bylo léčeno paliativní či hormonální léčbou, podobně radikální přístup volili i slovenští spoluautoři. Medián přežití našich nemocných od stanovení diagnózy druhé rakoviny je však poměrně nízký – 10 měsíců. Nicméně i z tohoto souboru žije déle než dva roky 10 % pacientů. Porovnáme-li distribuci typů plicní rakoviny manifestující se jako duplicitní nádorové onemocnění, zjistujeme, že nejčastějším typem je rakovina epidermoidní, na druhém místě je rakovina malobuněčná, následují adenokarcinom a anaplastická velkobuněčná rakovina.

U mužů je nejčastější epidermoidní karcinom, následují malobuněčné a anaplastické karcinomy, naproti tomu u žen jsou nejčastějšími typy adenokarcinom a malobuněčná rakovina. Tyto relace odpovídají údajům z onkologického registru pro muže i ženy s rakovinou plic, ale i některým publikovaným sdělením. Epidermoidní i malobuněčná rakovina mají nejvýraznější vztah k rizikovým faktorům, jako je kouření a expozice k radioaktivním látkám, jak uvádějí Jedrychowski (7) a Wright (19), přičemž efekt zanechání kouření se více projevuje na poklesu výskytu rakoviny epidermoidní. V Damberově (3) souboru byl vztah plicní rakoviny a kouření u 80 % pacientů, tedy podobně jako v našem souboru. Podle Doyle a Aisnera (4) se rakovina plic vyskytuje i u nemocných s rakovinou jícnu a slinivky břišní, v žádném z našich souborů jsme však v uvedených dobách nádorové postižení těchto dvou orgánů nezaznamenali. Zvláštní problém mohou představovat i současně s plicní rakovinou zjištěné benigní či semimaligní nádory, v našem souboru měl 1 nemocný v průběhu operace zjištěný vedle plicního karcinomu ještě chondrochordom, druhý pacient měl kromě následné duplicity plicní rakoviny ještě karcinoid odstraněný chirurgicky. Tyto nálezy by mohly být pokládány za metastatická ložiska a tak být příčinou odstoupení do zvažovaného operačního výkonu.

Závěry, které je možno z naší studie vyvodit, jsou podobné závěrům Cahena (2). I u vícečetných zhoubných nádorů není na místě léčebný konzervatismus, a je třeba usilovat o rychlý průkaz morfologie nádorových ložisek. Přežití takto postižených pacientů není výsledkem spolupráce dvou či více novotvarů, ale závisí na účinnosti kontroly toho z nádorů, který je více agresivní. U synchronních nádorů by se měly léčit oba nádory pokud možnou současně (jeden z našich nemocných žil po operaci synchronně se vyskytnuvšího karcinomu ledviny a plic šest let), jinak je na místě přednostní léčba zhoubnějšího novotvaru. Jinak je na místě pečlivá dispenzarizace nemocných po skončení terapie zhoubných nádorů, eliminace všech známých rakovinotvorných vlivů a zejména u nádorů aerodigestivní oblasti by mohla mít důležitý význam chemoprevence s užitím retinoidů a N-acetylcysteinu (Benner cit. 1).

Literatura:

1. Benner, S. E., Lippman, S. M., Hong, W. K.: Chemoprevention of Lung Cancer Chest 1995, 107, 316s–321s.
2. Cahen, W. G.: Multiple primary cancers of the lung, esophagus, and other sites. Cancer 40, 1977, 1954–1960.
3. Damber, L. A., Larsson, L.-G.: Smoking and lung cancer with special regard to type of smoking and type of cancer. A case-control study in north Sweden. Br. J. Cancer, 1986, 53, 673–681.
4. Doyle, L. A., Aisner, J.: in Roth, J. A., Ruckdeschel, J. C., Weisenburger, T. H.: Other Medical Problems of lung Cancer Patients Thoracic Oncology, W. B. Saunders company, 1989, s. 72.
5. Hofmann, H. S., Neef, H., Meyer, M., Zerkowski, H. R.: Zweitkarzinome der Lunge. Programm und Abstracts Deutsche Gesellschaft für Thoraxchirurgie, gemeinsam mit der 39. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie, 11.–14. 3. 1998, s. 34.
6. Ichinose, Y., Hara, N., Ohta, M.: Synchronous lung cancers defined by deoxyribonucleic acid flow cytometry. J. Thorac Cardiovasc Surg September 1991, Vol. 102, No. 3, 418–424.
7. Jedrychowski, W., Becher H., Wahrendorf, J., Basa-Cierpielek Z., Gomola, K.: Effect of tobacco smoking on various histological types of lung cancer. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 1992, 118, 276–282.
8. Kos, Š., Důra, J.: Duplicita bronchogenních karcinomů. Studia pneumologica et phthiseologica Cechoslovaca, 36, 1976, č. 5, 323–327.
9. Krejbich, F., Zatloukal, P., Petruželka, P.: Nádorová duplicita u bronchogenního karcinomu. Přednáška na vědeckovzdělávací

schůzi České pneumofthiologické společnosti Praha, 6. 12. 1996.

10. Massard, G., Wihlm, J. M., Ameur, S., Jung, G. M., Rouge, C., Dumont, P., Roeslin, N., Morand, G.: Association of bronchial and pharyngolaryngeal malignancies. A reappraisal. Eur. J. Cardiothorac. Surg, 1996, 10 (6), 397–402.
11. Milleron, B., Blanchon, F., Collot, L., Choffel, C., Akoun, G., Brocard, H.: Les cancers bronchiques épidermoides bilatéraux et révélation simultanée. Rev. fr. mal. respir., 6, 1978, 557–560.
12. McElvaney, G., Miller, R. R., Muller, N. L., Nelems, B., Evans, K. G., Ostrow, D. N.: Multicentricity of Adenocarcinoma of the Lung Chest, vol. 95, January 1989 Issue, 151–154.
13. Pešek, M.: Novodobé trendy v diagnostice a terapii rakoviny plic – habilitační práce, únor 1991.
14. Petříková, J., Polák, E., Jirásek, A., Stolz, J.: Sukcesivní duplicita bronchogenního karcinomu. Časopis lékařů českých, 1962, č. 35, 1065–1070.
15. Rohwedder J. J., Weatherbee, L.: Multiple Primary Bronchogenic Carcinoma with a Review of the Literature. American Review of Respiratory Disease, 1974, vol. 109, č. 4, 435–445.
16. Sellers, T. A., Potter, J. D., Bailey-Willson, J. E., Rich, S. S., Rothchild, H., Elston, R. C.: Lung Cancer Detection and Prevention: Evidence for an Interaction between Smoking and Genetic Predisposition Cancer Research (Suppl.), May 1992, 52, 2694s–2697s.

17. Sobue, T., Yamaguchi, N., Suzuku, T., Fujimoto, I., Matsuda, M., Doi, O., Mori, T., Furuse, K., Fukuoka, M., Yasumitsu, T., Kuwahara, O., Ichitani, M., Taki, T., Kuwabara, M., Nakahara, K., Endo, S., Sawamura, K., Kurata, M., Hattori, S.: Lung Cancer Incidence Rate for Male Ex-smokers According to Age at Cessation of Smoking. *Jpn. J. Cancer Res.* 84, June 1993, 601-607.
18. Van Leeuwen, F. E.: Second Cancers: in de Vita Vincent T. D. Jr., S. Hellman, Principles and Practice of Oncology, 5th Edition 1997, Lippincott - Raven, s. 2773-2792.
19. Wright, E.S., Couves, C M.: Radiation-induced carcinoma of the lung - the St. Lawrence tragedy. *Journal of Thoracic and Cardiovascular surgery, St. Louis, Vol. 74, No. 4, October 1997, 495-98.*
20. Wynder, E. L., Taioli, E., Fujita, Y.: Ecologic Study of Lung Cancer Risk Factors in the U. S. and Japan, with Special Reference to Smoking and Diet *Jpn. J. Cancer Res.* 83, May 1992, 418-423.
21. Zajicek, G.: Hypothesis: Cancer is a metabolic deficiency. *The Cancer Journal, vol. 4, No. 6, November - December 1991, s. 356.*
22. Žaloudík, J., Janáková, L., Kocák, I., Fait, V., Vagunda, V., Rejthar, A., Bursa, J.: Změny DNA profilu maligního melanomu indukované chemoterapií. *Klinická onkologie* 1/96, s. 21-26.

informace

INTERNET + LÉKAŘI = ZDRAVOTNICKÝ SERVER
MEDICLUB www.mediclub.cz

Pryč je doba, kdy Internet byl znám pouze jako zdroj návodů na domácí výrobu granátů.

Internet se stává naprosto běžným zdrojem získávání informací a v poslední době je také stále častěji využíván jako nástroj vzájemné komunikaci mezi jednotlivými uživateli.

Rádi bychom Vás seznámili s českým internetovým systémem, který je výhradně zaměřen na problematiku zdravotnictví.

Systém, jenž se snaží pomoci jak lékařům, tak i všem pracovníkům v oblasti zdravotnictví při orientaci v obrovském množství lékařských informací dosažitelných na Internetu. Systém, který vytvořil místo pro setkání lidí společného zaměření, jejichž oborem je zdravotnictví.

Provoz lékařského informačního centra na Internetu **MediClub**, které naleznete na internetová adrese www.mediclub.cz, byl odstartován již na jaře roku 1997 a je určen celé lékařské populaci České republiky.

Uživatel zde nalezne nejen unikátní elektronické informace, ale má také možnost využít nový, internetový způsob komunikace.

MediClub svým složením představuje vysokou kvalitu informací. Nejde jen o klasické „browsování“ na world wide web. Ide o prohlížení stránek, které jsou zaměřené na jedinou problematiku - zdravotnictví. Obsahují nejen bohatý výběr pečlivě tříděných internetových odkazů, jak z domova, tak z celého světa, ale také množství vlastních originálních informací nalézajících se pouze na serveru **MediClub**.

Momentálně tvoří systém **MediClub** 12 hlavních informačních sekcí, které reprezentují více než 10 000 vlastních internetových stran zahrnujících kolem 60 000 dalších internetových linek a odkazů, na které byste se asi jinak stěží dostali.

I když tato čísla vypadají hrozivě, nutno říci, že všechny strany a odkazy jsou pečlivě tříděné podle jednotlivých specializací, čímž prohlížení **MediClubu** lehce zvládne i naprostý laik. Za zmínku také stojí sekce zaměřené na vzájemnou komunikaci mezi členy **MediClubu**. Jsou to Diskusní fórum, obsahující již více než 600 příspěvků, vše z oblasti zdravotnictví, sekce Anket a názorů, Aktuální číselníky léků a stomatologických výrobků a v neposlední řadě nově vytvořená sekce MedMeeting, kde vzájemná komunikace mezi jednotlivými uživateli probíhá v reálném čase.

Využívání celého systému **MediClub** je zcela zdarma, pouze při první návštěvě je nutná registrace, na základě které získávají noví členové automaticky osobní heslo pro vstup do systému. Registrace je však zcela zdarma a členové nebudou ani v budoucnu platit žádné poplatky.

Momentálně čítá členská základna téměř 4000 členů, lékařů, kteří našli v **MediClubu** nejen zdroj nových informací, ale představuje pro ně také místo komunikace v úzkém a specializovaném prostředí své profese.

Jelikož všechny informace **MediClubu** se nacházejí na Internetu a je stále ještě mnoho lékařů, kteří nemají na Internet přístup (třeba z finančních důvodů), nabízí **MediClub** ve spolupráci se společností Cesnet pro své členy zvýhodněné připojení, zahrnující každý měsíc 2 hodiny připojení na Internet + poštovní schránku, a to zcela Z D A R M A.

Členové **MediClubu** však nemusejí jen pasivně přijímat informace, ale mohou též aktivně zasahovat do podoby těchto stránek prostřednictvím komunikace s jejich tvůrci.

Co dodat na závěr?

MediClub je výjimečný informační systém, jehož obsah je zpracován velice přehlednou formou, a patří na Internetu mezi lékaři k nejnavštěvovanějším.

MediClub, Anglická 17, 120 00 Praha 2, www.mediclub.cz, e-mail: info@mediclub.cz, tel.: 02/66 31 26 00

HORMONÁLNÍ SYSTÉM VITAMINU D₃ A ONKOLOGIE

ONCOLOGY AND THE VITAMIN D₃ HORMONAL SYSTEM

LANG B. A.
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Souhrn: V poslední době se zvýšil zájem o některé deriváty vitamínu D₃ v souvislosti s možným léčebným využitím také v onkologii. Smyslem tohoto velmi stručného přehledu je přiblížit klinickým onkologům současné poznatky a pracovní představy o funkci tohoto zajímavého systému v cílové buňce normální i transformované. Přeměna vitamínu D₃ v základní hormonální derivát -1,25dihydroxycholecalciferol -, jeho transport v krevním řečišti a jeho vstup do cílové buňky i popis specifického nitrobuňčného receptoru, který jako Golem jej přijme a sám se tím stane molekulárně biologicky aktivní - to vše je předmětem části první, úvodní.

Část druhá shrnuje některé základní publikované informace o funkcích a způsobu působení dihydroxycholecalciferolu a jeho receptoru v buňkách cílových tkání a o poměrech v nádorových tkáních těch orgánů, kterým zatím výzkum věnuje největší pozornost tj. malignit krvetvorby a nádorů mléčné žlázy. Tato druhá část je pouhým úvodem do problematiky onkologické kapitoly molekulové biologie systému vitamínu D₃ a jeho přirozených i synteticky připravených derivátů. Měl by sloužit k úvahám o nových možnostech nádorové terapie, doufáme mnohem účelnější a výhodnější než současná chemoterapie.

Klíčová slova: Vitamin D₃, sérová vazebná bílkovina vitamínu D₃, receptor vitamínu D₃, leukemie, rakovina prsu.

Summary: Several derivatives of Vitamin D₃ have recently attracted attention in relation with their possible curative use in oncology. The purpose of the present brief outline is to inform clinical oncologists of the latest findings and preliminary hypotheses on the function of this very interesting system in normal as well as transformed target cells. The first introductory part describes the transformation of Vitamin D₃ into its basic hormonal derivative (1,25 dihydroxycholecalciferol), its transport in the blood bed and entry into the target cell. It also describes the specific intracellular receptor which, upon receiving the derivative, becomes biologically active on the molecular level. Part Two is a summary of basic literary data on the functions of the dihydroxycholecalciferol system, the mechanics of its action, cellular receptors in target tissues and the situation in tumour tissues of the organs which have so far been in the centre of research activities.

Key words: Vitamin D₃, vitamin D serum binding protein (DBP), vitamin D receptor (VDR), malignancy, review.

CAST I.

Cvod

Téměř každým rokem získáváme informace, které podstatně rozšiřují a doplňují naši představu o působení steroidních a sekosteroidních hormonů v cílové buňce. Obecně lze říci, že k základním dějům jejich působení patří především vyvolání změn terciární ev. kvaterní struktury specifického bílkovinného nitrobuňčného receptoru, jako je např. jeho fosforylace, dimerizace, uvolnění se z většího komplexu s HSP-90 (bílkoviny tepelného šoku o m.h.90 kDa). Tím dochází i ke změnám v interakcích receptoru s některými buňčnými komponentami jako jsou např. DNA, RNA nebo jaderné bílkoviny. Všechny změny receptoru přispívají konec konců k tomu, aby se tato bílkovina v nové trojrozměrné podobě stala kompetentní pro ovlivnění přepisu (transkripce) řady specifických cílových „pivotních“ genů a tím navodila novou funkční situaci (v proliferaci, diferenciaci nebo směrem k apoptóze) dané buňky.

Jsou však známy i časné důsledky působení steroidních látek, o kterých nejsme přesvědčeni, že by mohly být přímo závislé na příslušných receptorech. Patří k nim např. změny membránového potenciálu a aktivity fosfolipasy A₂. To však nebude předmětem našich úvah.

1. 1cc,25-DIHYDROXYCHOLEKALCIFEROL (1,25 D₃) A JINÉ DERIVÁTY VITAMINU D₃

1,25D₃ je bioaktivní forma vitamínu D₃ **hormonálního typu**, která má velkou paletu biologických účinků na normální i patologické

kou bunku(*). Především je dobře znám jeho význam v metabolismu minerálů a kostní tkáni. V osmdesátých letech byla však pro tuto látku postupně potvrzena širší biologická úloha, kterou jsme předtím jenom tušili a předpokládali ze skutečnosti, že jeho receptory (VDR) jsou přítomny i ve tkáních, o kterých bezpečně víme, že nehrají v minerálním metabolismu významnou úlohu. Ukazuje se, že 1,25D₃ je mimo jiné i hormon imunoregulační a důležitý faktor diferenciaci.

Masumoto a spol. (3) prokázali v roce 1988, že vitamin D₃ (cholecalciferol) je hydroxylován v jaterních buňkách mitochondriálním enzymem 25-hydroxylázou (cytochromem P-450) na 25(OH)cholecalciferol (25 D₃), který je předáván do krevního řečiště. Jeho hladina v krvi je u starších lidí často nižší než u mladé populace, pravděpodobně v důsledku menší expozice jejich kůže slunečním paprskům a horšímu vstřebávání vitamínu D₃ z potravy ve střevě. Ve tkáni ledvin se 25 D₃ dále oxyduje na uhlíku C1 a vzniká vlastní hormonálně účinný 1,25D₃. Také sérová koncentrace 1,25D₃ se s věkem snižuje, snad i v důsledku snižující se aktivity 1-hydroxy - lázy v ledvinách. Hladina sérového 1,25D₃ má tendenci k nižším

Hlavní použité zkratky: 1,25D₃ = 1,25-dihydroxycholecalciferol; syn. calcitriol

VDR = receptor vitamínu D₃

VDR* = aktivovaný receptor = transkripční faktor

VDRE = erment odpovědi vitamínu D₃

RA = retinová kyselina

atRA = all - trans - retinová kyselina

RAR = receptor retinové kyseliny

RXR = receptor all - trans - retinové kyseliny

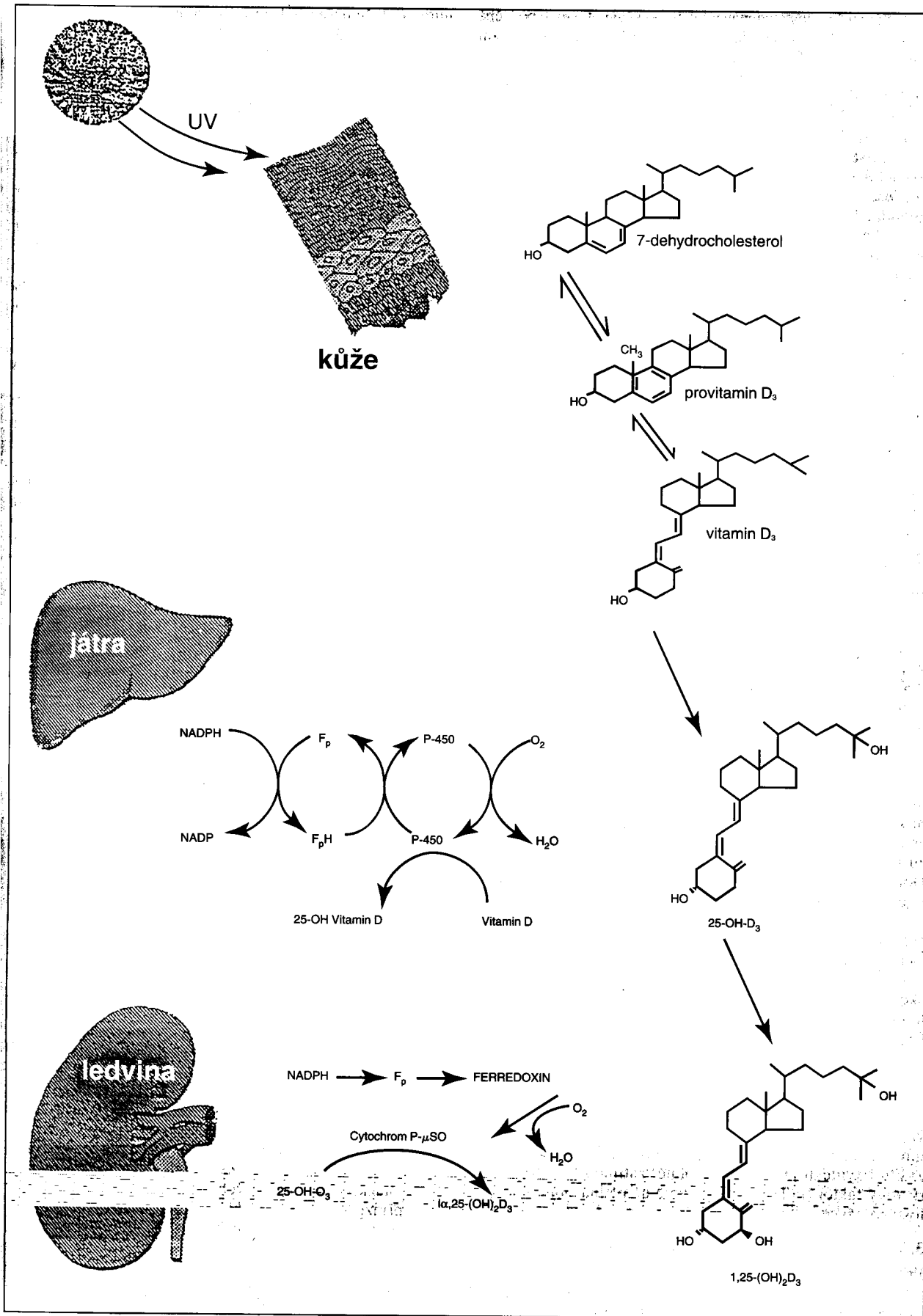


SCHÉMA 1
Přeměna vitamínu D₃ v hormonálně účinný derivát. Podrobnosti v textu.

hodnotám u žen postmenopauzálních a zvyšuje se u nich po léčbě estradiolem. Z ledvin putuje pak 1,25D3 krevní cestou k buňkám cílových orgánů. (SCHÉMA 1).

2. TRANSPORTNÍ PLASMATICKÁ VAZEBNÁ BÍLKOVINA VITAMINU D3 A JEHO DERIVÁTŮ

Transport **vitaminu D3 i jeho hormonálních derivátů** v krevním řečišti zajišťuje specifická transportní bílkovina - **plasmatická vazebná bílkovina vitaminu D3 (DBP - vitamin D binding protein)** (³). Historie jejího objevu je zajímavá. Původně byla zjištěna při identifikaci skladby alfa-2 globulinů lidského séra v roce 1959 Hirschfeldem jako bohatá skupinově specifická složka a nazvána prostě Gc (*group-specific component*) (⁴). Velmi brzy se stala předmětem velké pozornosti hlavně proto, že se vyznačovala výrazným polymorfismem geneticky podmíněným a představovala tak výhodný marker pro genetické studie. Vedle většího počtu neobvyklých a vzácně se vyskytujících izoforem této bílkoviny byly zjištěny 3 základní fenotypy: Gc 1-1, Gc 2-1 a Gc 2-2, které se vyskytovaly v různě kolísajícím poměru po celém světě. Zdálo se, že jsou důsledkem existence dvou autozomálních alel na jediném lokusu. Dnes víme, že existují 3 nejrozšířenější alely - Gc1S, Gc1F a Gc2, které kódují celkem 5 izoforem: každá z Gc1 alel kóduje dvě a Gc2 jednu (^{5,6}). V roce 1975, byla prokázána bezpečně identita mezi Gc-bílkovinou a DBP (^{7,8}). Syntéza DBP (Gc) probíhá výlučně v jaterních buňkách (⁹). Bílkovinu tvoří jediný, teplotně velmi stálý, polypeptidový řetězec o molekulární hmotnosti přibližně 52-58 kDa. Pro vazebnou funkčnost bílkoviny je rozhodující její terciární struktura zajišťovaná především specifickým počtem disulfidických můstků, potřebných k vytvoření prostorových útvarů jak pro vazebné místo ligandu tak i pro antigenní determinantu nebo determinanty protilátky (¹⁰). Sekvence 41 N-koncových aminokyselin u všech tří hlavních forem DBP je shodná. Počítačovou analýzou byla tato sekvence shledána přibližnou se sekvencemi lidského sérového pre-proalbuminu a pre-cc-fetoproteinu, což je další podpora hypotézy, že 3 hlavní plasmatické multitransportní bílkoviny - DBP, albumin a a-fetoprotein - pocházejí ze stejné ancestrální bílkoviny (¹¹). 300 - 600 µg/l lze považovat v lidském séru za fyziologickou hladinu, během těhotenství dochází k vzestupu hladiny. Orální kontraceptiva (estrogen-progestageny) zvyšují u mladých žen jak hladinu DBP tak i 1,25D3, koncentrace 25D3 však zůstává beze změn (¹²).

Dominantní funkcí DBP je vazba (a tím dočasná inaktivace) vitaminu D3 i jeho hormonálních derivátů a jejich transport krví k cílovým buňkám. Další schopností této bílkoviny je depolymerizace aktinu a vytváření komplexu DBP-aktin-DNáza (deoxyribonukleáza I). Funkčnost a smysl těchto mezibílkovinných vazeb není zatím zcela objasněn. Připomíná to interakci hemoglobin-haptoglobin nebo vazebné bílkoviny retinolu s prealbuminem (¹³).

Experimentálně na kultuře hepatocytů (Hep 3B) byly zjištěny v roce 1995 první informace o mechanismech regulujících tvorbu a tedy i cirkulující hladinu lidské DBP. Američtí autoři (⁴) měřili syntézu DBP (Gc) mRNA a množství sekretované bílkoviny po působení cytokinů a hormonů. Vybrali také, o kterých se ví, že ovlivňují syntézu jiných bílkovin jaterního původu. Zjistili, že interleukin 6 (IL-6) a dexametazon zvyšují syntézu DBP dvojnásobně, zatímco transformační růstový faktor **p** (TGF- β) ji snižuje až pětinašobně v závislosti na dávce.

3. VSTUP 1,25D3 DO CÍLOVÉ BUŇKY

První informace o vstupu 1,25D3 do buňky máme z pokusů *in vitro*, a to většinou na kulturách linií maligních buněk (^{15,16}). Skutečné fyziologické poměry *in vivo* budou asi jiné. Je nutno brát v úvahu transportní komplex 1,25D3:DBP. Obecně

nutno říct, že naše představy o tom, jak se steroidní a thyroïds hormony dostávají do cílových buněk, jsou zatím stále nepřesné a neúplné. Máme k dispozici dva funkční modely. První, který bývá označován jako „nutrient typ“ (¹⁷), předpokládá na buněčné membráně cílové buňky specifický receptor pro komplex transportní bílkoviny (v našem případě DBP) a hormonu (1,25D3). Po navázání tohoto holoproteinu dochází pomocí endocytózy k internalizaci ligandu, která může a nemusí být spojena s destrukcí transportního nosiče. Obvykle ale dochází k recyklizaci receptoru membránového. Důkazem oprávněnosti této představy jsou výsledky pozorování endocytózy serum albuminu, cc-fetoproteinu i DBP u lidských laktinem stimulovaných T-lymfocytů (¹⁸). V tomto případě DBP, značené peroxidázou z křenu, byla v malém množství internalizována nepovlečenými vezikuly, endozomy a byla směřována do multivezikulárních tělísek a nakonec do lysosomů.

Druhá možnost, označovaná jako typ „hormonální“, spočívá v představě, že nedochází k interakci transportní bílkoviny s membránovým receptorem, ale že se v těsné blízkosti buněčného povrchu cílové buňky vlivem specifických podmínek tkáňové tekutiny ligand z nosiče uvolňuje a prochází membránou (^{17,15}). V osmdesátých letech tato představa převažovala pod vlivem zkušeností s estrogeny.

Jsou ovšem možné ještě další úvahy. Například není vyloučená ani možnost, že existují specifické buňky se schopností membránově vázat transportní holoproteiny a tím vytvářet vysoké koncentrace uvolněných ligandů pro potřebu sousedních buněk určitého typu. Internalizace apoproteinu by pak mohla být mechanismem likvidace nosiče. Existence specifických membránových receptorů pro komplex DBP: 1,25D3 na povrchu T a B lymfocytů (^{19,20}) není zatím s definitivní platností prokázána (^{17,18}).

4. RECEPTOR 1 α ,25-DIHYDROXYCHOLEKALCIFEROLU (VDR) - STRUKTURA JEHO GENU A VLASTNÍ BÍLKOVINY

Jak již několikrát bylo řečeno, **VDR je nitrobuněčná receptorová bílkovina**, umožňující biologické působení **hormonu 1,25D3** v cílové buňce. Je zde přítomna ve velmi nepatrné koncentraci - přibližně 0,001% z celkových bílkovin buňky. Po navázání 1,25D3 získává tato bílkovina způsobem, který částečně popíšeme později, novou schopnost - schopnost v prostoru buněčného jádra ovlivnit jako transkripční faktor specifická místa na chromatinu a přivodit tak zahájení přepisu (transkripci) specifických genů (^{21,22}). Produkce nových buněčných bílkovinných komponent, převážně enzymového typu, vytvoří podmínky pro spuštění odlišného programu molekulové biologie cílové buňky především ve směru další její diferenciace. Z hlediska fyziologie organismu tyto nové genové produkty ovlivňují především transport vápníku ve střevě, reabsorpci tohoto minerálu v ledvinách a metabolismus vápníku v kostech a mléčné žláze.

Od roku 1969 se snažila řada laboratoří pomocí iontoměničových technik a gelové filtrace, včetně chromatografie na sloupci s imobilizovanou DNA, izolovat a přečistit VDR nejčastěji z buněk mukózy střeva kuřete. Během těchto pokusů bylo nutno překonat dvě velké obtíže: relativně nízkou koncentraci těchto receptorových bílkovin na jednu buňku a vysoký stupeň jejich biochemické lability. Dlouhou dobu zůstával otevřenou otázkou vliv buněčných proteáz na velikost molekuly VDR při izolaci.

Identifikace nitrobuněčných vazebných bílkovin 1,25D3 se podstatně zlepšila v době, kdy byla připravena monoklonální protilátka (9A7gamma) proti kuřecímu VDR (^{23,24}). Koncem osmdesátých let se tak podařilo vyzolovat a přečistit dostatečné množství bílkoviny VDR z ptáčích tkání (1987) (^{25,26}) a později i z tkání krysí a lidské (1988) (^{27,28,29}). Kombinací

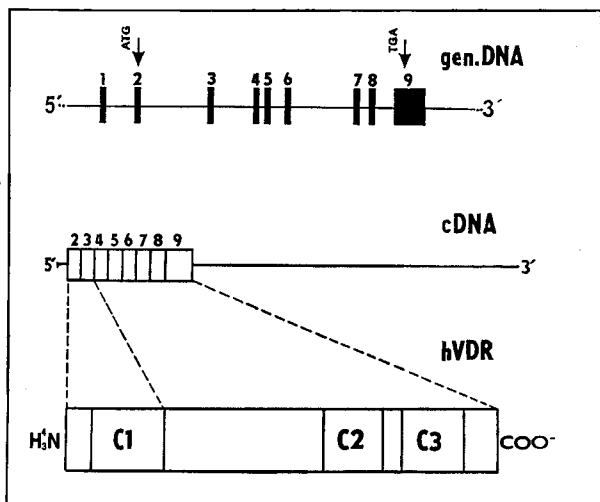


SCHÉMA 2

Obecné schéma bílkoviny a genu VDR. Funkční oblasti bílkoviny: C1 – vazebná oblast pro DNA C2 a C3 – vazebná oblast pro hormon, pro heterodimerizaci a oblast pro transkripční aktivitu.

experimentálního využití radioaktivně značeného 1,25D₃, monoklonálních protilátek proti VDR a testů vazby VDR na DNA, denaturace a selektivního proteolytického štěpení VDR byly získány první a základní informace. Týkají se nejen primární struktury receptorové bílkoviny, ale i rozmístění vazebných míst pro 1,25D₃ a DNA i lokalizace centra imunologické aktivity VDR (vazebného místa pro specifickou protilátku).

Struktura lidského *dr* genu a lidské VDR bílkoviny (hVDR).

Struktura lidského genu pro VDR. Baker a spol. v roce 1988⁽²⁷⁾ stanovili sekvenci kompletní cDNA hVDR izolované z „genové knihovny“ buněk lidského střeva a nádorové buněčné linie rakoviny prsu T47D. cDNA se skládá ze 4605 bp (base pair): za vedoucí nepřekládanou částí sekvence o 115 bp následuje úsek 1281 bp kodující vlastní bílkovinu VDR. Plných 3209 bp představuje tedy zbytek sekvence nekódující bílkovinný pro-

dukt, která na 3'-konci cDNA ukončuje (SCHÉMA 2). Důkaz o věrohodnosti této klonované cDNA pro hVDR byl podán její expresi po vpravení (transfekci) do buněk COS-1, které fyziologicky VDR neexprimují: Jediná následně syntetizovaná bílkovina je nerozpoznatelná od nativního receptoru hVDR, protože má identické obě fyzikální vlastnosti (sedimentační konstantu v sacharózovém gradientu - 3.2S a charakteristický posun na 7S po navázání protilátky) i identickou afinitu pro 1,25D₃ a jiné deriváty vitamínu D₃⁽²⁷⁾.

Struktura bílkoviny hVDR. Primární struktura hVDR je tedy známa od roku 1988 (SCHÉMA 2). Srovnání této sekvence s primární strukturou jiných receptorů steroidních hormonů jasně ukazuje na příslušnost k této rodině jaderných transkripčních faktorů přítomností společných charakteristických znaků. Podrobnější analýza především sekvence vazebné oblasti DNA (C1) prokázala, že strukturální podobnost odpovídá spíše podskupině této rodiny, kam řadíme receptor hormonu štítné žlázy a receptor retinoidů. Téměř 50% homologie v této oblasti bohaté na cystein, lysin a arginin, o které soudíme, že slouží nejen k vazbě DNA, ale přispívá i k transkripční aktivitě, je nápadná. Z analógie se známými strukturami jiných transkripčních faktorů předpokládáme, že tato oblast má schopnost vytvářet tzv. prostorové „Zn²⁺-prsty“ vhodné právě pro vazbu s DNA strukturou.

Další vazebná oblast, s podstatně menší homologií, označovaná C2, leží směrem k C-koncové části molekuly VDR a je od DNA-vazebné domény oddělena úsekem asi 150 aminokyselin bez homologie s jinými receptory této rodiny transkripčních faktorů. C2 oblastí začíná část molekuly, která představuje vazebné místo pro hormonální ligand. Sem patří i další velmi specifická doména C3. Rozložení funkčních domén odpovídá tedy obecnému schématu jak jej navrhl Beato⁽²¹⁾. Existují druhové rozdíly ve složení vazebných míst v peptidovém řetězci VDR. Je to zřejmé nejen tam, kde známe primární strukturu tohoto receptoru, ale např. i imunologická reaktivita VDR buněk rozdílných zvířecích druhů vůči monoklonálním i polyklonálním protilátkám proti kuřecímu VDR vykazuje kvalitativní rozdíly. Na druhé straně však vysoká homologie, základní společné vlastnosti a rysy u všech dosud izolovaných VDR z různých zvířecích zdrojů jsou důkazem evolučně starobylé molekuly.

ČÁST II.

1. ÚVOD DO FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY PŮSOBENÍ DELTANOIDŮ V CÍLOVÝCH TKÁNÍCH

Již v úvodu k první části tohoto přehledu jsem se zmínil o tom, že velká část biologické odpovědi hormonální dihydroxylované formy vitamínu D₃ je umožněna její vazbou na nitrobenčický receptor, který se tak „aktivuje“⁴². Aktivní komplex VDR* se uvolní z dosavadních vazeb s jinými cytosolovými bílkovinami buňky a zaujme nový prostorový tvar vhodný pro jeho vlastní biologickou funkci - **funkci jaderného transkripčního faktoru**. Ten je schopný navázat se v buněčném jádře na specifické úseky sekvence DNA. Specifické sekvence nazýváme *elementy odpovědi* - RE (podle anglického response element). Leží obecně v nepřekládané části cílových genů. U 1,25D₃ není zatím úplně jasné, zda se na elementy odpovědi vitamínu D₃ (VDRE) váže jen již aktivovaný VDR* nebo zda je možná i vazba neaktivovaného VDR s dodatečnou aktivací navázáním hormonu. Nejvíce produdovaným je zatím VDRE na genu lidského osteokalcinu.

1.1 Regulace transkripce a spolupráce s jinými transkripčními faktory.

VDR a alfa-receptor retinoidu X. Pro VDR* identifikovali Carlberg a spol.³ dvě třídy VDRE. Jedna třída je aktivována v přítomnosti pouze VDR* asi ve formě homodimeru, druhá pak heterodimerem složeným z VDR* a z aktivovaného alfa-receptoru retinoidu X (RXR-alfa*). Výsledky studií posledních roků v tomto směru podporují představu, že RXR-alfa přispívá specifickým způsobem k transkripční aktivitě heterodimeru a tato vlastnost by mohla být regulována kyselinou 9-*cis*-retinovou. Obecně se zdá, že RE jsou schopny rozlišovat mezi různými dimery, což asi platí nejen pro deriváty vitamínu D, ale i pro jiné steroidní hormony. To by ovšem znamenalo, že kombinatorická komplexita signálních cest steroidních hormonů je větší než jsme předpokládali⁴.

VDR a c-MYC. Dřívější nálezy ze studií exprese VDR u aktivovaných T- a B-lymfocytů, spolu s nálezy ze studií exprese c-myc protoonkogenu u těchto buněk, inspirovaly skupinu

amerických a anglických badatelů vedených S.C. Manolagasem⁵ k představě určité souvislosti mezi těmito dvěma jevy. Ověřovali ji na eukaryotických buňkách jiného typu. Srovnali dvě buněčné linie kryšího osteogenního sarkomu. Linie exprimující konstitutivně relativně vysoké hladiny VDR exprimovala také mRNA pro c-MYC. Linie, ve které nebylo možno detegovat VDR, neexprimovala tuto mRNA. Autoři ověřili ještě tuto skutečnost na myších kožních fibroblastech po transfekci rekombinantního plasmidu obsahujícího lidský c-myc onkogen. Můžeme tedy předpokládat, že jistá asociace mezi expresí c-myc mRNA a expresí receptorové bílkoviny pro biologicky účinný derivát vitamínu D3 skutečně existuje.

1.2 Dosud zjištěné exprese cílových genů.

Syntézy bílkovin řízené transkripčním faktorem VDR

Největšímu zájmu v oblasti výzkumu funkční charakteristiky působení vitamínu D3 se těší dvě bílkoviny se specifickou schopností vazby vápníku a dvě bílkoviny kostní tkáně.

Vazebné bílkoviny vápníku (CaBP) závislé na vitamínu D3.

Vápník a magnesium - dva dvojmočné prvky tvoří v buňkách zvláštní systém, rozhodující o akutním zapojování a vypínání řady signalizačních a život buňky významně ovlivňujících metabolických cest. Jejich koncentrace v buňce je přísně strážena kontrolními mechanismy a systémem pojistek. Jednou z nich jsou na př. v buněčných membránách vápníkové „přechody“, kanálky. Jinou důležitou regulační součástí tohoto systému jsou specifické bílkoviny, které váží a tím inaktivují vápníkový jont. Vytvářejí se tak zásobárny, z nichž je možno tento signalizační a strategický prvek opět uvolnit, a rozehrát tak novou molekulárně biologickou partii.

Dosud izolované a do značné míry mnohé i biochemicky charakterizované CaBP lze dnes rozdělit do dvou základních kategorií: na závislé a nezávislé na vitamínu D3. Závislost spočívá v tom, že k zahájení syntézy těchto CaBP je potřebná přítomnost transkripčního faktoru ve formě biologicky účinného VDR*. V roce 1966 poprvé popsali Wasserman a Taylor existenci takové bílkoviny v buňkách sliznice tenkého střeva u rachitického kuřete po podání vitamínu D3⁶. Pochod aktivace genu pro CaBP se odehrává, jak se domníváme, stejně jako u produktů specifických genů ostatních steroidních hormonů.

Do rodiny CaBP závislých na 1,25D3 zařazujeme v současné době více produktů genů, které jsou ve své expresi nebo její modulaci závislé na metabolitech vitamínu D3. O dvou z nich máme již řadu důležitých informací. Jsou to 2 formy tzv. calbindinů, izolovaných ze střevních, ledvinových nebo nervových buněk, jejichž izoformy byly prokázány v řadě dalších tkání:

1. *Calbindin - D9k (CaBP-D9k, iCaBP)*. Nejvíce prostudována je forma vyskytující se v buňkách tenkého střeva - calbindin-D9k. Tato intestinální forma byla však zjištěna i v buňkách jiných orgánů: uteru, placenty a ledvin. Hraje klíčovou roli při vstřebávání vápníku z potravy. Koncentrace této bílkoviny v buňkách tenkého střeva koreluje s aktivním transcelulárním transportem vápníku. Jejím úkolem je pufovat nadměrná množství aktivně přijímaného Ca²⁺, který by se jinak stal pro střevní buňku zničujícím elementem. Dále zvyšuje transcelulární difúzi vápníku a podporuje rychlost jeho vylučování příslušnou „pumpou“ v bazolaterální membráně buňky.

2. *Calbindin-D28K (CaBP-D_{28K})*. U savců (na rozdíl od ptáků) nebyl calbindin o m.h. 28 kDa nalezen v tenkém střevě, ale v ledvinách, v mozku a přinejmenším ve třech senzoričích systémech (v bulbus olfactorius, ve vnitřním uchu a sítnici)⁷. Známe jeho primární strukturu⁸⁻⁹. Má 4 vazebná místa pro vápník a váže 4-6 molů tohoto prvku na 1 mol bílkoviny. V ledvinách savců i člověka je exprimován v buňkách té tubulární

oblasti distálního nefronu, kde dochází k selektivní reabsorpci vápníku¹⁰. V pokusech *in vitro* lze prokázat, že přítomnost 1,25D3 indukuje v ledvinové buňce aktivitu proteinkinázy C během 24 hod. se současnou regulací zvyšování tvorby calbindinu-D28K¹¹.

Bílkoviny kostní tkáně. 1. Osteokalcin (synonymum - *kostní Gla-bílkovina, BGP*). Tato bílkovina byla izolována z kostní tkáně¹². Její syntéza závisí nejen na přítomnosti derivátu vitamínu D, ale i vitamínu K, který (podobně jako u prothrombinu) postranslačně zasahuje v peptidovém řetězci do přeměny zbytků glutamové kyseliny na zbytky kyseliny gama-karboxy-glutamové (Glu na Gla). Právě tato přeměna dává osteokalcinu vazebné vlastnosti pro vápník. Osteokalcin se nachází pouze v kostech, kde je asi syntetizován osteoblasty. Za fyziologických poměrů organismu se nachází ve velmi nízké koncentraci i v cirkulující krvi. Zvýšení jeho hladiny signalizuje buď patologickou situaci v metabolismu kostní tkáně nebo vážné snížení filtrace v ledvinách. Je proto uznáván jako vhodný biochemický klinický marker.

2. *Osteopontin* (synonymum - *44K BPP, sialoprotein /*) je sekretovaný, silně kyselý, glykosylovaný fosfoprotein, přítomný v demineralizované matrix kosti. Strukturální studie prokázaly, že osteopontin má 12-13 fosforylovatelných míst (jsou to zbytky serinu a treoninu)¹³. Jeho přesná biologická úloha nám zatím uniká. Víme, že se nějak podílí na vývoji a remodelaci kosti formou, související s mechanismy mezi-buněčné adheze nebo adheze buněk s podkladovým substrátem. Pravděpodobně participuje i na tumorigenezi a metastazování¹⁴.

1.3 Účast systému vitamínu D3 na transportu vápníku ve střevě, ledvině a mléčné žláze.

Transepiteliální transport vápníku ve střevě. Transport vápníku ze střevního lumina do krve zahrnuje aktivní a pasivní cestu. Pasivní cesta je paracelulární (mimobuněčná), není saturovatelná a jeví se být nezávislá na regulaci vitamínem D3. Tato cesta je účinná po celé délce tenkého střeva. Cesta druhá, aktivní, je v mnoha bodech závislá na vitamínu D3. Je transcelulární, saturovatelná, na přísunu energie závislá a je nejvýraznější v duodenu a proximální části tenkého střeva; v části distální je nepatrná, téměř zanedbatelná.

Máme k dispozici údaje, které svědčí pro 3 postupné kroky při transcelulárním transportu - (1) vstup vápníku do enterocyty, (2) nitrobuněčná translokace vápníku a (3) jeho vypuzení (extruze) přes bazolaterální buněčnou membránu. Všechny kroky jsou ovlivněny vitamínem D3. Stupeň ovlivnění jednotlivých kroků je však významně rozdílný. Mechanizmy, kterými může vitamin D3 zvýšit vstup vápníku přes kartáčový lem rezorpčního epitelu nejsou zcela objasněny. Z experimentálních výsledků je však zřejmé, že jeho účinek není limitujícím krokem v tomto úseku vápníkového putování. Vitamin D3 kvantitativně nejvíc ovlivňuje pohyb vápníkového jontu uvnitř buňky a jeho extruzi z enterocyty. Pro usnadnění transportu Ca²⁺ v cytoplasmě buňky přicházejí v úvahu 3 mechanismy: (1) Usnadněná difúze zahrnující vazbu vápníku na calbindin-D9k; (2) „doprava“ vápníku v určitých buněčných organelách (např. mitochondriích, Golgiho aparátu, hrubém endoplasmatickém retikulu); (3) transport vezikulární s účastí cytoskeletálních prvků. Vypuzení (extruze) vápníku z enterocyty bazolaterální membránou se děje pod vlivem 1,25D3 především prostřednictvím Ca/Mg-ATPázy, která je na tuto část plazmatické membrány vázána. Nejasný je zatím mechanismus, kterým 1,25D3 „vypumpování“ zvyšuje.

Transepiteliální transport vápníku v ledvinách. 1,25D3 indukuje v cílových buňkách tohoto hormonu mRNA enzymu 1,25(OH)₂D-24-hydroxylázy. Forbol ester zvyšuje tento účinek u buněk tenkého střeva a tubulárních buněk ledvin. To

může znamenat, že zde existuje signalizační cesta interagující se signalizační cestou protein kinasy C - podobně jako u buněk tenkého střeva, ale na rozdíl od osteoblastů. Cycloheximid, blokující syntézu bílkovin, nezvyšuje účinek 1,25D3. Znamená to, že -podobně jako osteoblasty - buňky renální exprimují neznámou bílkovinu, která je nutná - na rozdíl od buněk střevních - pro akci tohoto hormonu. Z toho je patrné, že existují rozdíly v detailech signalizačních cest a mechanismů působení deltanoidů v různých druzích buněk organismu¹⁵.

Transepiteliální transport v mléčné žláze. Ve specifickém funkčním metabolismu epiteliálních buněk mléčné žlázy hraje vápník a tedy i hormonální systém vitamínu D3 významnou úlohu. Není pochyb o úzkém vztahu mezi metabolizmem vápníku a produkcí mléka. Informace o poměrech VDR v normální tkáni mléčné žlázy máme zatím pouze z pokusů na zvířatech^{16,17}. Představy mechanismů tvorby mléka na molekulární úrovni s ohledem na přestup vápníku do epiteliálních buněk a jeho přestup do mléka nám zatím chybí. Z analogie je však zřejmé, že i zde je asi nutný intenzivní transepiteliální transport vápníku do mléka podobně jako ve střevě do krve a v ledvině do moče.

1.4 Účast hormonálního systému vitamínu D3 na mechanismu proliferace, diferenciaci a apoptózy.

Velký zájem o vyjasnění funkčního významu působení derivátů vitamínu D3 a zvláště 1,25D3 na nečekaně různé druhy tělních buněk vyvolala především skutečnost, že byla zjištěna a potvrzena přítomnost příslušného nitrobuněčného receptoru (VDR) také v leukocytech a aktivovaných T-buňkách. S ohledem na možné léčebné využití se úsilí mnoha laboratoří ještě zvýšilo, když se podařila *in vitro* vlivem 1,25D3 diferenciaci leukemických buněk v normální terminální funkční buňky. Pro klinické využití *in vivo* zůstával však jeden velký limitující problém - průvodní toxická hyperkalcemie! Následovalo horečné hledání deltanoidů (analogů vitamínu D), které by si uchovaly co největší schopnost kontrolovat diferenciaci a proliferaci buněk, ale neovlivňovaly podstatně hladinu vápníku v krvi. Toto hledání s určitými již konkrétními výsledky pokračuje.

Udržování stálého počtu buněk *in vivo* i *in vitro* závisí na vyrovnanosti mezi buněčným dělením a apoptózou. Nekonrolovatelný nádorový růst tedy musí být důsledek buď zvýšené proliferace nebo snížené apoptózy nebo obojího. Proto také látky, které mají vyvolat regresí nádorů, musí mít schopnost buď bránit proliferaci nebo aktivovat proces apoptózy.

1.4.1 Ovlivnění proliferace.

Antiproliferativní účinky 1,25D3. V současné době máme již u různých linií specifických buněk řadu experimentálních důkazů o antiproliferativním působení nejen fyziologického 1,25D3, ale i deltanoidů uměle syntetizovaných. Uvedu několik příkladů:

A) 1,25D3 brání proliferaci **lymfocytů** v závislosti na dávce, které jsou buňky vystaveny. Zdá se, že tato inhibice růstu má vztah k afinitě vazby derivátů vitamínu D3 na VDR, protože jen vysoké koncentrace přirozených derivátů s nízkou afinitou vykazují antiproliferativní účinek¹⁸. B) Poučné jsou výsledky experimentů *in vitro* s liniemi normálních lidských a hlodavčích fibroblastů. O **kožních fibroblastech** víme, že exprimují VDR, a že 1,25D3 u nich při pěstování v jednovrstevné kultuře inhibuje proliferaci¹⁹. C) Méně přehledné jsou však poměry u některých dalších typů buněk. Tak ku příkladu u **buněk rakoviny mléčné žlázy**. Výsledky dosavadních experimentů zaměřených na působení deltanoidů u linie MCF-7 jsou do jisté míry, jak uvidíme později, překvapivé. Ukázalo se, že 1,25D3 ve vyšších koncentracích proliferaci inhibuje, při velmi nízkých koncentracích ji ale podporuje²⁰.

Stimulační účinky 1,25D3 na proliferaci. I když tedy 1,25D3 u převážně většiny dosud testovaných buněčných typů proliferaci brání, byly zjištěny i buněčné typy, kde se účinek této hormonální látky projevuje zcela opačně - proliferaci jednoznačně podporuje! Několik příkladů: A) Patří k nim např. **buňky hladkých svalů cév** (vascular smooth muscle cells - VSMC) u nichž stimulační účinek 1,25D3 na jejich růst se výrazně liší od potlačování růstu kultivovaných myoblastů. Neznáme zatím důvod tohoto rozdílu v účincích²¹. B) *In vitro* v buněčné linii lidských **C karcinomových buněk tyreoidy** prokázali Lazaretti-Castro a spol.²², že 1,25D3 vykazuje silný a specifický účinek proliferativní. Současně inhibuje bazální sekreci calcitoninu. C) **Lidské cirkulující monocytů** inkubovány s 1,25D3 za fyziologických jeho koncentrací (optimální kolem 10 nM) proliferují. Ještě vyšší mitotická aktivita u tohoto typu krevních buněk lze pozorovat po přidání kombinace 1,25D3 a kultivační tekutiny z kultury lymfocytů stimulovaných lektinem²³.

1.4.2 Ovlivnění diferenciaci buněk.

1,25D3 reguluje diferenciaci osteoklastů a makrofágů - dvou buněčných typů, o kterých se domníváme, že se odvozují od společného myelomonocytárního prekurzoru. *In vivo* i *in vitro* v orgánových kulturách indukuje sice zvýšení rezorpce kostí, ale neovlivňuje rezorpční aktivitu izolovaných osteoklastů. Vysvětlení hledají Billecocq-ová a spol. v tom, že schopnost 1,25D3 spočívá asi primárně v ovlivňování proliferace a/nebo diferenciaci prekurzorů ve dření kostní, což sekundárně vede ke zvýšení počtu zralých osteoklastů.

Pro tuto představu mluví také *in vitro* experimenty na buňkách normální kostní dřeně i na liniích buněk transformovaných. Shrneme-li výsledky, zdá se, že nejdříve 1,25D3 indukuje diferenciaci a maturaci linií myelomonocytárních buněk směrem k mononukleárním fagocytům spíše než k linii granulocytární. Pak stimuluje 1,25D3 tvorbu vícejaderných buněk podobných osteoklastům (u dlouhodobých kultur dřeně kostní). Tím se zvyšuje podíl buněk schopných rezorbovat kost²⁴.

1.4.3 Účast na apoptóze. V tomto ohledu vliv deltanoidů není jednoznačný. Jsou rozdíly i u různých buněčných linií jednoho druhu lidské rakoviny. Na příklad američtí autoři zjistili, že nádorové mamární buňky linie BT47 a MDA-MB-231 nevykazují (měřeno fragmentací DNA) známky apoptózy po expozici 4 - 72 hodin s neúčinnějším deltanoidem KH 1060 při jeho vysoké koncentraci (10⁻⁶M). Naproti tomu buňky linie MCF-7 po inkubaci 48-72 hodin s tímto analogem hynuly apoptózou. Jeden z molekulárně biologických rozdílů mezi buňkami těchto linií, které zatím známe, je to, že buňky linie BT474 a MDA-MB-231 exprimují mutovanou formu bílkoviny p53, zatím co buňky MCF-7 mají nativní (wild) typ p53²⁵. Studie *in vitro* na liniích gliomových buněk (C6 a GHD) ukázaly, že 1,25D3 vyvolává třetí den po 24hod. působení těžké cytotoxické účinky. Opakovaný pokus na gliomových buňkách linie C6 tento nález potvrdil. Zjištěná fragmentace DNA byla identifikována jako intranukleozomální, zvýšené hodnoty c-MYC a transkriptů tkáňové transglutaminasy souhlasily s obrazem apoptózy. Za stejných pokusných podmínek primární astrocyty krysího mozku zůstaly po působení 1,25D3 nezměněny²⁶. 1,25D3 je jednou z látek, které indukují v nervovém systému tvorbu nervového růstového faktoru, který hraje důležitou roli při neuronálně cílených interakcích v mozku pozdně embryonálním a dospělém. Tyto informace z poslední doby vzbuzují určitou naději pro léčebné zásahy u nádorových a degenerativních onemocnění nervové tkáně²⁷.

2. ÚVOD DO BIOLOGIE SYSTÉMU VITAMÍNU D3 V BUŇKÁCH LIDSKÝCH NÁDORŮ

2.1 Malignity hematopoetického a imunitního systému.

Jak jsem se již zmínil, na počátku osmdesátých let se objevi-

lo několik prací, které svědčily pro to, že aktivní hormonální látka 1,25D3 indukuje u několika linií leukemických buněk (včetně linie HL-60) diferenciaci ve směru monocytové cesty. Poněvadž tohoto účinku lze dosáhnout téměř při fyziologické koncentraci, není divu, že od té doby je považován 1,25D3 za přirozený regulátor diferenciaci makrofágů také *in vivo* a nebýt jeho hyperkalcemického účinku i za perspektivní látku pro léčbu leukemických nemocných. Pro nedostatek místa, všimneme si v této hemato-onkologické kapitole jen nových poznatků u buněčné linie HL-60. Buňky této linie jsou totiž široce používaným modelem pro výzkum působení diferenciací a cytotoxických látek na leukemické buňky.

Lidská promyelocytová leukemie - linie HL-60

Antiproliferativní účinek 1,25D3 a deltanoidů. 48 hodin po přidání 1,25D3 ve vysoké koncentraci (nad $4 \times 10^{-7} \text{M}$) do kultury HL-60 buněk objeví se zástava proliferace v G1 fázi buněčného cyklu, která dosáhne maxima po 96 hodinách. Současně lze v buňkách prokázat výrazné zvýšení obsahu specifické bílkoviny CD1 p27^{Kip1}, což podporuje domněnku, že tento inhibitor kinázy závislý na cyklinu je jedním z hlavních prostředníků (mediátorů) antiproliferativního působení deltanoidů. Znamená to také, že bílkovina p27^{Kip1} je významným kandidátem na regulátor buněčného cyklu, který blokuje vstup HL-60 buněk do S-fáze. Zvýšení hladiny této látky je závislé na koncentraci 1,25D3 a je provázáno zvýšením dvou dalších bílkovin - cyklinu D a E, jejichž koncentrace normálně vrcholí ve střední části fáze G1 a v době přechodu z G1 do S fáze²⁸. Přechodně se zvyšuje v této době i buněčná hladina bílkoviny p21^{Cip/Waf1}.

Deltanoidy jako diferenciací faktor. Avšak 1,25D3 je pro buňky linie HL-60 také stimátorem jejich diferenciaci. Tyto buňky pěstované v kultivační tekutině s přidávkou séra se působením 1,25D3 v koncentraci 10^{-7}M diferencují ve směru k monocytům. Jako důsledek tohoto působení 1,25D3 bylo zaznamenáno postupné zvýšení nitrobuňčného pH (ze 7.17 na 7.3), které dosáhlo maxima po 48 hodinách inkubace²⁹. Odpovídá to dřívějšímu poznatku, že arteficiální nitrobuňčná alkalizace indukuje diferenciaci monocytů.

Synergie s účinkem retinoidů. Opakovaně bylo prokázáno, že u linie HL-60 vedle 1,25D3 mají výrazný inhibiční (antiproliferativní) účinek také retinoidy - all *trans* retinová kyselina (atRA) i 9-*cis* retinová kyselina (9cRA). Současné působení 1,25D3 (ale i řady syntetických deltanoidů) a atRA (nebo 9cRA) při koncentraci 100 nM má aditivní až synergistický účinek; dosáhneme tím téměř totálního zastavení růstu buněk. Silný synergismus by mohl být využit léčebně nebýt okolnosti limitující - účinku 1,25D3 na metabolismus vápníku, vyvolávající hyperkalcemii. Proto se usilovně hledají deltanoidy s minimálním kalcemickým účinkem. Dva z nich - MC903 a EB 1089 - jsou nadějně. První z nich má přinejmenším stejnou antiproliferativní a diferenciací aktivitu při monocytovém dozrávání. Druhý - analog EB 1089 - je dokonce účinnější než původní molekula 1,25D3, zvláště když se použije v nižší koncentraci! Zdá se tedy, že kombinace účinných retinoidů a deltanoidů je dobrou a nadějnou cestou při hledání optimálních léků některých druhů leukemie³⁰.

Apoptotický účinek deltanoidů. Velký zájem klinických biochemiků vyvolalo zjištění, že kombinace současného působení 1,25D3 ($1,25 \times 10^{-9}$ - $3,1 \times 10^{-10} \text{M}$) a 9cRA (5×10^{-7}) v uvedených koncentracích a za nepřítomnosti séra v kultuře buněk HL-60 vyvolává zástavu růstu a apoptózu³¹. Důkladnou analýzou této spolupráce retinoidů (atRA a 9cRA) a deltanoidu (1,25D3) zjistili Bunce a spol. (1995), že hodnoty použitých koncentrací jsou rozhodující pro typ výsledného účinku, a že vhodnou kombinací by se mohlo docílit optimálních podmínek pro diferenciací terapii buď ve směru neutrofilní a mono-

cytární diferenciaci nádorových buněk typu HL-60 nebo ve směru jejich dobrovolné smrti - apoptózy³².

Skupina vedená G. P. Studzinskim zjistila, že působení 1,25D3 na buňky HL60 před aplikací látek poškozujících DNA (1-β-D-arabinofuranosyl cytosinu a hydroxy-urei) vede ke snížení výskytu apoptózy, způsobené těmito látkami. Avšak ztráta viability buněk se zvýšila, když sled aplikovaných látek byl obrácený!³³ Další analýzou mechanismu tohoto jevu prokázali, že 1,25D3 rychle snižuje expresi protoonkogenu *bcl-2*, což vylučuje zásah BCL-2 do ochranného účinku hormonálního derivátu vitamínu D3³⁴. Rychlost protektivního účinku 1,25D3 souhlasí s hypotézou, že aktivace monocytového diferenciacího programu dostičuje k interferenci s programem vedoucím k buněčné smrti apoptózou!

2.2 V buňkách nádorů mléčné žlázy.

V buňkách benigních nádorů mléčné žlázy.

Zatím máme k dispozici jen velmi málo informací o poměrech VDR u mastopatií a benigních nádorů mléčné žlázy ženy. Od první studie, ve které byly zveřejněny výsledky vyšetření u 3 benigních nádorů (fibroadenom, fibroadenose a benigním papillomu) s hodnotami 0,40; 1,5; 6,8 fmol/mg bílkoviny, uplynulo již hodně let³⁵. Nedávno jsme měli možnost na našem pracovišti vyšetřit VDR u 17 fyloidních nádorů mléčné žlázy. U 60% z nich jsme prokázali jeho expresi. Jen 36% nádorů vykazovalo hodnotu VDR nad 10 fmol/ mg bílkoviny, kterou považujeme za hranici klinické pozitivivity. Incidence výskytu je větší, vezmeme-li v úvahu i další vyšetřené vzorky u těžce nemocné (70% exprese a 53% klinické pozitivivity). Zdá se, že buňky skupiny nádorů bez exprese VDR mají specifický fenotyp: nelze u nich prokázat výskyt kombinace ER+PgR- a ER-PgR-³⁶.

V buňkách maligních nádorů mléčné žlázy.

1,25D3 a VDR v buňkách primárních nádorů rakoviny mléčné žlázy.

Mnoho buněk zhoubného onemocnění si ponechává podle dosavadních zkušeností schopnost syntetizovat VDR. Počty vyšetřených nádorů mléčné žlázy na VDR nejsou dosud velké; skutečná frekvence publikovaných pozitivních nálezů se pohybuje pravděpodobně kolem 60% - 70% (TAB.). Zjištěné receptory jsou vysoce specifické pro 1,25D3.

U primárních nádorů mléčné žlázy nebyla zjištěna korelace mezi hladinami VDR a receptory estrogenu, progesteronu, ev. androgenu a glukokortikoidů. Rovněž nebyl zjištěn vztah mezi VDR a stavem menstruace, výsledky izotopového vyšetření kostí, výskytu uzlů v mízních uzlinách nebo histologickým typem primárního nádoru^{37, 38, 39}. Prognostický význam není zatím znám, studuje se v prospektivních studiích.

1,25D3 a VDR v buňkách buněčných linií rakoviny prsu.

V současné době známe řadu buněčných linií rakoviny prsu, které exprimují VDR. Také zde, pro nedostatek místa, uvedu zatím nejvíce studovanou linii získanou ze tkáně rakoviny ženské mléčné žlázy - linii MCF-7.

Buněčná linie rakoviny prsu MCF-7

Původní buňky této linie pochází z pleurálních metastáz nemocné ženy s lobulárním karcinomem prsu⁴⁰. Všeobecně je považována především za výborný model pro studium receptorů steroidních hormonů u zhoubného onemocnění tohoto orgánu. MCF-7 buňky exprimují totiž estrogenové (ER), progesteronové (PgR), androgenové (AR) i glukokortikoidní receptory (GR).

Pro maximální růst *in vitro* a pro vývin nádorů z implantátů u nahé myši *in vivo* je nutná fyziologická hladina estradiolu v kultivační tekutině nebo v krvi zvířete⁴¹. Z funkčního hlediska není jistě bez zajímavosti skutečnost, že buňky MCF-7 jsou schopny rezorbovat devitalizovanou kost, ve které byly zničeny pomocí ultrafialového záření všechny buňky rezorbuující normální kost⁴².

Tabulka vyšetřených VDR u nádorů rakoviny prsu:

Autoři	Rok	Počet vyšetřených	Počet pozitivních	Procento
Eisman a spol. ³⁵	1980	11	8	64 %
Eisman a spol. ⁵⁴	1981	54	43	80 %
Freake a spol. ³⁸	1984	68	51	75 %
Eisman a spol. ³⁷	1986	263	153	58 %
Lang a spol. ⁵⁵	1987	50	34	68 %
Berger a spol. ⁵⁶	1987	55	43	78 %

Přitažlivost této linie spočívá především v tom, že buňky MCF-7 jsou ovlivnitelné řadou hormonálních systémů, mají charakteristiky dobře diferencovaných epiteliálních buněk a reagují na změny nejbližšího okolí expresí morfologických i funkčních znaků.

Pravděpodobně první, kdo prokázali, že MCF-7 buňky syntetizují i receptory pro 1,25D3 byli Eisman s australskými spolupracovníky v roce 1979. VDR této linie jsou identické s dobře charakterizovanými receptory z cytosolu buněk tenkého střeva a naprosto se liší od vazebných bílkovin lidské plasmy, které transportují metabolity vitamínu D3 v krvi. Receptory jsou nasyceny při koncentraci 1,25D3, která je velmi blízká normální cirkulující krevní hladině tohoto hormonu ($0,4 \times 10^{-10}$ až $0,8 \times 10^{-10}$ M/l). Z množství navázaného 1,25D3 při saturaci autoři vypočetli, že na jednu buňku MCF-7 připadá přibližně 4.500 vazebných receptorových míst⁴³.

Koncentrace VDR v buňkách linie MCF-7:

Eisman a spol.-1979⁴³ 4.500 VDR/buňka
 Findlay a spol.-1980⁴⁴ 31 fmoI/mg bílk.
 Thomas, Sipson-1986⁴⁵ 80 fmoI/mg bílk.

Inhibiční a antiestrogení vliv 1,25D3. Inhibiční účinek hormonální formy vitamínu D3 na růst buněk MCF-7 a to v závislosti na koncentraci v kultivační tekutině je nesporně prokázán. V posledních letech byly testovány na linii MCF-7 buněk i laboratorně připravené deltanoidy - analogy 1,25D3, které se ukázaly být rovněž silnými antiproliferativními látkami. Některé z nich dokonce s mnohonásobně větším účinkem a s menším kalcemickým potenciálem. Signalizační cesta jejich účinku na molekulární úrovni využívá VDR⁴⁶. Výsledkem pát-rání po vhodných derivátech hormonu 1,25D3 bez větší hyperkalcemické aktivity na počátku devadesátých let (v laboratořích společnosti Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. v Tokyuu) byla izolace dvou analogů naprosto opačných typů: 1. **1alfa,25-dihydroxy-22-oxavitamin D3 (22-oxacalcitriol: OCT)** se schopností diferenciaci a silnou aktivitou antiproliferační, ale s nízkou náchylností k vyvolávání kalcemie. 2. **1alfa,25-dihydroxy-2β-(3-hydroxypropoxy) vitamin D3 (ED-71)** s kalcemickým charakterem a možností využití při léčbě onemocnění kostí. Japonští autoři již zveřejnili, že OCT inhibuje *in vitro* proliferaci buněk rakoviny prsu jak ER+ (MCF-7, T47-D a ZR-75-1) tak ER- (MDA -MB-231 a BT-20) a to silněji než 1,25D3¹⁴⁷ OCT testovali autoři také *in vivo* po implantaci buněk lidské rakoviny prsu s ER+ i ER- athymické myši. U MCF-7 nádorů s ER+ podávali perorálně OCT i tamoxifen 5x za týden po dobu 1 měsíce. Došlo k potlačení růstu nádoru v závislosti na dávce. Protinádorový účinek 1.0 ug/kg OCT byl srovnatelný s dávkou 2.0 mg/kg tamoxifenu. Navíc pozorovali u těchto nádorů syngestický protinádorový účinek submaximálních dávek OCT a tamoxifenu. Perorální podávání

OCT 3x týdně po dobu 1 měsíce rovněž potlačilo růst MX-1 nádoru, který je ER-, rovněž v závislosti na dávce bez vzestupu koncentrace vápníku v seru. Jejich výsledky tedy ukazují na to, že OCT potlačuje růst ER- i ER+ karcinomů prsu *in vivo* bez nebezpečí hyperkalcemie a že u ER+ nádorů může být účinek OCT umocněn tamoxifem⁴⁸.

Přibližně ve stejnou dobu testovala holandská výzkumná skupina z Erasmovy univerzity v Rotterdamu ve spolupráci s dánskou farmaceutickou firmou Leo Pharmaceutical Products na téže buněčné linii možnost synergismu inhibice růstu při současném podávání tamoxifenu a deltanoidů. Došla k závěru, že deltanoidy interagují se stimulací E2 **nepřímě**. Současné podávání tamoxifenu (TAM) a 1,25D3 zvyšuje u MCF-7 buněk inhibici růstu přibližně o 15% (ze 70% u TAM na 83% v kombinaci)⁴⁹.

Deltanoidy a retinoidy. MCF-7 buňky jsou, podobně jako řada jiných linií ER+ buněk rakoviny prsu, citlivé na inhibici proliferace vlivem působení retinoidů⁵⁰. Mechanismus jejich antiproliferativního účinku není zatím zcela podrobně znám. V mnoha případech jiných linií však víme, že potlačení růstu buněk vlivem kyseliny retinové (RA) je spojeno s následnou diferenciací a, v případě buněk maligních, se zvratem k normálnímu fenotypu. Účinek **současného působení kyseliny retinové (RA) a 1,25D3** na buňky MCF-7 testovali Balaguer a spolupracovníci⁵¹ tak, že přechodně transfektovali příslušné receptory (RAR, RXR a VDR) do těchto buněk. Vpravení RAR nebo RXR samostatně nezměnilo antagonistický účinek RA na růst buněk, ale vpravení RAR v kombinaci s RXR tento antagonistický účinek výrazně zvýšilo! Přidání VDR samotného mírně antagonistický účinek 1,25D3 na růst zvýšilo, zatím co kotransfekce RXR s nebo bez VDR růstově inhibiční účinek neovlivnilo.

Vliv 1,25D3 a deltanoidů na diferenciaci. Máme poměrně málo informací o vlivu deltanoidů v tomto ohledu. Příslušná analýza diferenciaci 6 linií buněk rakoviny mléčné žlázy americkou skupinou Elstnerové ukázala, že 1,25D3 a deltanoidy indukují diferenciaci u všech testovaných linií. Nejsilnějším induktorem diferenciaci byl deltanoid KH 1060. Výsledky svědčí pro možnost, že k regulaci proliferace a diferenciaci vlivem deltanoidů dochází různými signalizačními cestami s účastí VDR. Jejich nálezy kontrastují s informacemi získanými o buňkách akutní myeloidní leukemie, u nich totiž zástava jejich proliferace a indukce diferenciaci je úzce spojena⁵².

WELSH a spolupracovníci vyšetřili markery *apoptózy*, aby objasnili typ buněčné smrti buněk MCF-7 po působení 1,25D3. Ve svých závěrech potvrdili, že 1,25D3 způsobuje inhibici růstu MCF-7 buněk převážně indukci apoptózy, která je charakterizována kondenzací cytoplasmy i chromatinu, reorganizací bílkoviny jaderného mitotického aparátu a zvýšenou expresí clusterinu v nepřítomnosti DNA fragmentace. V paralelních studiích pozorovali tito autoři, že EB1089, analog vitamínu D3 s minimálním hyperkalcemickým účinkem, indukuje rovněž apoptózu u linie buněk MCF-7. Tyto nálezy by mohly svědčit pro představu, že deltanoidy působí jako koordinační regulátoři jak proliferace tak apoptózy. To by pak představovalo rozumný důvod pro stanovení účinnosti deltanoidů (analogů vitamínu D) při aktivaci apoptotické signalizační cesty u buněk rakoviny prsu. Tatáž americko-kanadská skupina srovnala účinky 1,25D3 a EB1089 na kinetiku buněčného cyklu. Zjistila jediný rozdíl: EB 1089 je 100x účinnější⁵³.

Závěr. Záměrem tohoto článku bylo především upozornit klinického onkologa na možnosti budoucího příznivějšího přístupu k chemoterapii resp. hormonoterapii některých nádorových onemocněním využitím regulačních vlastností hormonálního systému vitamínu D3. Stručný základní přehled doplněný příklady z doposud nejvíce zkoumaných oblastí onkologie v tomto směru by chtěl pouze navodit širší diskuzi na toto téma.

Literatura

- Lang, B. A.: Přeměnaholekalciferolu (vitaminu D₃) ve steroidní hormon. Účinné metabolismy cholekalciferolu. Vnitřní lék. 31,1001-1006 (1985).
- Masumoto, O., Ohyama, Y., Okuda, K. Purification and characterization of vitamin D 25-hydroxylase from rat liver mitochondria. J. Biol. Chem. 263, 14256-14260 (1988).
- Lang, B. A.: Přeprava cholekalciferolu (vitaminu D₃) a jeho metabolitů v krevním řečišti. Vnitřní lékařství 32,408-412 (1986).
- Hirschfeld, J. Immune-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobulins. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 47, 160-168 (1959).
- Vavruša, B., Cleve, H., Constans, J.: A deficiency mutant of the Gc system. Hum. Genet. 65, 102-107 (1983).
- Verboven, Ch., De Bondt, H., De Ranter, C., Bouillon, R., Van Baelen, H.: Crystallization and preliminary x-ray investigation of vitamin D-binding protein from human serum. In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin. New York 1994, pp. 107-108.
- Bouillon, R., Van Baelen, H., De Moor, P.: The measurement of the vitamin D-binding protein in human serum. J. Clin. Endocrinol. Metab. 45,225-231 (1977).
- Daiger, S. P., Schanfield, M. S., Cavalli-Sforza, L. L.: Human group-specific component (Gc) proteins bind vitamin D and 25-dihydroxyvitamin D. roc. Nat. Acad. Sci. (USA) 72, 2076-2080 (1975).
- Imawari, M. et al.: Synthesis of serum and cytosol vitamin-D-binding proteins by rat liver and kidney. J. Biol. Chem. 257, 8153-8157 (1982).
- Kawakami, M., Goodman, W. S.: Effects of protein modification procedures of the interaction between 25-hydroxyvitamin D and the human plasma binding protein for vitamin D and its metabolites. Biochemistry (USA) 20, 5881-5887 (1981).
- Schoentgen, F. et al.: Homology between the human vitamin-D binding protein (group specific component), d-fetoprotein and serum albumin. FEBS Letters 185, 47-50 (1985).
- Bouillon, R., Van Assche, F. A., Van Baelen, H.: Influence of the vitamin D binding protein on the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. J. clin. Invest. 67, 589-596 (1981).
- Coué, M., Constans, J., Olomucki, Anna: Effect of serum vitamin-D-binding protein on actin in the presence of plasma gelsolin. Eur. J. Biochem. 160, 273-277 (1986).
- Guha, C., Osawa, M., Werner, P. A., Galbraith, R. M., Paddock, G. V.: Regulation of human Gc (vitamin D-binding) protein levels: hormonal and cytokine control of gene expression *in vitro*. Hepatology 21, 1675-1681 (1995).

Literatura k části II:

- Carlberg, C., Bendik, I., Wyss, A. et al.: Two nuclear signalling pathways for vitamin D. Nature 361, 657-660 (1993).
- Green, S.: Promiscuous liaisons. Nature 361, 590-591 (1993).
- Manolagas, S. C., Provedini, D. M., Murray, S. S., Tsonis, P. A., Spandidos, D. A.: Association between the expression of the *c-myc* oncogene mRNA and the expression of the receptor protein for 1,25-dihydroxy vitamin D₃. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 856-860 (1987).
- Wasserman, R. H., Taylor, A. N.: Vitamin D₃-induced calcium binding protein in chick intestinal mucosa. Science 152,791-793 (1966).
- Sans, A., Etchecopar, B., Brehier, A., Thomasset, M.: Immunocytochemical detection of vitamin D-dependent calcium-binding protein (CaBP-28K) in vestibular sensory hair cells and vestibular ganglion neurones of the cat. Brain Res 364, 190-194 (1986).
- Hunziker, W.: The 28-kDa vitamin D-dependent calcium-binding protein has a six-domain structure. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 7578-7582 (1986).
- Fullmer, C. S., Wasserman, R. H.: Chick intestinal 28-kilodalton calbindin-D: complete amino acid sequence and structural considerations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84,4772-4776 (1987).
- Roth, J., Brown, A. W., Orci, L.: Localization of vitamin D-dependent calcium binding protein in mammalian kidney. Am. J. Physiol. 243, F243-F252 (1982).
- Gagnon, A. M., Welsh, J. E.: Phosphorylation and modulation of calbindin D28K by activation of protein kinase C (PKC). In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp.406-407.
- Price, P., Baukol, S.: 1,25-dihydroxy vitamin D₃ increases synthesis of the vitamin K-dependent bone protein by osteosarcoma cells. J. Biol. Chem. 255,11660-11663 (1980).
- Butler, W. T.: The nature and significance of osteopontin. Connective Tiss. Res. 23, 123-136 (1989).
- Chang, P.-L., Lee, T.-F., Ridall, A. L., Prince, Ch. W.: Regulation of osteopontin by calcitriol in mouse epidermal JB6 cells. In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 296-297.
- Armbrecht, H. J., Hodam, T. L., Boltz, M. A.: Mechanism of action of 1,25-dihydroxyvitamin D differs in kidney, intestine, and bone cell lines. In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 302-303.
- Reinhardt, T. A., Conrad, H. R.: Specific binding protein for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in bovine mammary gland. Arch. Biochem. Biophys. 203, 108-116 (1980).
- Fry, J. M., Curnow, D. R., Gutteridge, D. H., Retallack, R. W.: Vitamin D in lactation. I. The localization, specific binding and biological effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in mammary tissue of lactating rats. Life Science 27,1255-1263 (1980).
- Lemire, J. M., Adams, J. S., Sakai, R., Jordan, S. C.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ suppresses proliferation and immunoglobulin production by normal human peripheral blood mononuclear cells. J. Clin. Invest. 74, 657-661 (1984).
- Saati, N., Ravid, A., Liberman, U. A., Koren, Ruth: 1,25(OH)₂D₃ and agents that increase intracellular cAMP synergistically inhibit the proliferation of mouse

- Partridge, W. M.: Transport of protein-bound hormones into tissues *in vivo*. Endocrin. Rev. 2, 103-123 (1981).
- Sher, Elizabeth, Eisman, J. A., Moseley, Jane M., Martin, T. J.: Whole-cell uptake and nuclear localization of 1,25-di-hydroxycholecalciferol by breast cancer cells (T47D) in culture. Biochem. J. 200, 315-320 (1981).
- Bouillon, R., Van Baelen, H., De Moor, P.: Physiology and pathophysiology of vitamin D-binding protein. In: Binding proteins of steroid hormones. Colloque INSERM John Libbey Eurotext Ltd. Vol. 149, s. 333-356 (1986).
- Geuskens, M., Torres, J. M., Esteban, C., Uriel, J.: Endocytosis of three serum proteins of a multigene family and of arachidonic acid in human lectin-stimulated T lymphocytes. Microsc. Res. Techn. 28, 297-307 (1994).
- Galbraith, R. M., Arnaud, Ph.: The interaction of D-binding protein (Gc) with lymphocytes and its possible biological function. In: Vitamin D, chemical, biochemical and clinical update, eds. A. W. Norman, K. Schaefer, H. G. Grigoleit, D. v. Herrath, pp. 674-681, W. de Gruyter, Berlin 1985.
- Petřini, M., Emerson, D. L., Galbraith, R. M.: Linkage between surface immunoglobulin and the cytoskeleton of B lymphocytes may involve Gc protein. Nature 306, 73-74 (1983).
- Beato, M.: Gene regulation by steroid hormones. Cell 56, 335-344 (1989).
- Green, S.: Promiscuous liaisons. Nature 361, 590-591 (1993).
- Pike, J. W.: Monoclonal antibodies to chick intestinal receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D₃. Interaction and effects of binding on receptor function. J. Biol. Chem. 259, 1167-1173 (1984).
- Pike, J. W., Marion, S. L., Donaldson, C. A., Haussler, M. R.: Serum and monoclonal antibodies against the chick intestinal receptor for 1,25-dihydroxy vitamin D₃. Generation by a preparation enriched in a 64,000-dalton protein. J. Biol. Chem. 258, 1289-1296 (1983).
- McDoneell, D. P., Mangelsdorf, D. J., Pike, J. W., Haussler, M. R., O'Malley, B. W.: Molecular cloning of complementary DNA encoding the avian receptor for vitamin D. Science 235, 1214-1217 (1987).
- Pike, J. W., Sleanor, N. M., Haussler, M. R.: Chicken intestinal receptor for 1,25-dihydroxyvitamin D₃. J. Biol. Chem. 262, 1305-1311 (1987).
- Baker, A. R., McDonnell, D. P., Hughes, M. et al.: Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 3294-3298 (1988).
- Burmester, J. K., Maeda, N., DeLuca, H. F.: Isolation and expression of rat 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor cDNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 1005-1009 (1988).
- Burmester, J. K., Wiese, R. J., Maeda, N., DeLuca, H. F.: Structure and regulation of rat 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 9499-9502 (1988).

- fibroblasts. In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 463-464.
- Frampton, R. J., Omond, S. A., Eisman, J. A.: Inhibition of human cancer cell growth by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ metabolites. Cancer Res. 43,4443-4447 (1983).
- Koh, E., Morimoto, S., Fukuo, K., Itoh, K., Hironaka, T., Shiraishi, T., Onishi, T., Kumahara, Y.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ binds specifically to rat vascular smooth muscle cells and stimulates their proliferation *in vitro*. Life Science 42,215-223 (1988).
- Lazaretti-Castro, M., Vieira, J. G. H., Ruae, F.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ induces growth of thyroid C cells and inhibits calcitonin secretion *in vitro*. In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 451-452.
- Ohta, M., Okabe, K., Ozawa, K., Urabe, A., Takaku, F.: 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol) stimulates proliferation of human circulating monocytes *in vitro*. FEBS Lett. 185, 9-13 (1985).
- Billecocq, Agnes, Emanuel, J. R., Levenson, R. Baron, R.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ regulates the expression of carbonic anhydrase II in nonerythroid avian bone marrow cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 6470-6474 (1990).
- Elstner, Elena, de Vos, S., Pakkala, S., Heber, D., Binderup, Lise, Uskokovic, M., Umiel, Tehila, Koeffler, H. P.: *In vitro* effects of potent vitamin D₃ analogs on proliferation and differentiation of seven human breast cancer cell lines. In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 441-448.
- Naveilhan, P., Baudet, C., Berger, F., Benabid, A. L., Brachet, P., Wion, D.: Induction of glioma cell death by 1,25 dihydroxyvitamin D₃. (In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 644-645.
- Saporito, M. S., Robbins, E., Brown, E., Hartpence, K. C., Battle, J., Vaught, J., Carnswell, S.: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ induces nerve growth factor in the brain. In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 629-632.
- Wang, Q. M., Jones, J. B., Studzinski, G. P.: Cyclin-dependent kinase inhibitor p27 as a mediator of the G₁-S phase block induced by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in HL60 cells. Cancer Res. 56, 264-267 (1996).
- Hazav, P., Shany, S., Moran, A., Levy, Rachel: Involvement of intracellular pH elevation in the effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on HL-60 cells. Cancer Res. 49,72-75 (1989).
- Commes, Therese, Defacque, Helené, Sevilla, C., Yajid, Fatima, Dornand, J., Marti, J.: Differentiation of human myelomonocytic leukemia cell lines by retinoic acid and vitamin D₃ analogs, MC903 and EB1089: characterization of cooperative effects. (In: Vitamin D. (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 345-346.
- Wallington, L. A., Bunce, C. M., Durham, J., Brown, G.: Particular combinations of signals by retinoic acid and 1 alpha,25dihydroxy-vitamin D₃, promote apoptosis of HL60 cells. Leukemia 9, 1185-1190 (1995).
- Bunce, C. M., Wallington, L. A., Harrison, P., Williams, G. R., Brown, G.: Treatment of HL60 cells with various combinations of retinoids and 1 alpha, 25 dihydroxyvitamin D₃ results in differentiation towards neutrophils or monocytes or a failure to differentiate and apoptosis. Leukemia 9, 410-418 (1995).

31. Studzinski, G. P., Bhandal, A. K., Brelvi, Z. S.: Potentiation by 1-alpha,25-dihydroxyvitamin D3 of cytotoxicity to HL-60 cells produced by cytarabine and hydroxyurea. *J. Natl. Cancer Inst.* 76: 641-648 (1986).
32. Xu, H.-M., Tepper, C. G., Jones, J. S., Fernandez, C. E., Studzinski, G. P.: 1,25-dihydroxyvitamin D3 protects HL60 cells against apoptosis and down-regulates the expression of the bcl-2 gene. *Exptl. Cell Res.* 209: 367-374 (1993).
33. Eisman, J. A., MacIntyre, I., Martin, T. J., Frampton, R. J., King, R. J. B.: Normal and malignant breast (tissue is a target organ for 1,25-(OH)₂ vitamin D₃). *Clin Endocrinol.* 13: 267-272 (1980).
34. Lang, B. A., Vermousek, I., Šimíčková, M., Černoch, M., Nekulová, M., Pačovský, Z., Reilhar, A.: Phylloid breast tumors and their steroid hormone receptors. *Neoplasma* 44: 53-57 (1997).
35. Eisman, J. A., Eisman, J. A., Suva, L. J., Manin, T. J.: Significance of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in primary breast cancers. *Cancer Res.* 46: 5406-5408 (1986).
36. Freake, H. C., Abeyasekera, G., Iwasaki, J., Marcocci, C., MacIntyre, I., McClelland, R. A., Skilton, R. A., Easton, D. F., Coombes, R. Ch.: Measurement of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in breast cancer and their relationship to biochemical and clinical indices. *Cancer Res.* 44: 1677-1681 (1984).
37. Lang, B. A., Černoch, M., Vermousek, I., Šimíčková, M., Stratil, P., Rejthar, A., Hlávková, J., Šakalová, J., Celý, J.: Complex biochemical analysis of human breast tumor tissue. *Neoplasma* 38: 61-69 (1989).
38. Soule, H. D., Vasquez, J., Long, A., Albert, S., Brennan, M.: Human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Natl. Cancer Inst.* 51: 1409-1416 (1973).
39. Lippman, M. F., Osborne, C. K., Knazek, R., Young, N.: In vitro model systems for the study of hormone-dependent human breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 296: 154-159 (1977).
40. Eilon, G., Mundy, G. R.: Direct resorption of bone by human breast cancer cells *in vitro*. *Nature* 276: 726-728 (1978).
41. J. A., Martin, T. J., MacIntyre, I., Moseley, J. M.: 1,25-dihydroxyvitamin D receptor in breast cancer cells. *Lancet* II: 1335-1336 (1979).
42. Findlay, D. M., Michelangeli, V. P., Eisman, J. A., Frampton, R. J., Moseley, J. M., MacIntyre, I., Whitehead, R., Martin, T. J.: Calcitonin and 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human breast cancer cell lines. *Cancer Res.* 40: 4764-4767 (1980).
43. Thomas, G. A., Sipson, R. L.: High performance liquid chromatography analysis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in malignant cells. *Cancer Biochem. Biophys.* 8: 221-234 (1986).
44. Brenner, R. V., Shabahang, M., Schumaker, L. M., Nauta, R. J., Uskokovic, M. R., Evans, S. R., Buras, R. R.: The proliferative effect of vitamin D analogs on MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Lett.* 92: 77-82 (1995).
45. Abe, J., Nakano, T., Nishii, Y., Matsumoto, T., Ogata, E., Ikeda, K.: A novel vitamin D3 analog, 22-oxa-1,25-dihydroxyvitamin D3, inhibits the growth of human breast cancer *in vitro* and *in vivo* without causing hypercalcemia. *Endocrinology* 129: 832-837 (1991).
46. Nishii, Y., Kubodera, N., Sato, K., Kumaki, K.: Future prospects for vitamin D analogs. In *Vitamin D* (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 64-71.
47. Vink-van Wijngaarden, T., Pols, H. A. P., Binderup, L., Buurman, C. J., van den Bemd, G.-J. C. M., Birkenhäger, J. C., van Leeuwen, J. P. T. M.: Synergic inhibition of breast cancer cell growth by vitamin D3 analogs and tamoxifen. In *Vitamin D* (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 504-505.
48. Lacroix, A., Lippman, M. E.: Binding of retinoids to human breast cancer cell lines and their effects on cell growth. *J. Clin. Invest.* 65: 586-591 (1980).
49. Balaguer, P., Gagne, D., Joyeux, A., Demirepenc, E., Pons, M., Nicolas, J.-C.: Antiproliferative and antiestrogenic effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and all-trans retinoic acid in breast cancer cells. In: *Vitamin D* (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 345-346.
50. Elstner, E., Linker-Israeli, M., Said, J., Umieł, T., de Vos, S., Shintaku, I. P., Heber, D., Binderup, L., Uskokovic, M., Koeffler, H. P.: 20-epi-vitamin D3 analogues: a novel class of potent inhibitors of proliferation and inducers of differentiation of human breast cancer cell lines. *Cancer Res.* 55: 2822-2830 (1995).
51. Welsh, J., Simboli-Campbell, M., Tenniswood, M.: Induction of apoptotic cell death by 1,25(OH)₂D₃ in MCF-7 breast cancer cells. In: *Vitamin D* (eds. A. W. Norman, R. Bouillon, M. Thomasset) de Gruyter, Berlin, New York 1994, pp. 526-527.
52. Eisman, J. A., Suva, L. J., Sher, E., Pearce, P. J., Funder, J. W., Martin, T. J.: Frequency of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in human breast cancer. *Cancer Res.* 41: 5121-5124 (1981).
53. Lang, B. A., Vermousek, I., Šimíčková, M., Rejthar, A.: The incidence of 1-alpha,25-dihydroxycholecalciferol receptors in human breast carcinoma tissue. *IRCS Med. Set. - Biochem.* 15: 1411 (1987).
54. Berger, Lita, Wilson Patricia, McClelland, R. A., Colston, K., Haussler, M. R., Pike, J. W., Coombes, R. Ch.: Immunocytochemical detection of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in breast cancer. *Cancer Res.* 47: 6793-6799 (1987).

VLIV VĚKU NA MNOŽSTVÍ ESTROGENNÍCH RECEPTORŮ V KARCINOMECH PRSU

THE EFFECT OF AGE ON THE BREAST CANCER ESTROGEN RECEPTOR LEVEL

HOCHMANN J.

FARMACEUTICKÁ FAKULTA UK, HRADEC KRÁLOVÉ, KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD

Souhrn:

Východisko: Pro zjišťování prognózy a rozhodování o hormonální terapii nádorů prsu je využíváno vyšetření estrogenových receptorů. Tyto výsledky v homogenátu jsou však u starších pacientek vyšší, pravděpodobně vlivem snížení funkce vaječníků. Proto někteří autoři používají u postmenopauzálních vyšší rozhraní mezi pozitivitou a negativitou, než u premenopauzálních.

Typ studie a soubor: Provedli jsme studii klinických výsledků estrogenních receptorů u souboru pacientek z Pardubic a okolí s použitím základních statistických metod.

Metody a výsledky: V práci jsme posoudili výsledky radioreceptorové analýzy estrogenových receptorů (ER) v karcinomech prsu v závislosti na věku. Připomenuli jsme, že zlogaritmování osy y je možno používat pro orientační posouzení statistického souboru. Při tom jsme poukázali na více než řádové rozdíly mezi teoretickými středními hodnotami u nejstarších pacientek různých statistických souborů.

Závěr: Odhadli jsme, že naše výsledky se více podobají italskému neselektovanému souboru pacientek, než jihoafrické skupině vybraných pacientek v pokročilém klinickém stavu, jehož příčiny jsou pravděpodobně důležitější než etnické rozdíly.

Hranici mezi pozitivitou a negativitou si u preklimakterických v porovnání s postklimakterickými pacientkami nepředstavujeme jako skokový rozdíl, ale jako plynulou křivku (možná místy zalomenou). V souvislosti s řešením této otázky jsme diskutovali např. o možnosti urychlení karcinogeneze vlivem vysokých hladin ER.

Klíčová slova: Estrogenové receptory, karcinom prsu, věk, prahové hodnoty

Summary:

Background: Examination of estrogen receptors is exploited for estimating the prognosis and for deciding about hormonal therapy of breast cancer. These results in the homogenate are higher in older patients probably due to the influence of decreases in the function of the ovaries. For this reason, some authors use a higher boundary between positivity and negativity for postmenopausal than for premenopausal patients.

Design and Subjects: We performed a study of clinical results for estrogen receptors in the group of patients from Pardubice and surrounding its with the use of simple statistical methods.

Methods and results: In this work, we assessed the results of radioreceptor analysis of estrogen receptors (ER) in breast cancers of patients and the dependence on age. We noted that the use of logarithmic axis y is possible to use instead of a linear one for approximate evaluation of results. In addition, we discussed the great differences in results of different authors in mean ER levels of oldest patients.

Conclusions: We estimated that our results are more similar to Italian nonselected patients than to South-African selected patients in the more progressive stage of disease. The causes of this stage are probably more important than ethnical differences.

We suppose that the boundary between positivity and negativity is not a discontinual change between premenopausal and postmenopausal patients but a continual one (maybe with changes in its direction). In connection with solving this question, we discussed the possibility of a carcinopromotional influence mediated by high levels of ER.

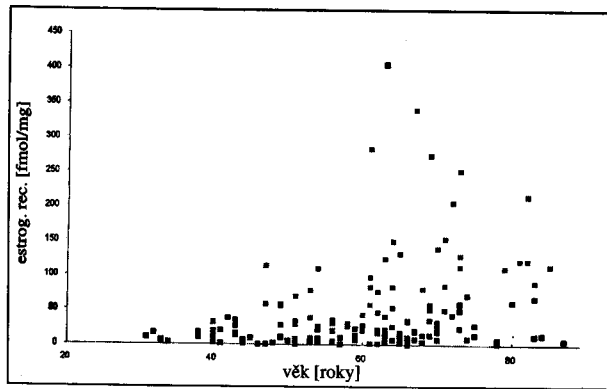
Key words: Estrogen receptors, breast cancer, age, threshold values

V závislosti na množství estrogenních receptorů (ER) v karcinomech prsu je rozhodováno o hormonální terapii pacientek. U pacientek ER pozitivních je např. doporučována léčba Tamoxifenem. V literatuře však není přijat jednotný a uspokojivý přístup k věkovým rozdílům, neboť vládne přílišná tendence zjednodušovat obecné zásady pro určení hranice mezi pozitivitou a negativitou a jen výjimečně se autoři pokouší o klasifikaci různých stupňů positivity.

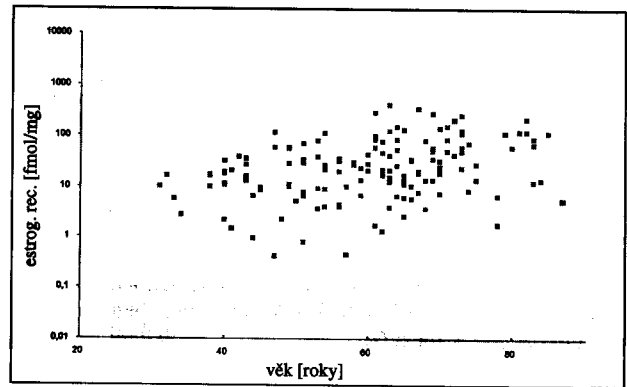
To jsme demonstrovali v naší loňské rešeršní práci (8). Tam jsme uvedli, že z naší prostudovaných publikací za posledních 10 let, ve kterých jsme našli hranici mezi ER (+) a ER (-) ve fmol/mg, byla u 25 použita pro hodnocení positivity ER stejná hranice jak pro premenopauzální tak pro postmenopauzální pacientky. Mezilaboratorní rozdíly, z hlediska rozhraní mezi ER (+) a ER (-), jsou u takovýchto prací od 3 do 20 fmol/mg. Další rozpornou skutečností jsou literární údaje o procentu ER (+) pacientek v souborech publikovaných v posledních desíti letech. Pohybují se přibližně od 40 do 80 % u postmenopauzálních souborů - většinou více než stočlenných. Tatáž % lze uvést i u premenopauzálních souborů, které jsou méněčlenné. V těchto pracích, rozlišujících premeno- a postmenopauzální pacientky, sice byly použity také imunocytochemické meto-

dy stanovení ER, nicméně i v rámci výsledků pouze biochemického zpracování subcelulárního homogenátu u postmenopauzálních lze v tomto smyslu poukázat na rozdíly (8). Jde nejen např. o 10 %ní rozdíly v počtu ER pozitivních pacientek při použití stejného rozhraní (10 fmol/mg) mezi pozitivitou a negativitou (7, 9), ale i o (závažnější z důvodu blízkosti mediánů koncentrace ER) stejné % ER pozitivních pacientek při rozdílném rozhraní (10 a 20 fmol/mg) mezi pozitivitou a negativitou (3, 14).

Lze předpokládat, že zbývající variabilita po takto provedené eliminaci rozdílných přístupů ke stanovení hranice mezi ER (+) a ER (-) v rámci vybraného způsobu zpracování excizí je z části způsobena mezilaboratorními rozdíly v přesnosti stanovení a z části též věkovými a etnickými rozdíly mezi subpopulacemi. Předpokládáme sice, že každé takto zainteresované pracoviště provádí korekci využití hodnot ER pro terapii v závislosti především na věku, ale své přístupy nepublikovali, mohou se navzájem lišit a není možno porovnávat literatury optimalizovat takovéto korekce. Proto se domníváme, že i u nevelkých, ale stejnorodých statistických souborů může zveřejnění matematické analýzy přispět pomocí dílčích závěrů k řešení této problematiky.



Obr. 1: Závislost estrogenových receptorů na věku v lineární osově soustavě



Obr. 2: Závislost logaritmu estrogenových receptorů na věku

MATERIÁL A METODY

Vyšetřovány byly excize z mammakarcinomů pacientek z regionu spadajícího do radioterapeutické péče pardubické nemocnice. Pacientky lze charakterizovat jako soubor bez významné příměsi genofondu mimoevropských národností a bez pacientek černošského a mongolského původu.

Vyšetření byla provedena na Výzkumném ústavu organických syntéz Pardubice - Rybitví v letech 1993 - 1994 a jsou charakterizována jednotným způsobem zpracování se stejným personálním obsazením laboratoře.

Po homogenizaci na přístroji Ultraturax (IKA Werke) a po ultracentrifugaci ve vakuové chlazené centrifuzě VAC 600 (Janetzki) byla provedena radioreceptorová analýza, využívající ^3H estradiol a aktivní uhlí. Pomocí Scatchardova výpočtu bylo stanoveno množství receptorů a vztaženo ke koncentraci bílkovin v cytosolu.

Ze souboru byly vyloučeny vzorky zpracovatelné jen pro orientační výsledek (např. malé množství tkáně). Po této revizi byly pro studium grafické závislosti použity výsledky 147 pacientek. Soubor nebyl selektován podle stupně pokročilosti choroby, ale nebyly v něm pacientky, léčené před operací Tamoxifenem.

Výsledky ER jsme vynesli do různých typů grafů. Nejprve jde o všechny hodnoty v lineární osově soustavě a dále o totéž pozměněné zlogaritmováním osy y.

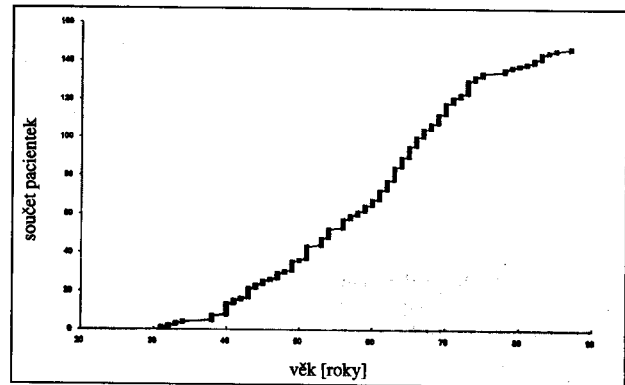
Dále jsme vypočítali překrývající se pětileté mediány ER pro každý rok a v obdobném grafu pak pětileté průměry \ln ER (po zprůměrování odlogaritmované a tak vrácené do oboustranně lineární osově soustavy). Při těchto sumarizačních výpočtech jsme tolerovali jednoletou mezeru v datech. Jestliže však chyběly údaje v dvou sousedních letech, výpočet jsme neprováděli a v grafu pak ponechali mezeru.

Jemnější výpočty a korekce jsme neprováděli vzhledem k malému počtu pacientek.

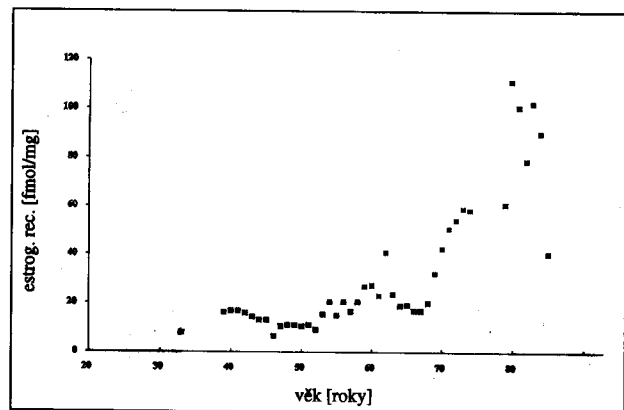
VÝSLEDKY

V lineární i semilogaritmické osově soustavě naše grafy (č. 1 a 2) závislosti ER na věku ukazují jednoznačně, že jde o vztupnou funkci. Umístění hodnot v grafech naznačuje, že v různých věkových kategoriích mají hodnoty ER přibližně logaritmicko-normální rozložení. Nejvyšší odlehle hodnoty u čtyřicetiletých a mladších pacientek jsou přibližně desetkrát nižší než nejvyšší odlehle hodnoty starších - nad 60 let. Po 63. roce se ohraničení horní části našeho statistického souboru již nezvyšovalo, ale spíše snižovalo.

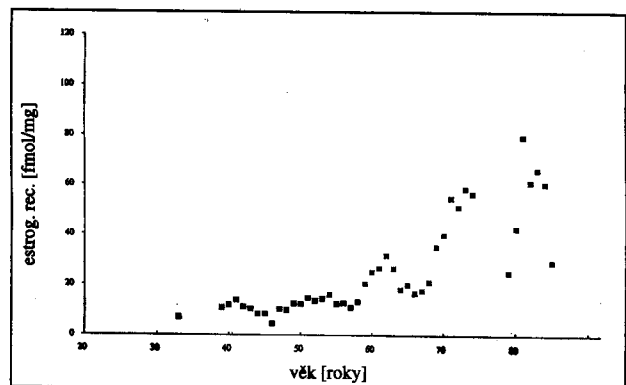
Náš graf věkového pořadí klinické manifestace, resp. stáří v době operace (č. 3) zobrazuje četnost jednotlivých věkových skupin způsobem, který je pro malé soubory jednodušší a přesnější, než snaha sestavit Gaussovu křivku. Jde vlastně o její integrál, který by měl mít uprostřed nejvertikálnější průběh



Obr. 3: Závislost kumulativní četnosti pacientek na věku



Obr. 4: Závislost pětiletých mediánů ER na věku



Obr. 5: Závislost pětiletých In-průměrů na věku

(inflexní bod místo vrcholu Gaussovy křivky), kdyby se jednalo o normální rozdělení. Z tohoto grafu kumulativní četnosti vyplývá, že nekumulativní četnost nových případů v našem statistickém souboru je přibližně stejná od 40 do 75 let věku. Od 60 do 75 let je jen poněkud vyšší, neboť proložená čára v grafu č. 3 je nepříliš nápadně strmější.

Z toho usuzujeme, že v grafech 1 a 2 tedy vzestup horních odlehých hodnot ER kolem 50 a pak znovu kolem 60 let není způsoben nárůstem četnosti, ze které by vyplývala větší pravděpodobnost výskytu extrémních hodnot. Z tohoto usuzujeme, že zastavení nárůstu horních odlehých hodnot našeho statistického souboru po 63 letech zase není způsobeno menším počtem pacientek mezi 65 a 75 lety.

Grafy závislosti mediánů a logaritmičeských průměrů ER na věku (č. 4 a 5) sice naznačují možnost skokové změny ER vlivem nástupu menopauzy (kolem 50 let), ale úspěšnější by se zřejmě dala hájit hypotéza, že jde o změny plynulé a výkyvy náhodné. Rozhodně jde o změny nevelkou. Jako pravděpodobnější se jeví úvaha, že ER stoupá mnohem prudčeji v dalších věkových obdobích. Tak jsou na konci obou těchto sumarizačních grafů hodnoty ER přibližně pětikrát větší než na jeho začátku. Zároveň se také zvětšují výkyvy mezi některými sousedními roky. Při tom se graf mediánů velmi podobá grafu logaritmičeských průměrů, což svědčí ve prospěch hypotézy, že rozložení ER v rámci každé z věkových kategorií je logaritmičesko-normální.

Tyto grafy (č. 4 a 5) naznačují možnost proložení přímkou v celém věkovém průběhu semilogaritmičeského grafu č. 2, ale zastavení nárůstu (resp. pokles) nejvyšších odlehých hodnot po 63. roce se vymyká z této možnosti (časově neomezené) semilogaritmičeské linearizace - ať již náhodně, nebo zákonitě. V těchto grafech však není vyloučeno proložit čáru zalomenou k příkřejšímu vzestupu např. v 50 letech a je nutno upozornit na zvýšení rozptylu ER spojené s vyšším věkem a uzavřít, že pro zcela přesné proložení regresních čar není náš statistický soubor dostatečně velký.

DISKUZE

1) Vliv klimakteria na ER

Naše grafy dokumentují věkový nárůst ER - časově souvisící s úbytkem estrogenů v krvi. To je v souladu spíše s novějšími než se staršími literárními údaji o hranici mezi ER (+) a ER (-).

Pomineme-li ty údaje z literatury, které nerespektují vliv věku, lze naopak uvést práce, posuzující přímou závislost ER na věku jako „zlomovou“. Jde např. o rozdílnou hranici mezi ER (+) a ER (-) pro premeno- a postmenopauzální pacientky (16, 17). Avšak některé práce z tohoto desetiletí, které jsou dokumentovány grafem vzestupné závislosti ER na věku, sice tak respektují mnohem detailněji věkové rozdíly, ale řeší tuto závislost jako nezlomovou pomocí lineární regrese logaritmičeských hodnot ER (1, 6). Logaritmičeská stupnice ER v jejich grafech sice umožňuje alespoň formálně použít gaussovskou lineární regresi, ale zakrývá nebo znevýrazňuje i desetinasobné rozdíly ER mezi horními odlehlými seskupeními různých věkových kategorií, v oblasti poměrně přesných výsledků mezi 10 a 1000 fmol/mg. Naopak zvýrazňuje chyby v oblasti nízkých výsledků na hranici použitelnosti biochemické metody. Provedení lineární regrese po logaritmování ER obou citovaných souborů sice umožnilo autorům použít snazší porovnání nebo lepší zobrazení jednotlivých podskupin, ale autoři neuvádějí v textu, že jejich způsob zpracování je univerzální pro tuto problematiku, nebo, že závislost na věku je nezlomová. Nicméně jejich zjednodušení je natolik sugestivní, že považujeme za užitečné detailněji probrat tuto problematiku. K jejímu řešení nás vedla potřeba vstihnout co nejpřesněji věkové změny rozhraní mezi ER (+) a ER (-), což má význam pro způsob léčení a prognózu.

Proti jejich hypotéze o možnosti proložit nezlomenou přímkou hodnotami ER v celém věkovém průběhu logaritmičeských hodnot ER lze postavit hypotézu, že proložená čára by mohla být esovitého tvaru s pre- a postperimenopauzálním zalomením.

Jedná se o teoretický předpoklad, který opíráme o údaj z literatury, že kolem období klimakteria dochází ke zlomovému lineárnímu poklesu koncentrace estrogenů v krvi po 40. roku věku, který se vrací do horizontálního směru před 60. rokem blízko nulových hodnot (11). Z toho - na základě nepřímé závislosti mezi krevní hladinou estrogenů z vaječnicků a ER v mléčné žláze lze uvažovat o možnosti nápadného nárůstu ER, který by se měl teoreticky zastavit ve stejném věkovém období, kdy se zastaví pokles estrogenů, aby si buňky zachovaly přibližně stejnou úroveň hormonálního signálu. Jako jeden z opěrných bodů pro tuto hypotézu je možno citovat, že procento ER (+) buněk se v karcinomech prsu během perimenopauzy prakticky nemění, ale zvyšuje se intracelulární koncentrace ER se zvyšujícím se věkem (2, 5, 18).

Z prací (16 a 17), rozlišujících premeno- a postmenopauzální hodnoty ER prahu je možno usuzovat, že kolem menopauzy (tedy v blízkosti 50 let věku) autoři nacházeli trojnásobný vzestup hodnot ER. Spíše se ale domníváme, že jde jen o jejich „uzanční“ zaokrouhlené rozdělení pacientek a že nepředpokládají vliv progesteronu a tedy ani menopauzy na ER. Ani v našich výsledcích jsme nepozorovali „dramatický“ vzestup v rozmezí např. dvou let kolem menopauzálního věku 50 let, ale dosti plynulý vzestup od 40 do 60 let a to spíše jen v odlehých vysokých hodnotách ER. Mediány se nepravidelně zvyšovaly i po 60. roku věku.

Pokud by trojnásobný rozdíl mezi premenopauzálním a postmenopauzálním rozhraním mezi ER (+) a ER (-) z literatury (16 a 17) mohl být chápán jako rozdíl mezi středem premenopauzálního a postmenopauzálního věkového období, korespondovalo by to s naším pětinasobným rozdílem mezi začátkem a koncem křivek v našem mediánovém a logaritmičeskoprůměrovém grafu (č. 4 a 5).

Na základě našeho mediánového a logaritmičeskoprůměrového grafu se více zamýšlíme nad závěry autorů, prosazujících nezlomový věkový vzestup ER i po 60. nebo 70. roce. V našich grafech č. 1 a 2 (vykreslujících každou jednotlivou hodnotu) vykazovaly zastavení vzestupu jen horní odlehlé hodnoty. Je tedy nutno uvažovat i o možnosti zviklat náš dřívější předpoklad, že po 60. roce věku již ER nestoupá, když hodnoty estrogenů podle literatury (11) nemají kam klesat. Není totiž vyloučeno, že estrogeny jsou i po 60 letech v krvi přítomné, ale v nepatrných koncentracích, dále klesajících pod detekčními možnostmi biochemických metod, na nichž byly založeny údaje citované práce. Ale i v takovém případě má smysl hledat, zda dojde k linearizaci v pozdějším období. Horní meze schopnosti tvořit ER by mohly být odhaleny vyšetřením nádorů prsu nebo jejich metastáz po ovariectomii.

2) Teoretické důvody k výjimkám z převažujícího směru závislosti

V literatuře jsme se s detailním rozбором výsledků ER setkali jen ojediněle a souvisí i s otázkou zvyšování přesnosti použitých metodik. Např. Mobbs a spol. (12) pomocí stejného biochemického postupu s naším popsali logaritmičesko-normální rozložení hodnot ER ve svém statistickém souboru, kdežto pomocí enzymoimunoanalýzy výraznou bimodalitu ER. Tak by bylo možno očekávat, že se hodnoty ER budou seskupovat do čar, paprscitě rozložených kolem věkové spojnice mediánů. V našich výsledcích jsme však pozorovali spíše seskupení s opačnou šikmostí - např. právě horní ohraničení našeho statistického souboru a pod ním znovu - seskupení vysokých hodnot.

Z hlediska čárových seskupení např. vysokých hodnot ER v grafu jednotlivých nádorů je nutno uvést, že takovýto nálezy jsme schopni podpořit různými fyziologickými hypotézami, ale zatím nemůžeme vyvrátit statistickou hypotézu o náhodnosti takovýchto seskupení v našem souboru výsledků. Nicméně i v grafech citovaných prací (1 a především 6) vykazují pravé horní ohraničení jejich statistických souborů obdobný statisticky nepřilíživý prokazatelný zlom věkového nárůstu jako v našich grafech č. 1 a 2.

Jedním z mechanismů u nichž by bylo vhodné řešit závislost klinické manifestace na věku je vliv imunologického dozoru. Biochemickým projevem tohoto vlivu by bylo větší množství (ER neobsahujících) bílkovin (mg) z přítomnosti např. bílých krvinek nebo nekrotizované tkáně - na úkor nádorových ER (+) buněk. Hodnota ER v takovýchto nádorech (která je podílem ER ve fmoL na mg bílkovin) by podle této hypotézy měla být nižší u pacientek, jejichž nádory se vlivem nadprůměrného imunitního dozoru manifestují až v pozdějším věku, neboť zánětlivý infiltrát nemá ER a jen zvětšuje jmenovatele zlomu fmoL/mg. Tím by ale mohla být u některých pacientek maskována hormonální závislost a léčitelnost. Pokud by se jednotlivé podtypy nádorů sdružovaly v grafu závislosti ER na věku do podskupin, pak vlivem imunity by se takovéto shluky bodů rozvíjely do šikmo klesajících čar.

V té části každé skupiny (uvažované v předchozím odstavci), kde jsou místo nadprůměrné imunity naopak nádory s nadprůměrným % ER (+) buněk, předpokládáme, že vlivem těchto opačných vlastností v rámci skupiny je u takto charakterizovaných nádorů vyvolán opačný směr posunu v grafu závislosti ER na věku, resp. urychlení klinické manifestace karcinopromotivním vlivem ER. Lze tedy zároveň i předpokládat stejný vliv na šikmost skupin bodů v grafu, představujících nádory obdobného typu, pokud nejde o období vysoké ovariální činnosti (viz poslední odstavec tohoto bodu č. 2 Diskuse). V dostupné literatuře jsme se s touto myšlenkou v přesně této podobě nesetkali a svou úvahu opíráme především o výsledky dotýkající se prognózy pacientek u všech autorů. Předpokládáme, že má-li hladina receptorů vliv zodpovědný za prognostický význam po klinické manifestaci nádoru, má analogický vliv i před ní. Jestliže pak kastrace a blokáda ER antiestrogenní léčbou působí proti růstu ER (+) nádorů, je nutno připustit, že nadměrná přítomnost ER urychluje nadměrné množení buněk v prekancerózách. Tudiž že urychluje i jejich klinickou manifestaci.

Jinými slovy - jestliže některé z prekanceróz obsahují např. větší % ER (+) buněk, dostávají při stejné hladině hormonů více hormonálních proliferčních impulsů a tak by se teoreticky měly dříve manifestovat jako nádory. Tomu odpovídá poměrně častý nálezy nádorů kolem 40. roku v našich grafech. Ten lze demonstrovat v grafu č. 3 věkového pořadí. Pokud by byl derivován na nekumulativní četnostní graf, nevznikla by Gaussova křivka, nebo dvě za sebou, ale po počátečním pozvolném nárůstu příkře stoupající a ostře se lámající čára, tvaru jednoho, nebo dvou schodů. Je však obtížné vyjádřit se zde ke statistické spolehlivosti.

Chrenko a spol. (10) uvádí obdobný celorepublikový graf závislosti incidence na věku s prudkým nárůstem také již kolem 40. roku, avšak nejde pravděpodobně jen o nově se manifestující případy. Přesnost závěrů z tohoto grafu omezují citováním práce Cope a spol. (4), že pacientky odkládaly návštěvu lékaře od 4 měsíců do 5 let (u 37 nemocných ze 131).

Není vyloučeno, že prekancerózy s nejvyššími % ER (+) buněk se začínou zvrhávat již v premenopauzálním období, čímž se rychlost jejich karcinogeneze znásobí vlivem vyšších koncentrací estrogenů. Tentýž (v časnějším věku silnější) hormonální vliv brzdí zpětnou vazbou tvorbu ER, která tak zdaleka nedosáhne úplného (postklimakterického) rozsahu. Tím může dojít k diagnostickému omylu, neboť fungující hormonální

závislost je tak pro biochemika maskována a u těchto premenopauzálních nádorů nezjistíme vysoké hladiny ER. Hladinami ER u fibrocystické mastopatie jako u nejznámější prekancerózy prsu se zabývali Salazar a Calzada (15) a diskutují o nich v návaznosti na ovariální disfunkci a na hladinu hormonů v krvi.

3) Podklady ke stanovení hranice mezi ER (+) a ER (-)

Antiestrogenní terapie karcinomů předpokládá, že nádorové buňky reagují na hormony podle stejných zákonitostí, jako původní žlázo tkáň. Lze tedy sice uvažovat o postupné involuci žlázo tkáň postupem věku, ale zároveň je nutno připustit, že tkáň mléčné žlázy je schopna změnou tvorby receptorů zmírňovat důsledky výkyvů hladiny estrogenů, a tak alespoň částečně udržet svůj stupeň diferenciace při kolísání hormonální funkce vaječnicků. Hodnoty v našich grafech č. 1 a 2 se však prakticky neshlukují kolem mediánů do paprsků, které by mohly rozčlenit nádory na podtypy, vhodné pro rozlišení mezi ER (-) a ER (+) a mezi různými stupni ER pozitivitu. Ani proložení vrstevnic četnosti kolem mediánů by nebylo hladké, stejnětak jako nejsou hladké spojnice mediánů samotných. To lze vysvětlit nejen vysokým rozptylem a malým počtem hodnot, ale také tím, že do karcinogeneze zasahují přidatné faktory.

Přesto, na základě histochemických citací o zvýšení koncentrace ER v ER (+) buňkách (2, 5, 18) i na základě našich grafů se domníváme, že např. premenopauzální mammakarcinom s nízkou hladinou ER by vlivem přechodu do postmenopauzálního věku nebo vlivem kastrace mohl získat vysokou hladinu receptorů, aniž by se kvalitativně změnila jeho schopnost k hormonální závislosti.

Zde je nutno uvést, že již před 10 lety obdobné stanovisko zaujali Skoog a spol. (1987). Po přepočtu (13) by se hranice pozitivitu Skooga a spol. pohybovaly pro premenopauzální kolem 2 fmoL/mg a pro postmenopauzální přibližně 6 fmoL/mg. Obdobně Vij a spol. (1990) určili hranici pozitivitu 3 fmoL/mg pro premeno- a 10 fmoL/mg pro postmenopauzální. Skutečnost, že v naší práci se objevují rozdíly desetinásobné je způsobeno tím, že jako o dělicím období neuvažujeme o menopauze, ale o perimenopauze. Desetinásobné rozdíly jsme sice původně uvedli pro nejvyšší odlehle hodnoty, ale ze zákonitostí o logaritmicke-normálním rozdělení nevyplývá, že by rozdíly mediánů měly být menší než desetinásobné, pokud není situace zkomplikována extrémním nedostatkem hodnot. Nicméně v našem logaritmicke-průměrovém ani mediánovém grafu jsme pozorovali jen přibližně pětinasobné rozdíly ER pro uvažovaný věk.

Vzhledem k tomu, že stáří pacientek je průměrně přibližně 60 let a hodnota mediánů v tomto stáří je přibližně 20 fmoL/mg a že u publikací, které nerespektovaly věk a určily hranici mezi pozitivitou a negativitou 10 fmoL/mg, lze uvažovat, že tuto hranici lze položit i v ostatních věkových obdobích také na 1/2 z příslušných mediánů. Tuto úvahu však zatím považujeme za orientační. Z opatrnosti bychom použili 1/4. Při jiném zaměření „korekce z opatrnosti“ lze vzít v úvahu možnost karcinopromotivního účinku ER, který by mohl zvyšovat nejen premenopauzální četnost nádorů, ale i vliv takto věkově přesunutých ER poměrně bohatých nádorů na mediány ER. Také proto jsme v minulých letech uvažovali o desetinásobném rozdílu mezi pre- a postklimakterickou hranicí pozitivitu ER - i když karcinopromotivní účinek ER zatím jen nezávazně předvídáme bez řádných statistických důkazů.

4) Vývoj způsobu interpretace výsledků ER

Zde je vhodné uvést, že původní názory byly takové, že v premenopauzálním věku vznikají většinou jen ER (-) nádory. Jako jeden z opěrných bodů pro vyvrácení této původní domněnky je třeba opakovaně citovat, že procento ER (+) buněk se během

perimenopauzy prakticky nemění, ale zvyšuje se intracelulární koncentrace ER (2, 5, 18).

Kolem roku 1985 byl Tamoxifen preferován pro postmenopauzální ER (+) pacientky s postiženými uzlinami, ale během dalších dvou let byly publikovány studie potvrzující úspěšnost léčby tímto preparátem nezávisle na menopauzálním stavu (19).

Věková závislost změny hranice mezi ER (+) a ER (-) byla v literatuře přijímána překvapivě pomalu - jak již jsme popsali v úvodu. Rozdíly mezi premeno- a postmenopauzálními hranicemi pro ER pozitivitu navrhli sice Skoog a spol. již v r. 1987 (16), ale mnozí autoři se tím dlouho neřídili. Plynulé prokládání regresní čáry hodnotami ER v závislosti na věku publikovali v r. 1991 Bezwoda a spol. (1) a v r. 1992 Giuffrida a spol. (6). My jsme se brzy po zavedení metodiky v r. 1993-4 pokusili odvodit věkovou změnu hranice mezi ER (+) a ER (-) z obav před mezilaboratorními rozdíly - pokud možno nezávisle na převládajícím trendu literatury. Při tom jsme také již předpokládali pozvolný nárůst ER místo menopauzálního zvratu - i když jen od 40 do 60 let. To jsme odpřednášeli na semináři pardubické biologické společnosti v r. 1995, vycházejíce převážně z teoretických úvah o esovitém tvaru věkové závislosti tohoto rozhraní. Tytéž laboratorní výsledky jsme nyní přepracovali s větším využitím matematických přístupů. Nejsprávněji by se však problematika prahu dala řešit křivkami přežití a bezkomplikacího období v rámci statistiky izolovaných skupin u stejně starých pacientek. Domníváme se, že některá pracoviště v současnosti mají již tak velké statistické soubory, že by mohla sestavit statisticky spolehlivé grafy závislosti přežití na ER alespoň pro každé pětileté období věku zvlášť. Jinou možností, jak přispět k řešení těchto problémů je kombinace výsledků ze subcelulárního homogenátu (fmol/mg) s imunohistochemií (% ER pozitivních buněk) - vždy u nádoru téže pacientky.

5) Rozdíly ve výsledcích jednotlivých autorů

Jak medián tak logaritmický průměr ER (grafy č. 4 a 5) u našich nejstarších pacientek leží kolem 80 fmol/mg. Proložení přímky po zlogaritmování (graf č. 2) bychom dostali teoretický průměr pro naše nejstarší pacientky přibližně v téže oblasti.

Statistický soubor Bezwody a spol. (1) je mimo jiné charakterizovaný tím, že neměli žádnou pacientku nad 75 let, kdež-

to v práci Giuffrida a spol. (6) byl věk nejstarší pacientky v době operace téměř 90 let. Přesto vrchol přímky, kterou proložili (přibližně - teoretická střední hodnota ER pro nejstarší pacientky) je v práci Bezwody a spol. (1) nečekaně vyšší (kolem 1000 fmol/mg) než v práci Giuffrida a spol. (6), kteří uvádějí vrchol proložené přímky u nejstarších pacientek kolem 50 fmol/mg.

Hlavní možností, jak vysvětlit rozdíly mezi citovanými pracemi je klinická forma nádorů, celkový klinický stav a způsob léčení před operací. Bezwoda a spol. (1) vybral pro svou studii 415 pacientek ve velmi širokém klinickém stavu s metastázami nebo s recidivou (pravděpodobně pooperační). U nich přichází v úvahu předčasný spontánní nástup menopauzy nebo terapeutická kastrace. Toto však autoři nespécifikovali, přestože to může být hlavní důvod pro neobvykle vysoké hodnoty ER ve srovnání s takto neselektovaným souborem Giuffridovým (615 pacientek) nebo našim. Jiným důvodem může být větší invazivita nádorů, mají-li extrémní množství ER již před menopauzou nebo kastrací.

Bezwoda a spol. (1) ve svém jihoafrickém statistickém souboru téměř nenacházeli hodnoty pod 10 fmol/mg u pacientek starších padesáti let - narozdíl od obdobně starých italských pacientek (6). I to však může být vyvoláno nenáhodným výběrem pacientek k vyšetření. Teprve po zvážení rozdílů v klinickém stavu je třeba uvažovat o možnosti a velikosti vlivu mezilaboratorních, etnických nebo sociálních rozdílů na ER. Naše výsledky se podobají spíše podobají Giuffridovým.

DODATEK

Poděkování patří především Prim. MUDr. J. Dostálové z pardubické nemocnice, která pro období, kdy bylo v sousední hradecké nemocnici vyšetření receptorů na přechodnou dobu opuštěno, iniciovala zavedení těchto metod na Výzkumném ústavu organických syntéz Pardubice - předchozím pracovištěm autora.

Děkuji též doc. RNDr. V. Semeckému, CSc. z naší katedry za podporu v dořešení této problematiky. Za podnětné připomínky ze statistického hlediska děkuji doc. Klemérovi z naší fakulty.

Za pečlivé zpracování excízi děkuji paní Holdíkové z VÚOS Pardubice.

Literatura:

1. Bezwoda W. R., Esser J. D., Dansey R., Kessel I., Lange M.: The value of estrogen receptor and progesterone receptor determinations in advanced breast cancer. Estrogen receptor level but not progesterone receptor level correlates with response to tamoxifen. *Cancer* 68, 867-72, 1991.
2. Bur M. E., Zimarowski M. J., Schnitt S. J., Baker S., Lew R.: Estrogen receptor immunohistochemistry in carcinoma in situ of the breast. *Cancer*, 69, 1174-81, 1992.
3. Ciatto S., Palli D., Iossa A., Pacini P., Cataliotti L., Distanti V., Teglia C., Caridi G., Messeri G.: Prognostic significance of Estrogen receptor determination in primary breast cancer. *Radiother. Oncol.*, 12, 187-192, 1988.
4. Cope O., Wang C. A., Chu A. a spol.: Limited excision as a basis of a comprehensive therapy for cancer of the breast. *Am. J. Surg.* 1976, 131-400.
5. Gaskell D. J., Sangster K., Tesdale A. L., Carson D., Hawkins R. A.: Change in the estrogen receptor status of breast cancer with age-comparison of two types of assay. *Br. J. Cancer*, 66 (4), 610-613, 1992.
6. Giuffrida D., Lupo L., LaPorta G. A., LaRosa G. L., Padova G., Foti E., Marchese V., Belfiore A.: Relation between steroid receptor status and body weight in breast cancer patients. *Eur. J. Cancer*, 28, 112-15, 1992.
7. Harlan L. C., Coates R. J., Block G., Greenberg R. S., Ershow A., Forman M., Austin D. F., Chen V., Heymsfield S. B.: Estrogen receptor status and dietary intakes in breast cancer patients. *Epidemiology*, 4, 25-31, 1993.
8. Horáček P.: Nádorové markery - estrogenové receptory v karcinomech prsu žen. Diplomová práce - školitel Hochmann J., katedra biologických a lékařských věd, farmaceutická fakulta University Karlovy, Hradec Králové, 1997.
9. Hurlimann J., Gebhard S., Gomez F.: Oestrogen receptor, progesterone receptor, pS2, ERD5, HSP27 and cathepsin D in invasive ductal breast carcinomas. *Histopathology*, 23, 239-248, 1993.
10. Chrenko V., Pačovský Z., Žaloudík J., Kašťák B., Coupek P.: Psychologické aspekty u rakoviny mléčné žlázy. *Klinická onkologie* 3, 22-24, 1990.
11. Kobilková J., Siračský J., Králková A., Dvořák O., Smetana K., Lojda Z.: Cytodiagnostika v gynekologii. *Avicenum, Praha*, str. 46, 1990.
12. Mobbs B. G., Champan J. A., Sutherland J. D., Ryan E., Sustanoff E. R., Teik C. O., Murthy P. V. N.: Evidence for bimodal distribution of breast carcinoma ER and PgR values quantitated by enzyme immunoassay. *Eur. J. Cancer*, 29 A, 1293-97, 1993.
13. Remvikos Y., Magdelenat H., Dutrillaux B.: Genetic evolution of breast cancer. III: Age dependent variations in the correlations between biological indicators or prognosis. *Breast Cancer Res. Treat.* 34, 25-33, 1995.
14. Ruder A. M., Lubin F., Wax Y., Geier A., Alfundary E., Chetrit A.: Estrogen and progesterone receptors in breast cancer patients. Epidemiologic characteristics and Survival differences. *Cancer*, 64, 196 až 202, 1989.
15. Salazar E. L., Calzada L.: The role of estradiol and progesterone receptors in the selection of endocrine therapy of patients with fibrocystic mastopathy. *Ginecol. Obstet. Mex.* 1, 132-5, 1993.
16. Skoog L., Humla S., Axelsson M., Frost M., Norman A., Nordenskjöld B., Wallgren A.: Estrogen receptor levels and survival of breast cancer patients. A study on patients participating in randomized trials of adjuvant therapy. *Acta Oncologica* 26, 95-100, 1987.
17. Vij U., Murugesan K., Kapur B. M. L., Sarin R., Dhawan I. K., Farooq A.: Functional estrogen receptors as biochemical marker for the detection of hormone-dependent breast cancer. *J. Surg. Oncol.*, 43, 13-18, 1990.
18. Walker K. J., McClelland R. A., Candlish W.: Heterogeneity of oestrogen receptor expression in normal and malignant breast tissue. *Eur. J. Cancer*, 28, 34-37, 1992.
19. ZENECA: Nolvadex (tamoxifen) in the treatment of breast cancer. ZENECA Pharmaceuticals, England 1993

TROPISETRON V PROFYLAXI NEVOLNOSTI A ZVRACENÍ U PACIENTŮ S VYSOKODÁVKOVANOU CHEMOTERAPIÍ

PROPHYLAXIS WITH TROPISETRON FOR NAUSEA AND EMESIS IN PATIENTS UNDERGOING HIGH DOSE CHEMOTHERAPY

ŘIHÁČKOVÁ P., MAYER J.

INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA, FN BRNO BOHUNICE

Souhrn:

Východiska: Transplantaci kostní dřeně a periferních kmenových buněk předchází myeloablativní chemoterapie se silným emetogenním potenciálem. Použití antagonistů 5-HT₃ receptorů může výrazně snížit emetogenitu vysokodávkovaných cytostatik blokadou serotoninových receptorů v horní části trávicího traktu, v centru pro zvracení a chemorecepční spouštěcí zóně.
Typ studie a soubor: V roce 1996-1997 proběhla na našem pracovišti prospektivní studie s použitím antagonisty 5-HT₃ receptorů, tropisetronu, u pacientů léčených vysoce emetogenní chemoterapií. Do sledovaného souboru byli zařazeni nemocní, kteří obdrželi léčebné režimy obsahující cisplatinu, vysoké dávky cyklofosfamidu, ifosfamidu, cytarabinu, busulfanu, metotrexátu, melfalanu a karmustinu.

Metody a výsledky: 96 pacientům o průměrném věku 43 let byla podána parenterální forma 5mg/5ml tropisetronu pomalu nitrožilně 15-30 minut před zahájením aplikace cytostatik, doplněná u senzitivních nemocných ještě alprazolamem a dexametazonem. V prvních 24 hodinách po podání chemoterapie mělo kompletní odpověď na antiemetikum 83% nemocných, den po ukončení léčby pak 71% pacientů, kteří tvoří skupinu s kompletní antiemetickou kontrolou. U 21% nemocných byla odpověď na antiemetickou podporu pouze částečná, u 8% pacientů nebyly emetogenní vlivy vysokých dávek cytostatik zvládnuty. Ve sledované skupině se projevíly tyto nežádoucí účinky: bolesti hlavy u 2 nemocných, u 1 nemocného průjem a u 1 pacienta exantém.

Závěry: Tropisetron je dostačujícím antiemetikem a lze ho s velmi dobrým efektem použít u předtransplantačních emetogenních režimů.

Klíčová slova: Navoban - tropisetron, nevolnost, zvracení, vysokodávkovaná chemoterapie

Summary:

Background: Myeloablative high dose chemotherapy with a high emetogenic potential precedes bone marrow transplantation. 5-HT₃ receptor antagonists reduce emetogenicity of high dose chemotherapy, blocking serotonin receptors in the upper part of the digestive tract, in the emetic centre, and in the trigger zone.

Design and Subjects: In 1996-1997 we performed a prospective study using the 5-HT₃ receptor antagonist, tropisetron, which was administrated to the patients treated with highly emetogenic regimens. Patients obtained regimens with cisplatin, ifosfamide, cyclophosphamide, cytarabine, busulphan, methotrexate, melphalan and carmustine.

Methods and Results: 96 patients of average 43 years received intravenous 5mg/5ml tropisetron 15 - 30 minutes before starting chemotherapy. Sensitive patients had an antiemetic combination with dexamethasone and alprazolam. 83% patients had a complete response to tropisetron on the first day, 71% patients one day after ending the study. 8% patients were bedridden due to nausea and vomiting. Patients had these adverse events: headache 2 patients, diarrhoea 1 patient, exanthema 1 patient.

Conclusion: It is possible to use tropisetron during high dose emetogenic chemotherapy with a very good effect.

Key words: Navoban - tropisetron, nausea, emesis, high dose chemotherapy

Úvod

Anorexie, nevolnost a zvracení mohou být průvodním příznakem samotného nádorového onemocnění, ale častěji se objeví teprve v průběhu protinádorové léčby, zejména při aplikaci chemoterapie (1). Snaha o zlepšení výsledků v onkologii vedla k zavedení agresivnějších léčebných kombinací a k nárůstu dávek jednotlivých cytostatik. Toto zvýšení s sebou přináší i častější výskyt nežádoucích účinků (2). Za jedny z nejobávanějších akutních komplikací z pohledu pacienta lze pokládat nevolnost a zvracení (3). I když tyto nežádoucí účinky nepředstavují přímé ohrožení pacientova života, vedou k významným subjektivním obtížím. Opakované či trvalé zvracení může vyústit v dehydrataci a poruchu iontového metabolismu. Uvedená fyzická a psychická zátěž může pak vyvolat odmítavý postoj pacienta k další mnohdy život zachraňující terapii (4). Tyto argumenty vedou k nutnosti eliminovat nebo alespoň omezit nežádoucí vlivy silných emetogenů, kterými vysokodávkovaná cytostatika bezesporu jsou. Z gastrointestinálního traktu, vestibulárního ústrojí, některých oblastí CNS a chemorecepční spouštěcí zóny jdou aferentními vlákny prostřednictvím neurotransmiterů emetogenní

impulzy do centra pro zvracení a odtud pak eferentními vlákny k výkonným orgánům (bránice, svaly stěny břišní, jícen, žaludek, dvanácterník). Výsledkem je ejekční fáze zvracivého reflexu. Přenos emetogenních impulsů se děje činností mediátorů a jejich receptorů, z nichž významné postavení patří serotoninu - 5 hydroxytryptaminu (5-HT₃). 5-HT₃ antagonisté přerušují serotoninem aktivované obvodové receptory v horní části trávicího traktu, inhibují aferentní dráhu z enterochromafinních buněk středních do mozkového kmene prostřednictvím nervus vagus a blokují 5-HT₃ receptory v centru pro zvracení a chemorecepční spouštěcí zóně, z čehož vyplývá jejich vliv na integrující úsek zvracivého reflexu (5). Klinická dostupnost selektivních antagonistů 5-HT₃ receptorů znamená výrazný průlom v terapii těžké emeze. V medicínské literatuře se objevují práce, které poukazují na efektivitu jak perorální, tak nitrožilní formy antagonistů 5-HT₃ receptorů včetně dolasetronu u vysokodávkované chemoterapie (6,7,8). Cílem naší studie bylo ověřit si právě tropisetron u vysokodávkovaných cytostatik se silnou emetogenní potencí, který je svým antiemetickým působením srovnatelný s ondansetronem a má minimum doposud známých nežádoucích účinků (9).

Ve snaze zesílit antitumorózní efekt byla do lékařské praxe uvedena vysokodávkovaná protinádorová chemoterapie, která má i výraznější emetogenní potenciál (10). V naší práci jsme si chtěli ověřit údaje o antiemetické odpovědi tropisetronu v jedné denní nitrožilní dávce (5 mg/24hod) u vysoce emetogenního režimu tak, jak je uvádí zahraniční literatura (11,12).

Metoda studie

Do studie s tropisetronem byli zařazeni nemocní s nádorovou chorobou ve věkovém rozmezí 20 - 65 let. Ve všech případech se jednalo o pacienty již cytostatiky léčené, kterým byla podána parenterální forma 5mg/5ml tropisetronu pomalu nitrožilně 15 - 30 minut před zahájením aplikace cytostatik buď v monoterapii nebo v kombinaci s dexametazonem a benzodiazepiny. Kombinovaná antiemetická léčba byla ordinována pacientům, kteří strádali silnou nevolností a zvracením při předchozí protinádorové léčbě. Odezva na antiemetickou terapii v průběhu sledovaného režimu byla hodnocena samotným pacientem a lékařem ve 24 hodinových intervalech po dobu celého léčebného protokolu a ještě následující den po něm. Nevolnost a zvracení během prvních 24 hodin bylo označeno jako akutní, v následujících hodinách a dnech jako pozdní. Nevolnost byla hodnocena jako nepřítomná nebo mírná, která neovlivnila běžný režim nemocného, střední, která již zasáhla do denního života, a těžká, která jej upoutala na lůžko. Zvracení bylo popsáno jako nepřítomné, což představuje kompletní kontrolu bez výskytu emetických příhod, nebo přítomné v podobě 1 - 4 epizod zvracení během jednoho dne, kdy jde pouze o částečnou odpověď na antiemetické léčivo a bez odpovědi, kdy se jednalo o 5 a více epizod zvracení. Všechny údaje byly ošetřujícím lékařem shrnuty do zprávy a číselně zhodnocena efektivita a snášenlivost tropisetronu. Ke shrnutí všech nezbytných faktů sloužila pacientova karta, obsahující monitorování nevolnosti a zvracení po dobu šesti dnů, sloupec pro nežádoucí účinky, efektivitu a toleranci tropisetronu.

Výsledky

96 pacientům, 63 mužům a 33 ženám o průměrném věku 43 let bylo aplikováno 96 cytostatických protokolů. 29 pacientů mělo mnohočetný myelom, 22 se léčilo s Hodgkinovou nemocí, 13 s ne-Hodgkinským lymfomem, 12 s nádorem varlete, 4 s nádorem prsu, 11 s akutní myeloidní leukemií, zbylých 5 nemocných tvořili pacienti s ALL a karcinomem plic. Podrobnější charakteristiku jednotlivých režimů uvádí tabulka č. 1.

Tabulka 1.

Přehled chemoterapeutických protokolů

	Chemoterapie + dávky + dny podávání (den = d.)	počet nemocných
Cyklofosfamid	2500 - 5000 mg/m ² d. 1. (-2.)	30
Melfalan	140 - 200 mg/m ² d. 1.	21
MINE	Ifosfamid 1700 mg/m ² d. 1.-3. Mitoxantron 10 mg/m ² d. 1. Etoposid 175 mg/m ² d. 1.-3.	11
VIM	Ifosfamid 1200mg/m ² d.1.-5. Metotrexat 30 mg/m ² d. 1a 5 Etoposid 90 mg/m ² d. 1,3,5	10
BUCY 2	Busulfan 1mg/kg á 6h d. 1.-4 Cyklofosfamid 60mg/kg d. 5- 6.	14
BEP	Cisplatina 20 mg/m ² d. 1.-5. Etoposid 100 mg/m ² d. 1.-5. Bleomycin 30 mg/m ² d. 2,8,16	1
VIP	Cisplatina 20 mg/m ² d.1.-5. Etoposid 75 mg/m ² d. 1.-5. Ifosfamid 1200 mg/m ² d. 1.-5.	2
Cytarabin	2000-4000 mg/m ² d. 1.-4.	3
Metotrexat	500 - 1000 mg/m ² d. 1.	3
BEAM	BCNU 300 mg/m ² d.1. Etoposid 800-1200 mg/m ² d.2.-5. Cytarabin 800-1600 mg/m ² d.2.-5. Melfalan 140 mg/m ² d. 6.	1

Zhodnocení výsledného efektu tropisetronu v souvislosti s nevolností a zvracením vykazují následující tabulky (2 a 3).

Z nežádoucích účinků tropisetronu při hodnocení tolerance byl sledován exantém u jednoho pacienta, u dvou bolesti hlavy a u jednoho nemocného průjem. Tyto nežádoucí vlivy jsou běžně vyjádřeny v průběhu aplikace cytostatik, v těchto případech však mohly být způsobeny tropisetronem, jelikož se jed-

Tabulka 2

Ovlivnění nevolnosti tropisetronem - počet pacientů (%)

nevolnost	časná 1. den (%)	pozdní 2.-6. den (%)
nepřítomná	74 (71)	68 (66)
mírná	18 (17)	15 (14)
střední	5 (5)	12 (11)
těžká	3 (3)	5 (5)

Tabulka 3

Ovlivnění zvracení tropisetronem - počet pacientů (%)

zvracení	časné 1. den(%)	pozdní 2.-6. den (%)
nepřítomné	83 (80)	71 (68)
1 - 4 epizody	12 (11)	21 (20)
5 a více epizod	5 (5)	8 (8)

Tabulka 4

Tropisetron v monoterapii a v kombinaci (T = tropisetron, DXM = dexametazon, A = alprazolam)

Antiemetikum	počet pacientů (%)	neúspěšná kontrola (%)
T 5 mg i.v.	59 (61)	5 (5)
T 5 mg i.v. + DXM 2 - 3 x denně 8 mg i.v.	21 (22)	2 (2)
T 5 mg i.v. + DXM 2 - 3 x denně 8 mg i.v.	16 (17)	1 (1)
+ A 1 - 2 mg denně		

nalo o nemocné s opakovaným léčebným režimem ve stejném složení a stejných dávkách, ale rozdílnou podporou antiemetikem při předchozím cyklu. Žádný z těchto nežádoucích účinků nebyl natolik vyjádřen, aby si vynutil vysazení léku. Proto můžeme hodnotit snášenlivost tropisetronu jako velmi dobrou u 92 (96,2 %) pacientů a jako dobrou u 4 (3,8 %) nemocných. Je nutné se zmínit o podávání tropisetronu v monoterapii a v kombinaci. Jelikož byli v souboru zařazeni pacienti, kteří již obdrželi předchozí cytostatickou léčbu, bylo částečně možné předvídat jejich reakci na léčiva s vysokou emetogenní potencií. Proto byl částí z nich aplikován ještě dexametazon 8 mg 2 - 3x denně i.v., ale i alprazolam v dávce 1 mg 2 x denně p. o. Ve stručném přehledu uvádíme monoterapii a kombinace antiemetik v závislosti na emezi pacientů zařazených v našem souboru. (Tabulka 4.)

Diskuze a závěr

Emetogenní efekt vysokodávkované chemoterapie je jedním z nejčastějších akutních nežádoucích účinků. Značná pozornost je v posledních letech věnována antagonistům 5-HT₃ receptorů, které, ač mají rozdílnou chemickou strukturu, receptorovo specifitu a farmakokinetický profil, disponují srovnatelným výsledným klinickým efektem (13). Tropisetron má krom selektivního působení i příznivé farmakokinetické vlastnosti rychlý nástup účinku, dobrou biologickou dostupnost i při perorálním podávání (95%) a dávka léčiva nevyžaduje redukci ani při renální či jaterní nedostatečnosti. V této studii jsme sledovali účinek tropisetronu u 96 nemocných, kteří byli léčení vysoce emetogenní chemoterapií. Vyskyt těžké emeze byl v cel-

skupině velmi malý, větší efekt vykazoval tropisetron při ovlivnění akutních dyspeptických příznaků tak, jak je tomu i u ostatních antagonistů 5-HT₃ receptorů. Uvedené výsledky mohou být ovlivněny předchozí léčbou nemocných a převahou mužského pohlaví, ve srovnání s ostatními studii, uveřejněnými v zahraniční literatuře, jsou však nepatrně lepší. K výhodám tropisetronu oproti standardní antiemetické léčbě patří jednorázová denní aplikace, ať již perorální či injekční.

První studie shrnující efekt tropisetronu v souvislosti s cisplatinou v dávce 70 - 80 mg/m² byly popsány již v roce 1992. V souboru 40 nemocných vykazovalo kompletní odpověď na tropisetron 73 % pacientů v průběhu prvního dne, během následujících dnů však nebyla zvládnuta pozdní emeze a část nemocných s úplnou odpovědí na emetogenní terapii poklesla na 37 % (5). V téže roce byla provedena podobná studie, bylo sledováno pouze akutní zvracení a 62 % pacientů reagovalo kompletně na různou emetogenní léčbu (5). V roce 1994 byla publikována práce provedená v Jeruzalémě, shrnující soubor 11 pacientů, kteří obdrželi přípravné režimy před transplantací kostní dřevě. 81 % pacientů reagovalo kompletní odpovědí na vysokodávkovanou silně emetogenní cytostatickou léčbu při aplikaci tropisetronu (14). The Nordic experience - multicentrická studie švédsko-dánsko-finská o 1051 pacientech vedená Sorbem shrnuje zkušenosti s tropisetronem v 15 severských onkologických centrech, konfrontuje jeho účinek s vysokodávkovaným metoklopramidem, hodnotí jej v monoterapii i v kombinaci se steroidy, rozebírá reakci onkologických nemocných při prvním i opakovaném setkání s protinádorovou terapií, hledá souvislosti mezi emetogenními cytostatiky a věkem, nádorovou diagnózou a individualitou každého jedince. Souhrnně lze uvést, že tropisetron v monoterapii se jeví efektivnější v časně fázi zvracení, tropisetron v kombinaci s dexametazonem vykazuje velmi dobrou odpověď jak v časně, tak pozdní fázi nevolnosti a zvracení. Pacienti léčení režimy bez cisplatin vykazují lepší odpověď na antiemetickou léčbu, než pacienti léčení cisplatinou (gynekologické nádory, nádory mléčné žlázy), kde se jedná převážně o ženy a je vyjádřen spolupodíl anticipace. Nejčastějšími nežádoucími účinky jsou bolesti hlavy a zácpa (15). V září 1995 byly v Luxembourgu předneseny výsledky švýcarské multicentrické studie o 734 pacientech, kterým bylo podáno 2 514 onkologických proto-

kolů různé emetogenity a tropisetron jako prevence nevolnosti a zvracení. Ať se již jednalo o dětské pacienty, či dospělé, nově diagnostikované nebo předléčené, o skupinu s režimy mírně emetogenními i s vysokým potenciálem emetogenity, o hodnocení časně a pozdního zvracení, byla vždy nejčtenější skupina s kompletní kontrolou - 72 - 93% (16). Jednou z posledních aktuálních prací zabývajících se antiemetickými režimy je multicentrická bonnská randomizovaná třiramenná studie, která sleduje efekt tropisetronu v monoterapii první dva dny 5 mg i.v. a poté 10 mg p.o. Druhá větev vychází z podání výše uvedených dávek setronu s metoklopramidem a třetí s dexametazonem. Zatím nejefektivnější se jeví kombinace tropisetron + dexametazon, která vykazuje kompletní kontrolu 80 - 97 % (17). Nelze opomenout práce, které se zabývají srovnáním čtyř nejběžnějších setronových antiemetik, dolasetronu, granisetronu, ondansetronu a tropisetronu. Tuto problematiku se snaží ve své práci rozvést Roila, Ballatori a Tonato z italské Perogie. Autoři rozebírají 22 studií a snaží se interpretovat jejich výsledky. Při retrospektivní analýze narážejí na problémy s odlišným záměrem studií, na nedostatky vyplývající z různých velikostí populací pacientů, různých aplikačních forem 5-HT₃ antagonistů podávaných nikoli v monoterapii, ale v kombinaci apod. Analýza 7 velkých dvojitě slepých klinických studií ukazuje, že není rozdílu v efektivitě i snášenlivosti setronového antiemetika, jsou identické v prevenci nevolnosti a zvracení indukovaného cisplatinou, a proto není třeba jednotlivá farmaka upřednostňovat (18). Ve všech studiích je však určité procento pacientů, kde léčba antagonisty 5-HT₃ receptorů selhává. Určitou možnost, jak řešit tuto situaci, představuje preventivní podání antiemetických kombinací, zejména pak s vyššími dávkami kortikosteroidů, jejichž mechanismus účinku ještě není definitivně objasněn. Předpokládá se zcela odlišný řetězec jednotlivých patofyziologických reakcí, který by mohl potencovat antiemetický efekt 5-HT₃ antagonistů. Z výsledků výše uvedených studií i z výsledků našich vyplývá, že tropisetron lze zařadit mezi účinná a dobře snášená antiemetika a lze jej bez zvláštních opatření podávat všem nemocným, kteří dostávají vysokodávkovanou protinádorovou chemoterapii. Prostý dávkovací program buď jediné injekce nebo jedné tobolky denně činí z tropisetronu ideální lék jak pro podpůrnou terapii v nemocnici, tak pro léčbu ambulantní.

Literatura :

1. KLENER, P.: Protinádorová chemoterapie, Praha: Galén, 1996, 240-264.
2. MAYER, J., VORLÍČEK, J.: Vysokodávkovaná chemoterapie s transplantací kmenových krvetvorných buněk v komplexní léčbě zhoubných nádorů, Brno: Masarykova Univerzita, 1997, 13-18.
3. OŠOBA, D., ZEE, B., WARR, D. et al.: Effect of postchemotherapy nausea and vomiting on health-related quality of life. *Supp. Care Cancer*, 1997, 5, 307-313.
4. STRZONDALA, W.: Současné možnosti antiemetické terapie v onkologii. *Remedia*, 1994, 4, 320-330.
5. LEE, C. R., PLOSKER, G. L., McTAVISH, D.: Tropisetron: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential as an Antiemetic. *Drugs*, 1993, 46, 925-943.
6. HESKETH, P. J., GANDARA, D. R., HESKETH, A. M. et al.: Dose ranging evaluation of the antiemetic efficacy of intravenous dolasetron in patients receiving chemotherapy with doxorubicin or cyclophosphamide. *Supp. Care Cancer*, 1996, 4, 141-146.
7. AGURA, E. D., CLEVELAND BROWN, M. et al.: Antiemetic efficacy and pharmacokinetics of intravenous ondansetron infusion during chemotherapy conditioning for bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant*, 1995, 16, 213-222.
8. FRAKES, L. A., BREHM, T. L.: An all oral antiemetic regimen for patients undergoing high-dose chemotherapy with peripheral blood stem cell transplant. *Bone Marrow Transplant*, 1997, 20, 473-478.
9. MUNSTEDT, K., MILCH, W., SACHSSE, S. et al.: Subjective and Objective Parameters in the Evaluation of Treatment Success in Antiemetic Prophylaxis of Cancer Chemotherapy. *Onkologie*, 1997, 20, 54-59.
10. KLASTERSKY, J., SCHIMPF, S. C., SENN, H. J. et al.: Handbook of Supportive Care in Cancer, New York, Marcel Dekker, 1995, 99-123.
11. AAPRO, M. S.: 5-HT₃ Receptor Antagonists: an overview of their present status and future potential in cancer therapy-induced emesis. *Drugs*, 1991, 42, 551-568.
12. BLEIBERG, H., Van BELLE, S., PARIDAENS, R. et al.: Compassionate use of a 5-HT₃-receptor antagonist, tropisetron in patients refractory to standard antiemetic treatment. *Drugs*, 1992, 43, 27-32.
13. MORROW, G. R., HICKOK, J. T., ROSENTHAL, S. N.: Comparisons of Ondansetron (Zofran), Granisetron (Kytrel), and Tropisetron (Navoban). *Cancer*, 1995, 75, 343-357.
14. OR, R., DRAKOS, P., NAGLER, A. et al.: The antiemetic efficacy and tolerability of tropisetron in patients conditioned with high-dose chemotherapy (with and without total body irradiation) prior to bone marrow transplantation. *Supp. Care Cancer*, 1994, 2, 245-248.
15. SORBE, B.: Tropisetron in the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting: The Nordic experience. *Annals of Oncology*, 1993, 4, 39-42.
16. JOSS, R., SÉSSA, C. et al.: Tropisetron for treatment of chemotherapy induced nausea and vomiting, results of a Swiss open multicenter study. *Supp. Care Cancer*, 1995, 3, 339.
17. DRECHSLER, S., BRUNTSCH, U. et al.: Comparison of three tropisetron containing antiemetic regimens in the prophylaxis of acute and delayed chemotherapy induced emesis and nausea. *Supp. Care Cancer*, 1997, 5, 387-395.
18. ROILA, F., BALLATORI, E., TONATO, M., DEL FAVERO, A.: 5-HT₃ receptor antagonists: differences and similarities. *Cancer*, 1997, 33, 1364-70.

KONSENZUS PŘÍSTUPU K DIAGNOSTICE A LÉČBĚ DUŠNOSTI U NEMOCNÝCH S POKROČILÝM NÁDOROVÝM ONEMOCNĚNÍM

4. brněnský den paliativní medicíny, Brno, 2. 10. 1998

1. Kdy patří diagnostika a léčba dušnosti u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním do rukou odborníků pro paliativní medicínu?

Pokud je ukončena kurativní léčba onkologického onemocnění a není jednoznačně stanovena příčina dušnosti, je indikována konzultace specialisty pro paliativní medicínu. V poměrech České republiky to znamená konzultaci s lékařem oddělení paliativní péče nebo hospicu anebo lékaře, který je pro tuto problematiku určen v rámci onkologického nebo pneumologického oddělení.

2. Podle kterých příznaků a vyšetření můžeme hodnotit tíži dušnosti u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

Standardní objektivní vyšetření: počet dechů za minutu, tepová frekvence, cyanóza, poslechový nálezh (srdce, plíce), otok (dolní končetiny, hlava, krk), stupeň dušnosti (klidová, námahová – chůze po pokoji, po chodbě, po schodech, počet metrů). Pulzní oxymetrie (nasyčení krve kyslíkem), zadopřední skiagram hrudníku. Pokud tato vyšetření nepřinesou vysvětlení je indikováno vyšetření krevních plynů a základní biochemické vyšetření k vyloučení metabolické příčiny a EKG (nově vzniklá arytmie, srdeční infarkt).

3. Jakou roli mají strach a úzkost při vnímání dušnosti u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

Strach a úzkost se na vnímání dušnosti podílejí prakticky u každého nemocného a pocit dušnosti prohlubují. Každý lékař, který nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním léčí, by měl spolupracovat s psychologem a s psychiatrem, který se problematikou těchto nemocných zabývá. Léčebný postup by měl být konzultován s oběma odborníky. Pokud není tato spolupráce možná, je u dušnosti prohlubované strachem a úzkostí indikováno podání nízkých dávek morfinu (10 mg po 4–6 hodinách podkožně, nitrosvalově, nitrožilně) nebo podání benzodiazepinů perorálně, intramuskulárně, nitrosvalově (diazepam – preparáty Diazepam, Apaurin, Seduxen, midazolam – preparát Dormicum, alprazolam – preparáty Neurol, Xanax, Xanax retard). Dávkování je velmi individuální a je závislé na předchozí a souběžné léčbě, především analgetické!

4. Kdy je indikována konzultace intervenčního bronchologického centra u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním a dušností?

Tuto konzultaci by měl doporučit pneumolog, kterého je vhodné konzultovat při podezření na lokalizovanou obstrukci dýchacích cest. O endobronchiální léčbě (mechanická dilatace, laser, kryoterapie, elektrokoagulace, brachyterapie, zavedení endobronchiální protězy – stentu) budeme uvažovat u nemocných, kteří jsou schopni bronchoskopického vyšetření a jejich předpokládaná délka života je nejméně 3 měsíce. O schopnosti nemocného absolvovat bronchoskopické vyšetření by měl rozhodnout pneumolog-broncholog.

5. Kdy je indikována v léčbě dušnosti u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním paliativní chemoterapie a radioterapie?

Při sekundárním postižení plic zhoubným nádorem nebo maligním pleurálním výpotkem u nemocného s předpokládanou délkou života měsíce a roky. Předpokládá se citlivost nádoru k této léčbě. Indikovat paliativní chemoterapii nebo radioterapii by měl onkolog nebo pneumoonkolog.

6. Jakou roli hrají v léčbě dušnosti u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním opiáty, steroidy, nebulizace, bronchodilatancia? Kdy perorální, intravenózní, subkutánní nebo sprejová forma?

Podání opiátů je indikováno tam, kde se na dušnosti podílí strach a úzkost a tam, kde je dušnost provázána bolestí.

U dušnosti způsobené lokalizovanou obstrukcí dýchacích cest je indikováno podání dexametazonu, který zmírňuje otok kolem nádoru. Nejlépe 24 mg jednorázově intravenózně a pokračovat perorálně v dávce 16 mg až 24 mg/den (preparáty Dexamethazon, Dexason, Dexona). U dušnosti způsobené generalizovanou obstrukcí dýchacích cest (především exacerbace astmatu, chronické obstrukční plicní nemoci) je indikováno nitrožilní podání hydrocortisonu (100 mg–300 mg/den) nebo perorální podání prednisonu (30 mg–60 mg/den) nebo dexametazonu (4 mg až 8 mg/den). U nemocných, kteří jsou schopni užívání léků pomocí spreje, disků či turbuhaléru je vhodné i podání inhalačních kortikoidů, kterých je celá řada (Aldecin, Pulmicort, Becotide, Becodisk,...). Bronchodilatancia ze skupiny metylxantinů jsou indikována u dušnosti způsobené generalizovanou obstrukcí dýchacích cest (především exacerbace astmatu, chronické obstrukční plicní nemoci). Intravenózní podání aminofylinu (Aminophylline, Syntophyllin) je indikováno při akutní dušnosti. Po zvládnutí stavu je vhodné převedení na perorální teofylinové preparáty (Spophyllin retard, Theo-Dur, Théoplus, Afonilum, Unidur...) nebo aminofylinové preparáty (Aminophyllin retard, Euphyllin retard...).

Bronchodilatancia ze skupiny beta-adrenergik (Berotec, Salbutamol, Ventolin, Bricanyl) nebo anticholinergik (Atrovent) nebo kombinace beta-adrenergika a anticholinergika (Berodual) jsou indikovány u dušnosti způsobené generalizovanou obstrukcí dýchacích cest (opět nejčastěji při exacerbaci astmatu a chronické obstrukční plicní nemoci) u těch nemocných, kteří jsou schopni zvládnout techniku použití spreje (velmi vhodné za pomoci spaceru), turbuhaléru, diskových forem. Tyto léky lze podávat i pomocí nebulizátoru, pokud jej nemocný toleruje. Pomocí nebulizátoru lze podávat i dexametazon nebo morfin.

U nemocných s pokročilým nádorovým onemocněním, pokud polykají, je jednoznačně preferována léčba perorální nebo sprejová. Teprve tehdy, když tato léčba není možná, je indikována léčba intravenózní nebo podkožní (v případě opiátů).

7. Kdy indikovat léčbu kyslíkem u nemocného s dušností a s pokročilým nádorovým onemocněním?

O opodstatnění této léčby se musíme přesvědčit. Stačí vyšetření pulzním oxymetrem. Léčba kyslíkem je indikována při saturaci nižší než 90 %. Pokud má pracoviště k dispozici vyšetření krevních plynů, je léčba kyslíkem indikována při parciálním tlaku kyslíku nižším než kPa. Je vhodné přesvědčit se, zda při kyslíkové léčbě nedochází k retenci kyslíčnicku uhličitého. Pokud nemocnému kyslíková léčba nevyhovuje není vhodné ho do ní nutit. Měli bychom respektovat i zpt sob podání, který nemocnému vyhovuje. V úvahu přichází především aplikace kyslíku nosní maskou nebo pomocí kyslíkových brýlí.

U nemocných s předpokládanou délkou života nejméně 2 měsíců u kterých je důvodem hospitalizace pouze kyslíková léčba, je indikována konzultace pneumologa ohledně dlouhodobé domácí oxigenoterapie pomocí koncentrátoru.

8. Jak hodnotit výsledek léčby dušnosti u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

Především podle údajů nemocného. Dále podle objektivního vyšetření (počet dechů, tepová frekvence, zbarvení spojivek, rtů...), pod vyšetření pulzním oxymetrem (vzestup saturace krve kyslíkem a tam, kde je možnost, podle vyšetření krevních plynů (vzestup parciálního tlaku kyslíku, event. pokles parciálního tlaku kyslíčnicku uhličitého, nemělo by docházet k retenci kyslíčnicku uhličitého).

9. Jaké jsou cíle výzkumu v oblasti diagnostiky a léčby dušnosti u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

Při úrovni vzdělanosti v oblasti paliativní medicíny v České republice je zapotřebí soustředit se především na oblast léčby. Vzhledem k „mýtu o útlumu dechového centra“, který v České republice existuje, je vhodné zaměřit výzkum na využití, dávkování a způsob podávání opiatů a benzodiazepinů v léčbě dušnosti.

Vzhledem k tomu, že mnoho nemocných je hospitalizováno pouze z důvodů dlouhodobé oxygenoterapie je další oblastí vhodnou pro výzkum dlouhodobá domácí oxygenoterapie u nemocných s pokročilým nádorovým onemocněním.

KONSENZUS PŘÍSTUPU K DIAGNOSTICE A LÉČBĚ NEVOLNOSTI A ZVRACENÍ U NEMOCNÝCH S POKROČILÝM NÁDOROVÝM ONEMOCNĚNÍM

4. brněnský den paliativní medicíny, Brno, 2. 10. 1998

1. Kdy patří diagnostika a léčba nevolnosti a zvracení u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním do rukou odborníků pro paliativní medicínu?

Do rukou odborníka pro paliativní medicínu patří především *chronická nevolnost*, která je přítomna až u 50 % nemocných v terminální fázi onkologické choroby. Tento typ nevolnosti je často podmíněn multifaktoriálně, patogeneze zahrnuje jednak autonomní vagovou aferentní stimulaci centra pro zvracení a jednak dráždění chemorecepční spouštěcí zóny hypotetickým cirkulujícím toxinem nádoru. Nausea a zvracení vztahené k protinádorové léčbě musí být řešeny lékařem, který tuto léčbu ordinuje a vede.

2. Podle kterých příznaků a vyšetření můžeme hodnotit tíži nevolnosti a zvracení u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

Persistující nevolnost bývá často závažnějším příznakem než samotné zvracení. Přetrvávající nevolnost bývá spojena s anorexií a hubnutím, zatímco zvracení nikoliv. Zejména epizodické zvracení s úlevou je nemocným tolerováno lépe než přetrvávající nevolnost.

Při anamnestickém hodnocení závažnosti nevolnosti a zvracení je vždy nutno posuzovat dobu trvání a frekvenci výskytu potíží v průběhu dne. Nausea je převážně subjektivní fenomén a nemocný může zaznamenat její intenzitu pomocí vizuální analogové škály. Objektivně je možno v některých případech posuzovat závažnost nevolnosti podle množství přijímané stravy a podle vývoje tělesné hmotnosti.

Za závažné příznak je nutno považovat chronickou nevolnost, doprovázenou sníženým příjmem stravy a váhovou ztrátou, zvracení bez úlevy doprovázené nevolností, opakované zvracení jídla krátce po jeho požití, časté zvracení v průběhu dne a objemné zvracení.

3. Jakou roli mají strach a úzkost při vzniku nevolnosti a zvracení u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

Při vzniku nevolnosti a zvracení má důležitou úlohu napětí vegetativního nervstva. Funkční stav vegetativního nervstva je silně ovlivněn psychickou tenzí. Proto strach a úzkost mohou hrát významnou roli při vzniku nevolnosti a zvracení u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním. Nemocný může mít strach z pokračující choroby, strach, že nevládně svou situaci, strach z neznámého, strach, že bude opuštěn. Úzkost a strach se mohou podílet na zhoršování chronické nevolnosti. Předcházející negativní zkušenost nemocného s léčbou vede nezřídka k anticipační nevolnosti a zvracení. Psychoterapie a behaviorální léčba jsou účinnými prostředky v ovlivnění anticipační nevolnosti a zvracení.

4. Kdy je indikována konzultace chirurga u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

V paliativní péči je konzultace chirurga nutná především u příznaků narůstající neprůchodnosti střevní. U nemocných s pokročilým nádorovým onemocněním je střevní obstrukce nejčastěji způsobena relapsem maligní choroby nebo peritoneální karcinomatózou, ale u 10–30 % nemocných může jít i o benigní, chirurgicky korigovatelnou příčinu.

Chirurgické řešení je upřednostněno u akutního a kompletního uzávěru střeva, u nemocných s vysokou střevní obstrukcí, u příznaků peritonitidy, při první epizodě obstrukce nebo po předcházející benigní příčině obstrukce, po předcházející radioterapii, u mladších nemocných v dobrém celkovém stavu.

Naopak nemocní ve špatném celkovém stavu, se subakutní, intermitentní a neúplnou obstrukcí, s obstrukcí dolní části zažívacího traktu, s mnohočetnými palpovatelnými hmotami v břiše mohou být léčeni konzervativně a chirurgický výkon může být nevhodným postupem, který nepřinese nemocnému větší prospěch než důsledná symptomatická léčba.

Chirurgická mortalita a pooperační reobstrukce nejsou u těchto nemocných nevýznamné.

5. Jaké by mělo být postavení setronů v léčbě nevolnosti a zvracení u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

V současné době je indikace antiemetik ze skupiny setronů (blokátory 5-HT₃ receptorů) definována především v prevenci a léčbě akutního zvracení po chemoterapii a radioterapii.

V paliativní péči mohou být indikovány při radioterapii na oblast břicha. Širšímu použití u nemocných s pokročilým nádorovým onemocněním brání relativně vysoká cena preparátů. Lze předpokládat, že s poklesem ceny se použití setronových antiemetik v paliativní péči rozšíří.

6. Jaký postup zvolit v léčbě zvracení u nemocných s pokročilým nádorovým onemocněním a střevní obstrukcí, u kterých je kontraindikován chirurgický zákrok?

Příznaky střevní obstrukce, byť stresující, mohou být u mnoha pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním úspěšně ovlivněny symptomatickou medikamentózní léčbou, aniž by nemocný podstoupil chirurgický výkon. Vhodnou formou pro podání léčiv je kontinuální subkutánní infuze lineárním dávkovačem, kterou lze nemocnému ponechat i v domácích podmínkách.

Nevolnost a zvracení při střevní obstrukci je možno ovlivnit antiemetiky ze skupiny fenothiazinů (levomepromazin, Tisercin kontinuálně 5–12,5 mg/den) nebo butyrofenonů (Haloperidol 5–10 mg denně parenterálně, nejlépe subkutánně lineárním dávkovačem, nebo i perorálně).

Snížení sekrece trávicích šťav do lumina střeva lze dosáhnout parasympatolytiky, jako jsou scopolamin, butylscopolamin (Buscopan), nebo některá psychofarmaka s parasympatolytickým účinkem. Při nedostatečném efektu může být účinný oktreetid (Sandostatín) v dávce 0,6 mg/den subkutánně frakcionovaně nebo v kontinuální subkutánní infuzi.

Kolikovitá bolest může být ovlivněna spasmolytiky. U nemocných kteří nezvracejí, se u persistující koliky osvědčil loperamid (Imodium). Mnoho nemocných má bolest vyplývající z hepatomegalie, nádorových hmot nebo střevní distenze, kterou je nutno tlumit postupy obvyklými v léčbě bolesti, včetně využití analgetik ze skupiny opiatů.

Část nemocných má průjem „obtékající“ parciální obstrukci, který může být ovlivněn loperamidem (Imodium) nebo Codeinem. Zácpa může být léčena změkčujícími projímadly, nikoliv však projímadly stimulačními motilitu střeva.

Úloha nazogastrické drenáže pomocí sondy a intravenózní hydratace jsou sporné a přinejmenším v terminální fázi onkologického onemocnění nejsou vhodnými postupy.

7. Jak hodnotit výsledek léčby nevolnosti a zvracení u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

Výsledek léčby nevolnosti je možno zhodnotit pomocí vizuální analogové škály a u některých nemocných také podle změny příjmu stravy a vývoje tělesné hmotnosti.

Výsledek léčby zvracení lze zhodnotit podle pečlivého záznamu charakteru a frekvence jednotlivých emetických epizod a v některých případech také podle změn laboratorních ukazatelů.

8. Jaké jsou cíle výzkumu v oblasti diagnostiky a léčby nevolnosti a zvracení u nemocného s pokročilým nádorovým onemocněním?

Příští výzkum v oblasti nevolnosti a zvracení u pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním by měl citlivějšími metodami vést k přesnějšímu zjištění prevalence uvedených obtíží u různých druhů nádorů. Výzkum by měl přinést nová specifická antiemetika pro paliativní péči založená na neurofarmakologii. Jednou z možností je klinické použití antagonistů 5-HT₃ receptorů u paliativních nemocných. Nové terapeutické postupy by měly vést k vyšší účinnosti při nízkém výskytu vedlejších účinků. Žádoucí jsou práce, které by dokumentovaly možnost dietního, psychologického a behaviorálního ovlivnění nevolnosti a zvracení.

Brno 16. 11. 1998

Věcný rejstřík

adjuvantní imunoterapie suppl. 2/29
afterloading 1/21
akcelerovaná frakcionace dávky 4/120
akutní leukémie suppl. 2/19
akutní lymfoblastická leukémie v dětství 5/161
alogenní transplantace kostní dřeně 3/73, suppl. 2/24
alogenní transplantace periferních kmenových buněk 3/73, suppl. 2/24
Amphotericin B 4/101
anastrozol 3/80
anémie 1/2, suppl. 1/kompletně.
antiemetikum 2/41, 6/208
astrocytom 6/204
autologní transplantace kostní dřeně 3/73, suppl. 2/24
autologní transplantace periferních kmenových buněk 3/73, 5/163, suppl. 1/36, suppl. 2/24, suppl. 2/29
BEACOPP 2/50, 3/99
B M F protokoly 5/161
brachy terapie 1/21, 5/168
bronhogenní karcinom 3/85, 5/147,5/168, suppl. 2/29
CD34+ buňky 5/163, suppl. 2/24
c-erb-2, 5/147
CFU-GM 5/163
dědičnost 4/107
dětské malignity 6/192, 6/198, suppl. 1/34
dětské mozkové nádory 6/192, 6/198
dissekce axilly 2/40
ERCP 1/21
erythropoetin 1/2, suppl. 1/19, suppl. 1/22, suppl. 1/25, 2/5,
suppl. 1/34, suppl. 1/36, suppl. 1/38
febrilní neutropenic 5/137
fotodynamická léčba 5/147
galliová scintigrafie 4/127
gram pozitivní bakterie 5/137
historie chemoterapie 6/173
Hodgkinova choroba 2/50 2/60, 3/99
hypoxie 1/2
chemoradioterapie 3/67, 6/204
chemoterapie 1/14, 2/41, 2/50, 2/60, 3/99, 3/67,
4/112,4/116, 6/173, 6/183, 6/204, 6/208
chirurgická léčba karcinomu kardie 5/158
chronická lymfatická leukémie suppl. 1/25

Jmenný rejstřík

Adam, P. 4/112
Adam, Z. 3/73, 6/183, suppl. 1/38, suppl. 2/2
Adler, J. 5/163
Al Khatib, F. 1/14
Andrašina, I. 3/85
Aujeský, R. 5/158
Babušíková, O. suppl. 2/19
Bajičová, B. 6/208
Barilíková, G. 6/204
Bauer, J. 4/112
Baumohl, J. 6/204
Benešová, E. 4/112,4/127
Benešová, K. 4/112
Blažek, B. 6/208
Bouffet, J. 6/192
Bouřková, M. 5/163
Breza, J. 1/18
Bubanská, E. 6/208
Bubeník, J. suppl. 2/29
Bujdák, P. 1/18
Campr, V. 4/112
Čieslar, P. 4/112
Černoch, M. 5/151
Diehl, V. 2/50
Doubek, M. 3/73,4/101, suppl. 2/2, suppl. 2/24
Dvořák, J. 1/21
Eckschlager, T. suppl. 2/17, suppl. 2/29
Fait, V. 4/131, 6/211
Fiala, P. 1/24
Filip, S. 2/55
Foretová, L. 4/107
Gajdoš, M. 3/85
Gajdoš, P. 4/116
Háber, J. suppl. 1/14, suppl. 1/25, suppl. 1/29
Hájek, R. 3/73
Hanák, V. 5/168
Hoffová, V. 5/163
Horváth, T. 3/100, 5/147
Hořejš, J. 4/112,4/127
Hrazdírová, A. 5/168
Hrstková, H. 5/161
Hýlek, P. 1/21
Jabali, Y. 6/192
Janáková, L. suppl. 2/43
Jandáková, E. 5/151
Jonášová, A. suppl. 1/25
Judas, L. suppl. 1/32
Kafka, J. 3/85
Kaiserová, E. 6/208

chronické choroby suppl. 1/14
imunofenotypizace suppl. 2/kompletně
imunoprese 1/2
imunopresivní léčba 1/18
imunoterapie suppl. 2/38
inhibitory aromatázy 3/80
interferon a suppl. 2/29
interleukin-2 1/8, suppl. 2/29
intrabronchiální maligní obstrukce 5/168
intraluminální HDR brachy terapie 5/168
Iridium 192 1/21
jaterní metastázy suppl. 2/43
karcinom čípku děložního 3/67, 3/89
karcinom endometria 2/55
karcinom kardie 5/158
karcinom prsu 2/40, 3/80, 3/94, 5/147
karcinomy podjaterní krajiny 1/21
klasifikace lymfomů suppl. 2/2
klasifikace stádií 1/24
kolorektální karcinom 2/47,4/107,4/120,4/123
kolorektální polypy 2/47,4/107
konkomitanti chemoradioterapie 1/14
kyslíkový efekt 1/2
laboratorní diagnostika anémie suppl. 1/16
léčba mozkových metastáz 3/85
lokoregionální aplikace 1/8
lymfomy suppl. 1/27, suppl. 2/2
maligní onemocnění 1/18
mammární dysplasie 5/147
MDM-2 5/144
mediastinum 4/127
melanom 4/131,6/211, suppl. 2/38
minimální zbytková choroba suppl. 2/17, suppl. 2/19
mnohočetný myelom 3/73, suppl. 1/19
mononukleární buňky 5/163
Moravská onkologická iniciativa 2/59
mozkové metastázy 3/85
mozkové nádory 6/192, 6/198, 6/204
multifórní glioblastom 6/204
myelodysplastické syndrom suppl. 1/19
mykotické infekce 4/101
nádory prsu 5/147
nefrototoxicita Amphotericinu B 4/101
nehodgkinské lymfomy dětí suppl. 2/17

Kavan, P. 4/116, 6/208, suppl. 1/34, suppl. 2/17,
suppl. 2/29
Klabusay, M. suppl. 2/24
Klein, J. 5/158
Klener, P. 4/112, 4/127, suppl. 1/7
Klím, J. 6/204
Kocák, I. suppl. 2/43
Kodet, R. suppl. 2/17
Kolešková, E. suppl. 1/25
Kolman, P. 5/168
Kořístek, Z. 5/163
Koutecký, J. 4/116, suppl. 1/34, suppl. 2/17
Koutná, I. 5/163
Kovařík, J. suppl. 2/43
Krajsova, I. suppl. 2/38
Král, V. 5/158
Král, Z. 6/183
Krejčí, M. 3/73
Křivanová, A. 3/73
Kučera, M. 5/168
Kulhavý, M. 1/14, 3/94, M. 4/94, 5/168
Kupka, K. 4/127
Kvasnička, J. suppl. 1/16
Lang, B. 5/151
Lauerová, L. suppl. 2/43
Leško, J. 3/85
Malinová, B. 2/50, 2/60
Marková, J. 2/50, 2/60, 3/99, 4/135
Matýskova, M. 5/163
Mayer, J. 2/33, 3/73,4/101, 5/137, 5/163, 6/183,
suppl. 2/2, suppl. 2/24
Medková, V. 1/21
Mechl, Z. 6/173
Míčková, I. 5/151
Mikulíková, I. suppl. 2/43
Nekulová, M. suppl. 2/43
Němec, J. 5/160,6/173
NeoraLC. 5/158
Neumannová, R. 5/168
Neuwirtová, R. suppl. 1/19
Novotný, J. 5/161
Odrážka, K. 2/55
Ondruš, D. 1/18
Pačovský, Z. 4/120,4/123, 5/151
Pánková, J. 4/112
Papík, Z. 1/21
Pecen, L. 5/151, suppl. 2/34
Pecková, M. 4/116
Pešek, M. suppl. 2/34
Peters, J. 3/67, 5/168
Petruželka, L. 1/24, suppl. 1/29, suppl. 1/32

nehodgkinský lymfom 4/127
nízce maligní lymfomy 6/183
nukleární magnetická rezonance 4/127
okultní krvácení 2/47
ondansetron 2/41
onkologické registry 1/29
p53 5/144
paliace 5/168
plánování radioterapie 3/94
počítačová tomografie 4/127
pozdní komplikace 2/55
primární lymfom CNS 4/112
prognostický faktor 5/147
protokoly Deutsche Hodgkin Lymphom Studiengruppe. 2/60
průtoková cytometrie suppl. 2/19, suppl. 2/24
předoperační hypoxiradioterapie 4/120,4/123
radioterapie 1/2, 1/14, 2/41, 2/55, 3/67, 3/94, 4/112,
4/120,4/123, 6/204, suppl. 1/32
rakovina plic 1/24
regionální chemoimunoterapie suppl. 2/43
rhabdomyosarkom 4/116
růstové faktory suppl. 1/7
sarkom měkkých tkání 4/116
screening 2/47, 3/89
serotoninový receptor 2/41
solidní nádory 1/8, suppl. 1/29
spiroergometrie 5/161
spirometrie 5/161
steroidní receptory 5/147
subpopulace lymfocytů suppl. 2/29, suppl. 2/38,
suppl. 2/43
tolerance radioterapie 4/123
transfúze 1/2
transplantace kostní dřeně 2/33, 3/73, suppl. 2/24,
transplantace ledviny 1/18
transplantace periferních krvevorných buněk 2/33,
3/73, 5/163, suppl. 1/36, suppl. 2/24, suppl. 2/29
tropisetron 6/208, 3/73, suppl. 2/24
tumor supresorové geny 1/27
tumory hlavy a krku 1/14
vankomycin 5/137
výsledky léčby zářením 1/2
zhoubné nádory 1/8

Plesko, I. 1/29
Pochmon, D. 5/151
Pospíšil, J. 5/163
Přibylincová, V. 1/18
Prokeš, B. 6/183
Přiborský, J. 2/41
Rezníček, J. 1/18
Seidl, Z. 4/112, Z. 4/127
Sheard, M. A. 1/27, suppl. 2/43
Schmitzová, D. 5/163
Skříčka, T. 4/120,4/123
Slabý, J. 4/127
Snižek, T. 5/168
Sobota, V. suppl. 2/29
Starý, J. 6/208
Stejskal, J. 1/21
Strančák, M. 3/85
Straub, J. suppl. 1/25
Střiteský, J. 2/50
Švrůček, M. 4/112
Šachlová, M. 2/47, M. 4/107
Šimíčková, M. 5/151, suppl. 2/43
Špička, I. suppl. 1/22
Tačev, T. 4/120,4/123
Talač, R. 2/40, suppl. 2/43
Teřl, M. suppl. 2/34
Tesařová, P. suppl. 1/14, suppl. 1/25, suppl. 1/27
Trbušek, M. 5/144
Tměný, M. 4/127, suppl. 1/36
Vaculíková, M. 2/55
Vagunda, V. 4/131, 5/151, 5/160,6/211
Vaňásek, J. 1/21,2/55
Vaňásek, T. 1/21
Vatralová, J. 6/204
Vermousek, I. 5/151
Vlk, V. suppl. 2/29
Vodvářka, P. 1/2
Vojtěšek, B. 5/144
Vorlíček, J. 3/73, 5/163, 6/173, 6/183, suppl. 2/2,
suppl. 1/38
Vrba, M. 4/94, 5/168
Všianská, M. 3/73
Výrostko, J. 3/85
Vyzula, R. 2/59, 3/80
Wagnerová, M. 6/204
Zatloukal, P. 1/24, suppl. 1/29
Zeman, D. 4/112
Zemanová, M. suppl. 1/29
Zouhar, M. 1/21
Žaloudík, J. 1/8,4/120, 4/123, suppl. 2/43