

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

V NAKLADATELSTVÍ
ApS BRNO, spol. s r. o.
IČO 543535

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
IČO 15549763

Vychází 6krát ročně
Roční předplatné 180 Kč
pro studenty LF 90 Kč

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X

INTERNET – vstupní adresa:
<http://www.linkos.cz>

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

**ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI**

**THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES**

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

**ZÁSTUPCE VEDOUcíHO
REDAKTORA:** KOZA IVAN
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

MAYER JIŘÍ
ČOUPEK PETR
HÁJEK ROMAN
KOCÁK IVO
VALÍK DALIBOR
ŽALOUDÍK JAN

REDAKČNÍ RADA

ADAM ZDENĚK, Brno	KOZA IVAN, Bratislava
BABUŠÍKOVÁ OLGA, Bratislava	LAGINOVÁ VIERA, Bratislava
BEDNAŘÍK OTAKAR, Brno	MAYER JIŘÍ, Brno
BEŠKA FRANTIŠEK, Ostrava	MECHL ZDENĚK, Brno
BILDER JOSEF, Brno	NĚMEC JAROSLAV, Brno
ČOUPEK PETR, Brno	ONDRUŠ DALIBOR, Bratislava
DRBAL JOSEF, Brno	PAČOVSKÝ ZDENĚK, Brno
ECKHARDT SANDOR, Budapešť	PLEŠKO IVAN, Bratislava
FAIT VUK, Brno	PETRUŽELKA LUBOŠ, Praha
HÁJEK ROMAN, Brno	REJTHAR ALEŠ, Brno
JURGA LUDOVIT, Trnava	SIRACKÝ JÁN, Bratislava
KALLAY JOZEF, Bratislava	SPURNÝ VLADIMÍR, Brno
KAUŠITZ JURAJ, Bratislava	UJHÁZY VILIAM, Bratislava
KLASTERSKÝ JAN, Brusel	VORLÍČEK JIŘÍ, Brno
KLENER PAVEL, Praha	VYZULA ROSTISLAV, Brno
KOCÁK IVO, Brno	WAGNEROVÁ MÁRIA, Košice
KOUTECKÝ JOSEF, Praha	ŽALOUDÍK JAN, Brno
KOVAŘÍK JAN, Brno	

Přehled

Šachlová M., Vyzula R., Novák J.
Carcinoid 130

Michálek J., Collins R. H., Vitetta E. S.
Prevence reakce štěpu proti hostiteli u pacientů podstupujících alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk pomocí anti-CD25 imunotoxinu 134

Mayer J.
CAMPATH-1H (alemtuzumab) v léčbě leukemií a v modulaci imunity 138

Lukeš M., Záleský M., Heráček J., Zachoval R., Kuncová J., Urban M., Mandys V.
P53 a karcinom prostaty 141

Michálek J., Svoboda M.
Buněčná imunoterapie nádoru 145

Původní práce

Jiskra J., Límanová Z., Barkmanová J., Friedmannová Z.
Prevalence autoimunitních tyreopatií u žen s karcinomem prsu ve srovnání s kolorektálním karcinomem 149

Beržinec P., Klenovský S., Barátová H., Galiková J., Kuzmová H., Lígová A., Pillajová G.
Cisplatin a etoposid so simultánnou konvečnou radioterapiou 60 GY při limitovanom štádiu malobunkového karcinómu pľúc 154

Sdělení

Novotný J., Petruželka L.
Anastrozol v adjuvantní léčbě karcinomu prsu 157

Informace

Vítová V.
Úloha chemoterapie a radioterapie při vývoji vícečetných malignit 159

Klener P.
25 let katedry klinické onkologie IPVZ 160

Oznámení –akreditace pro habilitační a jmenovací profesorská řízení o oboru onkologie 140

European Society of Surgery 156

CONTENTS

Reviews

Šachlová M., Vyzula R., Novák J.
Carcinoid 130

Michálek J., Collins R. H., Vitetta E. S.
Prevention of graft-versus-host disease in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using an anti-CD25 immunotoxin 134

Mayer J.
Campath-1H (alemtuzumab) in the treatment of leukemias and in modulation of immunity 138

Lukeš M., Záleský M., Heráček J., Zachoval R., Kuncová J., Urban M., Mandys V.
P53 and prostate carcinoma 141

Michálek J., Svoboda M.
Cellular immunotherapy of cancer 145

Original Papers

Jiskra J., Límanová Z., Barkmanová J., Friedmannová Z.
Prevalence of autoimmune thyroid diseases in womwn with breast cancer in comparison with colorectal cancer 149

Beržinec P., Klenovský S., Barátová H., Galiková J., Kuzmová H., Lígová A., Pillajová G.
Cisplatin and etoposide wiorth concurrent conventional radiotherapy 60 gy in limited stage small-cell lung cancer 154

Notification

Novotný J., Petruželka L.
Anastrozole in the adjuvant therapy of breast cancer 157

Information

Vítová V.
The role of chemotherapy and radiotherapy in development of multiple malignancies 159

Klener P.
25th Anniversary of the Chair of Medical Oncology of the Institute of Postgraduate Medicine 160

KARCINOID

CARCINOID

ŠACHLOVÁ M., VYZULA R., NOVÁK J.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO, KLINIKA KOMPLEXNÍ ONKOLOGICKÉ PÉČE

Souhrn: Karcinoid je pomalu rostoucí nádor. Objevuje se samostatně nebo v rámci mnohočetných neuroendokrinních nádorů. Biologické chování karcinoidů lze histopatologicky zpravidla obtížně hodnotit. Zásadní prognostický význam má primární lokalizace a rozsah nádoru v době stanovení diagnózy. V Masarykově onkologickém ústavu bylo léčeno v letech 1984- 2002 24 mužů a 23 žen. Průměrný věk v době zjištěné diagnózy byl 48 roků u žen (medián 17-81 let) a 54 roků u mužů (medián 21-74 roků). Primární lokalizace byla v žaludku 3x, v tenkém střevu 7x, v bronchu 10x, v apendixu 9x, v ovariu 1x, v pankreatu 4x, v cévku 1x, v rektu 2x, primum ignotum 10x. 30 pacientů mělo metastatické onemocnění jater, sleziny, omenta, tenkého střeva, uzlin, podkoží, oka, prsu, plic, ovaria, mozku, kostí. 23 pacientů bylo řešeno chirurgicky, 18 pacientů dostávalo různé režimy chemoterapie, 10 pacientů bylo léčeno somatostatinovými deriváty. U 5 pacientů bylo zjištěno duplicitní onemocnění. Z našeho souboru je prokázán exitus u 18 pacientů, z nich 16 bylo diseminováno již v době zahájení léčby. Přežívání se pohybuje od 4-136 měsíců (medián je 34 měsíců), respektive od doby diseminace onemocnění od 4-48 měsíců. Naším příspěvkem chceme upozornit na heterogenitu onemocnění a nejednotnost lékařského postupu.

Klíčová slova: karcinoid, karcinoidový syndrom, analoga somatostatinu, neuroendokrinní nádory

Summary: Carcinoid is a slowly growing tumor. The main prognostic factor is primary localization, tumor size and pathology. During the period since 1984 to 2002, 24 men and 23 women were treated at the Masaryk memorial Cancer Institute. The mean age at the time of diagnosis was 48 years for women (ranging from 17 to 81) and 54 years for men (ranging from 21 to 74 years). The primary localization of the tumor was stomach 3x, small intestine 7x, bronchi 10x, appendix 9x, ovarium 1x, pancreas 4x and unknown primary 10x. In 30 patients metastases were found in liver, spleen, omentum, small intestine, lung, ovarium, stone, brain, subcutaneously, breast and eye. Surgical treatment was used in 23 patients, in 18 patients different chemotherapy was indicated. Duplicity was discovered in 5 patients. Eighteen patients died, in 16 of them the dissemination of the disease occurred at the time of diagnoses. Survival ranges from 4-136 month (median 34 month), survival since the time of dissemination ranges from 4-48 month (median 21 month). With this data we would like to stress the heterogeneity of the disease and not unified medical measures.

Key words: carcinoid, carcinoid syndrome, somatostatin analogs, neuroendocrine tumors

Endokrinní nádory zažívacího traktu tvoří asi 2% všech malignit. (14) Dřívější název apudom, používaný souhrnně pro endokrinní aktivní nádorové léze trávicího ústrojí, vycházel ze společného konceptu aminového metabolismu v buňkách (APUD, amine content precursor uptake and decarboxylation). Vzhledem k tomu, že ne všechny léze tento koncept splňují, doporučuje se dnes označovat skupinu endokrinně aktivních nádorů trávicího traktu jako neuroendokrinní tumory (NET). Naprostá většina NET (85%) vykazuje endokrinní aktivitu. Karcinoidy se objevují samostatně nebo v rámci mnohočetných neuroendokrinních nádorů. (12)

Karcinoidy tvoří asi 55% všech endokrinních nádorů. Je to pomalu rostoucí nádor pocházející z gastrointestinálních enterochromafinních buněk (EC) a EC podobných buněk a z extraintestinálních endokrinních buněk (z plic, ovaria apod). (16)

Výskyt

Incidence karcinoidu se liší v jednotlivých studiích: např. 13 nových případů ročně na 1 mil. obyvatel (Irsko), 7 případů ročně na 1 mil. obyvatel (skandinávské země), 21 případů zjištěných pitvou na 1 mil. obyvatel Skandinávie. (2) Údává se, že na 200-300 apendektomií se objeví 1 případ karcinoidu. (9)

Nejčastěji (asi v 50%) se karcinoidy nacházejí v apendixu, jsou často malé, solitární a neinvazivní. Jsou často náhodným nálezem při apendektomii. Karcinoidy v ileu mají maligní charakter. Lokální invaze, postižení lymfatických uzlin a jaterní

metastázy jsou přítomny často již v době zjištění. Na druhou stranu karcinoidy v tlustém střevu a rektu, mají většinou benigní charakter. (14)

Klasifikace

Klasifikace karcinoidů na základě lokalizace primárního nádoru byla navržena v roce 1963 Williamsem a Sandersem (16) a tato klasifikace se považuje za užitečnou, protože nádory z takto rozdělených různých oblastí se odlišují ve svých funkčních projevech, histochemii a secernovaných látkách.

Mezi karcinoidy přední části zárodečné trubice (foregut) zažívacího traktu a dýchacího traktu patří tumory lokalizované v žaludku, horním duodenu, pankreatu, respiračním traktu. Mají nízkou hladinu 5 hydroxytryptaminu, vyskytují se u nich atypický karcinoidový syndrom, často produkují různé hormony a mohou metastazovat do kostí. Karcinoidy střední části (midgut) zažívacího traktu vycházejí z jejunu, ilea, apendixu, Meckelova divertiklu a vzestupného tračníku. Mají vysoký obsah serotoninu, zřídka secernují ACTH a zřídka metastazují do kostí. Další skupinu tvoří nádory lokalizované v transverzu, sestupném tračníku a rekta (hindgut). Zřídka secernují serotonin, vzácně se u nich vyskytuje karcinoidový syndrom. Nádory této skupiny mohou metastazovat do kostí.

Je otázkou, zda je správné dělit karcinoidové tumory na základě anatomické lokalizace, a je navrhováno (Oberger 1996) termín karcinoid používat pouze pro nádory střední části s pro-

jevy karcinoidového syndromu. (6) Ostatní nádory by měly být označovány jako neuroendokrinní s bližším vymezením podle lokalizace jako neuroendokrinní nádory plic, neuroendokrinní nádory žaludku apod. (8)

Histopatologie

V typických případech je to drobný solidní nádor žlutavé barvy, uložený většinou v submukóze a pronikající do svaloviny. Jen zřídka dosahuje větších rozměrů a vyklenuje se do lumina, které zužuje. (1) Nad ním ležící sliznice je intaktní nebo ulcerovaná. (10) Nádor je dobře ohraničen, ale nemá obal. (9)

Histologicky se skládá ze solidních epiteliálních čepů, hnízd a pruhů. Čepy pronikají do svaloviny a mohou se najít i v subserose. Řidčeji je struktura tubulární. V některých karcinoidech lze prokázat sekreci hlenu. Dá se to vysvětlit tím, že všechny buňky střevní sliznice i buňky endokrinní vznikají z enteroblastu. (1)

Histochemicky se hodnotí reakce se stříbrem, přítomnost neuron-specifické enolázy, chromogranin A a cytoplasmatická granula v elektronovém mikroskopu. (15)

Hormonální produkce a klinické příznaky

Nádorové buňky produkují řadu biologicky aktivních aminů a peptidů, které vyvolávají klinické příznaky. Hlavním z nich je serotonin (5 hydroxytryptamin, 5-HT). Vzniká z tryptofanu a mění se v cirkulaci působením L-aminidekarboxylázy na kyselinu 5-hydroxyindolactovou (5-HIOK). Úloha dalších působků je menší, mohou však účinek serotoninu potencovat (bradykinin). (12)

Karcinoidy tenkého střeva secernují hodně serotoninu, kdežto nádory vycházející z bronchu, žaludku nebo pankreatu mají obsah serotoninu nízký, ale jsou bohatým zdrojem 5-hydroxytryptofanu. Dále byly v nádorech prokázány vazodilatační peptidy, bradykinin, histamin a ektopická produkce ACTH. Tato pestrá humorální produkce vysvětluje různé klinické projevy onemocnění. Možné je sružení karcinoidu s dalšími nádory v rámci syndromu MEN I. (Mnohočetná endokrinní neoplazie I. typu, Wermerův syndrom).

V diferenciální diagnóze flushu je třeba zvážit mastocytózu, popř. medulární karcinom štítné žlázy. (12) Endokrinní symptomatologie jako je např. Cushingův syndrom, akromegalie či hypoglykémie, jsou často známkou metastatického procesu. (7) Počáteční stadium je zpravidla asymptomatické. Nádor je malý, uložený v hlubších vrstvách sliznice a produkce serotoninu je nízká. Syndrom karcinoidu se objevuje většinou až ve stadiu metastáz lokalizovaných zejména v játrech, mezenterálních uzlinách a skeletu.

Typickým příznakem je flush- záchvatovitý červenofialový erytém obličeje, krku, popřípadě horní části hrudníku, který trvá několik vteřin až minut a je provázen palpitacemi, tachykardií, poklesem krevního tlaku, borborygmy a záchvaty dušnosti. Dlouhotrvající flush, který nemíží spontánně a trvá až několik dnů je označován jako karcinoidová krize. Flushu přicházejí spontánně nebo jsou vyvolány emocí, požitím alkoholu, čaje, ořechů, rajčat, banánů, ananasem, kiwi a podáním sympatomimetik. (12)

Tachykininy jako je neuropeptid K a pravděpodobně též bradykinin a kalikrein jsou příčinou flushu, bronchokonstrikce a karcinoidového srdečního onemocnění. Za průjmy je zodpovědná produkce serotoninu zvýšením sekrece a motility střeva. Symptomatologie se nejčastěji objevuje při metastatickém postižení jater. (8)

Karcinoidový syndrom vzniká při uvolňování hormonálně aktivních látek přímo do systémového oběhu nebo při uvolňování hormonálních aktivních látek do portálního systému dojde k překročení kapacitních možností jater. (11)

Karcinoidový syndrom postihuje méně než 10 % pacientů s karcinoidy a manifestuje se při přítomnosti jaterních metastáz. Na druhou stranu někteří pacienti s jaterními

metastázami tyto příznaky nemají. Karcinoidový syndrom se rozděluje na typickou a atypickou variantu. Atypický syndrom se projevuje prodlouženým flushem, bolestmi hlavy, slzením a bronchokonstrikcí. (13) Za klinické projevy je odpovědná různá hormonální produkce. Za atypický syndrom je odpovědná produkce 5 hydroxytryptofanu, histaminu a ostatních bioaktivních peptidů. Za typický syndrom je odpovědný serotonin, kallikrein, tachykininy a prostaglandiny. (3)

Život ohrožující karcinoidová krize je spíše u pacientů s lokalizací „foregut“ a „midgut“. Většinou odezní spontánně, ale může být spojena se stresem, anestetikami a hepatickou embolií. (14)

Dále se vyskytují recidivující bolesti břicha, malabsorbce (asi v 7 %) a pelagra. Je způsobena produkcí velkého množství serotoninu z cirkulujícího tryptofanu. (14) Na kůži obličeje se objevují po delším průběhu četné teleangiectazie a chronický erytém (angioma planum) a na akrech hyperkeratóza a hyperpigmentace – tzv. pelagroidní dermatitida. (12)

Fibrotické změny endokardu se projevují chlopenními vadami, nejčastěji stenózou a.pulmonalis. Pacienti s pravostrannou srdeční symptomatologií mají vyšší hladinu tachykininu a exkreci 5 hydroxyindolactové kyseliny. Levostranné postižení chlopní je často spojeno s bronchiálními karcinoidy. (5)

Určitá část bronchiálních karcinoidů je dlouho asymptomatická, zejména u jejich periferních lokalizací v plicích parenchymu. Typická symptomatologie souvisí s uzávěrem bronchiálního lumina. Pacienti přicházejí pro bolest na hrudi, kašel, někdy jsou dušní. Mohou mít opakované plicní infekty. Ne vzácně je přítomna hemoptýza. (7)

Diagnostika

Dignostika vychází z anamnestických údajů a podporuje ji zvýšený výdej 5-HIOK močí (více než 50mg/24 hod.). Před sběrem močí je třeba vyloučit potraviny s vysokým obsahem 5-HT, stejně jako některé léky (fenacetin, amfetamin, reserpin). Zvýšené hodnoty byly zjištěny také u celiakální sprue a Whippleovy choroby. Fenotiaziny mohou být příčinou falešně negativních hodnot 5-HIOK. Provokační testy po kalciu, alkoholu či pentagastrinu jsou zřídka potřebné a potenciálně nebezpečné pro možnost vzniku výrazné hypotenze a bronchospasmu. (12)

Endoskopické vyšetření může při vhodné lokalizaci např. v žaludku, ukázat obraz submukózního nebo polypózního nádoru.

Transabdominální ultrasonografie je všeobecně nejdostupnější vyšetření k zobrazení pankreatu a jeho okolí. Výhodou je schopnost detekce distančních metastáz. Pokud je dostupná intraoperační sonografie, má vysokou senzitivitu. V našich podmínkách je však málokde dostupná.

Rentgenové vyšetření tenkého střeva může prokázat stenozující proces nebo polypózní nádor, ale tyto nálezy jsou vzácné. Skiagram hrudníku potvrdí metastatický plicní proces nebo změny způsobené primárním karcinoidem bronchu. CT přispívá k diagnóze zejména nálezem nádoru o nízké denzitě v pravém podbřišku, zvětšením uzlin a nálezem v retroperitoneu. Vyšetření magnetickou rezonancí brání malá dostupnost a ekonomická náročnost vyšetření.

Cílená jaterní biopsie za ultrazvukové kontroly umožňuje diagnostiku z jaterní metastázy.

Diagnózu lze dále potvrdit radionuklidovým skenem. Primární nádor může být i při velkých metastázách malý a jeho průkaz obtížný. Nevýhodou těchto metod je omezená lokalizační výpovědní schopnost bez možnosti ozřejmení topických vztahů. V lokalizační diagnostice karcinoidu nachází stále větší uplatnění somatostatínová receptorová scintigrafie. Buněčné membrány mají na svém povrchu somatostatínové receptory. Principem metody je kumulace značené látky analogní somatostatínu (derivát oktreotidu: ¹¹¹In-pentatreotid) v oblasti nádorového ložiska. (12)

Prognóza

Z pohledu klinika je důležité dělení karcinoidů na typické a atypické. V plicní lokalizaci se udává, že až 90 % nemocných, kterým byl resekován typický bronchiální karcinoid, se dožívá 5 let. U atypického karcinoidu je pětileté přežívání asi 60–65 % (7)

V plicní lokalizaci je atypických karcinoidů méně než 10 %, po 2 letech je 50 % relapsů.

Zařazení karcinoidu do jedné z těchto skupin je možné jen na základě histologického vyšetření. Za rozhodující pro zařazení je podle Ariogonniho a spolupracovníků: mitotická aktivita (u atypického karcinoidu je asi 5–10 mitóz na 10 polí), lokální bodové nekrózy, hyperchromatinová játra, dezorganizovaná architektura nádoru. Metastázy do lymfatických uzlin jsou známy jak u typického, tak u atypického karcinoidu. I při metastatickém uzlinovém postižení mohou však nemocní dlouhou dobu přežívat. Recidivy plicního karcinoidu jsou známé. (7)

Primární lokalizace, velikost nádoru a histologický nález (hloubka lokální penetrace) jsou potenciálními prognostickými faktory. (11)

Většina karcinoidů appendixu je menších než 1 cm a jsou potenciálně kurabilní při samostatné chirurgické resekcii. Obdobná je situace i u karcinoidů lokalizovaných v rektu. Naproti tomu karcinoidy tenkého střeva jsou většinou zachyceny v pokročilejším stadiu a zhruba jedna třetina je tvořena vícečetnými primárními ložisky. Při kompletní resekcii lze očekávat u karcinoidů až v 80% 20 leté přežití. Při záchytu neresekovatelného intraabdominálního tumoru nebo při jaterních metastázách je medián přežití 5 a 3 roky. (8)

Je popsána závislost metastáz do regionálních lymfatických uzlin na velikosti nádoru ilea: nádor do 0,5 cm- metastázy v 69%, nádor velikosti 0,5–1,0 cm metastázy v 94 %, nádor velikosti více než 1,0 cm- metastázy v 100 %. (4)

Ačkoliv apendikální a rektální karcinoidy často vykazují extenzivní lokální šíření, zřídka metastazují. Oproti tomu karcinoidy žaludku, tenkého a tlustého střeva často vykazují šíření přes stěnu do uzlin a vzdálených míst již v době diagnózy. (10)

Léčba

Léčba nespočívá pouze v odstranění primárního nádoru, ale zejména v ovlivnění komplikací způsobených produkcí hormonů. Chirurgický výkon je zásadní u malých nádorů a někdy je histologický nález karcinoidu překvapením, se kterým se nepočítalo. Chemoterapie má velmi limitovanou aktivitu, a tak hlavní systémovou modalitou je bioterapie spočívající v aplikaci interferonu, somatostatinu a jeho analog. Biologickou léčbou lze ovlivnit endokrinně způsobenou symptomatologii, zabrzdit nádorový růst a předpokládá se i možnost prodloužení celkové doby života. (8)

Náš soubor

V období 1984–2002 bylo v Masarykově onkologickém ústavu léčeno 47 pacientů. Léčilo se zde 24 mužů a 23 žen. Průměrný věk v době zjištění diagnózy bylo 48 roků u žen (medián 17–81 let) a 54 roků u mužů (medián 21–74 roků).

Primární lokalizace byla v žaludku 3x, v tenkém střevu 7x, v bronchu 10x, v appendixu 9x, v ovariu 1x, v pankreatu 4x, v céku 1x, v rektu 2x, primum ignotum 10x. Podle výše uvedené klasifikace bylo 17 pacientů s lokalizací „foregut“, 18 „midgut“, 2 s lokalizací „hindgut“.

U jedné pacientky (53 roků) se na diagnózu přišlo až při mozkové symptomatologii pro metastázy mozku, primární lokalizace nezjištěna. (r.1993). Další pacient (65 let) byl vyšetřován pro metastázu v podkoží, rovněž nejasné primum (r.1986).

30 pacientů metastazuje. Nejčastěji do jater 15x, sleziny 3x, omenta 6x, tenkého střeva 2x, uzlin 8x, dále do podkoží 3x, do oka 1, plic 2x, ovaria 2x, kostí 4, mozku 2x, do prsu 1x. Lokalizace „midgut“ metastazuje 10x, lokalizace „foregut“ metastazuje 13x.

U 5 pacientů bylo prokázáno duplicitní onemocnění: 1x synchronní karcinom děložního čípku a karcinoid appendixu, 4x asynchronní výskyt: muž ročník 1947 adenokarcinom rektosigmoidea v 1993 a karcinoid z polypu 30x20mm ze žaludku v 1995, muž ročník 1945 spinocelulární karcinom penisu v 1999 a karcinoid rekta v 2000, žena ročník 1925- adenokarcinom tlustého střeva a Grawitzův tumor ledviny v 1999, karcinoid pancreatu 2001, žena ročník 1993 NHL IIIB centroblastický a v 2000 karcinoid z metastázy v játrech, primum ignotum.

23 pacientů bylo řešeno chirurgicky a to lokální excize plic ve 2 případech, lobektomie 4x, apendektomie 4x, splenektomie a resekce žaludku 1x, resekce žaludku 2x, resekce tenkého střeva 3x, hemicolektomie 2x, hysterektomie 1x, neradikální resekce ileocekální oblasti 2x, polypektomie 2x.

V souboru mělo 20 pacientů jen samostatný chirurgický výkon, bez další onkologické léčby (apendektomie, resekční výkony na žaludku, pankreatu a plicích).

Další léčebné modalitě přicházejí v úvahu při pokročilém lokoregionálním a hlavně metastatickém onemocnění. Z hlediska aplikované léčby lze pacienty rozdělit do 3 skupin:

- A. asymptomatický pacient - sledování
- B. s karcinoidovým syndromem – analoga somatostatinu
- C. symptomatický- bez endokrinní symptomatologie
 - paliativní chemoterapie, chemoembolizace jaterních metastáz
 - analgetická radioterapie
 - paliativní chemoterapie- imunoterapie

18 pacientů bylo léčeno chemoterapií v monoterapii nebo polychemoterapií. Uvádíme příklady použitých režimů.

Monoterapie:

5-fluorouracil	1
streptozocin	3
metotrexat	1
ftorafur	1
cyklofosamid	1

Polychemoterapie

streptozocin + 5 fluorouracil	4
etopozid + cisplatina (karboplatina)	3
streptozocin + mitoxantron	3
cyklofosamid + doxorubicin	1
cyklofosamid + 5 fluorouracil	1
cyklofosamid + 5 fluorouracil + metotrexat	1
cyklofosamid + 5 fluorouracil + doxorubicin	1
cyklofosamid + ftorafur + metotrexat	3
karmustin + vinkristin+ prokarbazin	1
5 fluorouracil + leukovorin	2

Dále byla použita imunoterapie v monoterapii nebo v kombinaci s chemoterapií.

U 10 pacientů s karcinoidovým syndromem byly použity deriváty somatostatinu.

Z našeho souboru je prokázán exitus u 18 pacientů, z nich 16 bylo diseminováno již v době zahájení léčby. Přežívání se pohybuje od 4-136 měsíců (medián je 34 měsíců), respektive od doby diseminace onemocnění od 4-48 měsíců (medián 21).

Někteří pacienti překvapivě dlouho žijí s rozsáhlým onkologickým nálezem. Např. pacient s diagnózou mnohočetného karcinoidu tenkého střeva po resekcii v 1996 roce a inoperabilních metastázách jater, po regionální chemoterapii a chemoembolizaci žije do června 2000.

Další pacient s karcinoidem appendixu a ilea a metastáz do uzlin po neradikální resekcii v 11/1996 odmítá další léčbu, žije v únoru 2000.

Další pacient s inoperabilním mnohočetným karcinoidem tenkého střeva po II.s.FU/ Streptozocin v 1/1995, žije v 5/2000.

Tabulka primární lokalizace, diseminace a prokázánoho úmrtí pacientů (M- midgut, F foregut, H hindgut, MTS- metastázy)

Lokalizace	Pohlaví	Věk	MTS	Léčba	Přežití
Nejasné	Muž	66	Játra	O interkurence	5/99-8/99
Tenké stf. M	Žena	67	Játra za 6 let	Chir a CHT	11/88-1/99
Ileocekál. M	Žena	62	Játra, Omentum	Chir a CHT	6/96-10/96
Nejasné	Muž	65	Játra	CHT	10/95-6/96
Bronchus F	Muž	64	Mediastinum za 2 roky	Chir	8/84-1/87
Ovarium M	Žena	50	Játra,pánev- za 2m	Chir a CHT	10/87-2/92
Nejasné	Žena	53	Podkoží, mozek,játra	CHT	2/93-6/93
Nejasné	Muž	65	Krční uzliny,		4/86-3/90
Nejasné	Muž	60	Játra, plíce, žebro	CHT	11/86-2/88
Bronchus F	Muž	51	Mozek	CHT	5/93-12/93
Bronchus F	Žena	63	Generalizace za 2r.	Chir a CHT	12/88-1/91
Bronchus F	Muž	52	Játra-za 11 let	Chir. a CHT	2/83-7/96
Tenké střevo M	Muž	52	Játra- za 4 roky	Chir. a CHT	1/94- 9/01
Tenké střevo M	Žena	67	Játra- za 6 let	Chir. a CHT	11/88-1/99
Bronchus F	Žena	41	Játra ,nadkl. uzliny, prso, kosti	Chir.	9/00-2/01
Pancreas F	Žena	67	Játra,uzliny, mnohočetné ulcerace duodena	Somatostatinové deriváty	12/00-10/02

Závěr

Vzácný výskyt těchto nádorů, nejisté chování a rozdílná endokrinní aktivita způsobuje značnou nejednotnost v léčebném přístupu. Otázka, zda zahájit léčbu a pokud ano, tak kdy, jak dlouho a jakou léčbu podávat, není jednoznačně vyřešena. Pokud nechceme být odkázáni na zkušenosti víceméně kasuistické, je jedinou možností postupovat v kooperaci a sjednotit dosavadní poznatky a zkušenosti. Problematika karcinoidu jde napříč medicínskými obory a je nejlepší ji řešit interdisciplinárně. Nejednotný přístup k tomuto relativně biologicky neagresivnímu onemocnění a snaha společně využít všech léčebných možností vedla k myšlence shromáždit odborné záměnce do kooperativní skupiny. (8)

Kooperativní skupina pro léčbu karcinoidu- ustavena v Praze v březnu 1998

„Moravská větev“

MUDr. Otakar Bednářik - onkolog, nyní ukončil činnost v Masarykově onkologickém ústavu

MUDr. Milana Šachlová, CSc- gastroenterolog, Masarykův onkologický ústav, sachlova@mou.cz, tel.:54313 6205

Prof. MUDr. Karel Dvořák, DrSc - FN - patologie

Prof. MUDr. Aleš Hep, CSc, FN Brno-Bohunice, gastroenterologie

Doc. MUDr. Jiří Prášek, CSc - FN Brno-Bohunice, nukleární medicína

Doc. MUDr. Jana Skříčková, CSc - FN Brno-Bohunice, TRN

Prim. MUDr. Vladimír Spurný, CSc. – FN u sv. Anny, onkologie

MUDr. Jana Šiškeová- FN u sv. Anny, gastroenterologie

Literatura

1. Bednář B.: Patologie, Avicenum, Praha 1982, sv. I, str. 407
2. Berge T., Linell F.: Carcinoid tumors. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. 1976;84:322
3. Feldman JM, O'Dorisio: Role of neuropeptides and serotonin in the diagnosis of carcinoid tumors. Am J Med 1986;81:41-8
4. Godwin J.: Carcinoid tumours: An analysis of 2837 cases. Cancer 1975;36:560-9
5. Grahame- Smith DG: The carcinoid syndrome, Am J Cardiol, 1968; 21: 376-7
6. Oberg K.: Neuroendocrine gastrointestinal tumors, Ann Oncol, 1996 Jul; 7 (5):453-63
7. Pavko P, Schutzer J., Lischke R: Plicní karcinoid. Praktický lékař, 2000, roč. 80,č.3, s.132-134
8. Petruželka L.: Současné trendy v diagnostice a léčbě karcinoidních tumorů, Baufour Ipsen International, 1998, str. 3-4
9. Rosai J.: Ackerman's Surgical Pathology, Mosby 1995, 8th edition, volume one: 722-724, 997-999

10. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V: Pathologic basis of disease, WB Saunders Company, 1994, 5th Edition, 818-820

11. Sámel I., Hamza S., Demeter M., Hyrdel R.: Karcinoidné tumory- možnosti diagnostiky a terapie v podmienkach II.internej kliniky MfN Martin, Současné trendy v diagnostice a léčbě karcinoidních tumorů- sborník, Baufour Ipsen International, 1998, 22-28

12. Škrha J., Eliáš P., Dvořák M., Fixa B.: Endokrinní nádory trávicího ústrojí, Mařatka Z.:Gastroenterologie, Karolinum, 1999, 473-484

13. Tomassetti P.:Clinical Aspects of carcinoid tumors. Ital J gastroenterol. hepatol. 1999;31:143-6

14. Tomassetti P., Migliori M., Lalli s et al.:Epidemiology, clinical features and dioganosis of gastroenteropancreatic endocrine tumours, Ann Oncol 2001, 12 (suppl.2): 95-99

15. De Vita VT, Hellman S., Rosenberg SA: Cancer, principles and Practice of Oncology, Lippincott.Raven Publishers,1997, 1704-1722

16. Williams ED, Sandler M.: The classification of carcinoid tumors, Lancet 1963;1: 238-9

PREVENCE REAKCE ŠTĚPU PROTI HOSTITELI U PACIENTŮ PODSTUPUJÍCÍCH ALOGENNÍ TRANSPLANTACI HEMATOPOETICKÝCH KMENOVÝCH BUNĚK POMOCÍ ANTI-CD25 IMUNOTOXINU

PREVENTION OF GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE IN PATIENTS UNDERGOING ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION USING AN ANTI-CD25 IMMUNOTOXIN

MICHÁLEK J.^{1,2}, COLLINS R. H.³, VITETTA E. S.¹

¹ CANCER IMMUNOBIOLOGY CENTER, UNIVERSITY OF TEXAS SOUTHWESTERN MEDICAL CENTER, DALLAS, TEXAS, USA;

² 1. DĚTSKÁ KLINIKA, MASARYKOVA UNIVERZITA, BRNO;

³ BONE MARROW TRANSPLANTATION PROGRAM, DEPT. OF INTERNAL MEDICINE, UNIVERSITY OF TEXAS SOUTHWESTERN MEDICAL CENTER, DALLAS, TEXAS, USA.

Souhrn: Reakce štěpu proti hostiteli (GVH) je obávanou komplikací alogenní transplantace kostní dřeně. Hlavní roli hrají T lymfocyty dárce, které v konečném důsledku vedou k poškození tkání hostitele, především kůže, jater a gastrointestinálního traktu. Deplece alogenních T lymfocytů vede ke snížení rizika GVH nemoci, avšak současně narůstá riziko oportunních infekcí, relapsu základního onemocnění a odvrhnutí štěpu. Selektivní deplece pomocí anti-CD25 imunotoxinu vede k eliminaci nežádoucích aloreaktivních T lymfocytů a uchování ostatních žádoucích T lymfocytů dárce, které si zachovávají protileukemickou a protibakteriální reaktivitu. Tento přehledový článek shrnuje poznatky autorů z preklinického testování anti-CD25 imunotoxinu a podává rovněž obecnou charakteristiku imunotoxinů a možnosti jejich využití v protinádorové terapii.

Klíčová slova: T lymfocyt, reakce štěpu proti hostiteli, imunotoxin, transplantace

Summary: Graft-versus-host disease (GVHD) is a severe complication of allogeneic stem cell transplantation. Donor T cells play major role in GVHD leading to the host tissue damage, mainly of the skin, liver, and gastrointestinal tract. T cell depletion leads to a decreasing risk of GVHD but also to an increasing risk of opportunistic infections, a relapse of the underlying disease, and a graft rejection. The selective depletion using an anti-CD25 immunotoxin can eliminate harmful alloreactive T cells while preserving other donor T cells with antileukemic and antibacterial reactivity. This review summarizes preclinical testing of the anti-CD25 immunotoxin performed by the authors and presents general characteristics of immunotoxins in anticancer therapy.

Key words: T cell, graft-versus-host disease, immunotoxin, transplantation

Úvod

Alogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk (HSCT) představuje účinnou léčbu mnoha hematologických maligních i nemaligních onemocnění, která by jinak byla nevléčitelná (1). V současné době se uplatňuje názor, že léčebný potenciál HSCT spočívá zejména v uplatnění protinádorové aktivity dárce (alogenních) T lymfocytů schopných navodit reakci štěpu proti leukémii/nádoru (GVL=graft-versus-leukemia; GVT=graft-versus-tumor) (2). Alogenní T lymfocyty však často současně vedle žádoucího GVL efektu způsobují reakci štěpu proti hostiteli (GVH=graft-versus-host), která je jednou z hlavních příčin morbidit a mortality transplantovaných pacientů (1,3). Akutní GVH nemoc je zprostředkována alogenními T lymfocyty, které jsou stimulovány antigeny hlavního a vedlejšího histokompatibilního systému (HLA; mHA) příjemce transplantátu. Tyto aktivované T lymfocyty, charakterizované přítomností α receptoru pro interleukin IL-2 (CD25⁺) na svém povrchu, rekrutují efektorové populace buněk, které cestou dysregulované produkce cytokinů vedou v konečném důsledku k poškození příjemcových tkání, zejména kůže, jater a gastrointestinálního traktu (3,4). Protože GVH reakce je způsobena T lymfocyty, jejich odstranění by mělo zabránit vzniku GVH nemoci. V klinických studiích s HLA-identickými příbuznými dárči bylo ověřeno, že při depleci dárce T lymfocytů pod 10⁵/kg hmotnosti příjemce zpravidla nedochází k život ohrožující GVH nemo-

ci (5). V případě HLA-identických nepřibuzných dárců a HLA-neidentických příbuzných dárců musí být deplece T lymfocytů ještě o jeden řád větší. Deplece dárce T lymfocytů však přináší nové problémy spojené s velmi opožděnou rekonstitucí imunitního systému po transplantaci: vysoké riziko oportunních infekcí, relaps základního onemocnění a rejekce transplantátu (6).

Jako ideální se tedy jeví přístup, který by eliminoval pouze ty dárce T lymfocyty, které jsou zodpovědné za GVH reaktivitu, avšak ponechal T lymfocyty s protinádorovou a protiinfekční reaktivitou. Realizace této myšlenky spočívá na předpokladu, že GVH a GVL jsou zprostředkovány různými klony T lymfocytů, a tedy je lze od sebe oddělit (2). Jeden ze způsobů jak eliminovat GVH-reaktivní klon dárce T lymfocytů spočívá v jejich aktivaci nenádorovými buňkami příjemce a následné eliminaci aktivovaných lymfocytů. Nenádorové buňky (izolované z periferní krve) příjemce jsou většinou snadno dostupné před transplantací. T lymfocyty dárce jsou pak *in vitro* vystaveny ozářeným nenádorovým leukocytům příjemce v tzv. smíšené lymfocytární reakci (MLR = mixed lymphocyte reaction). Klony dárce T lymfocytů, které rozpoznávají příjemcovy buňky jako cizorodé, se aktivují a exprimují CD25 molekuly na svém povrchu. Již dříve jsme popsali (7), že takto aktivované CD25⁺ T lymfocyty lze eliminovat pomocí vysoce specifického anti-CD25 imunotoxinu (8), aniž by byla výrazně poškozena zbývající populace dárce T lymfo-

cytů, která si zachovává antileukemickou a antimikrobiální reaktivitu (7,9). Pro detailní pochopení funkce anti-CD25 imunotoxinu je v následujících sekcích pojednáno o aktivaci T lymfocytů a obecně o přípravě imunotoxinů. Závěrečná sekce pak shrnuje naše preklinické a klinické poznatky využívající anti-CD25 imunotoxin k prevenci GVH nemoci.

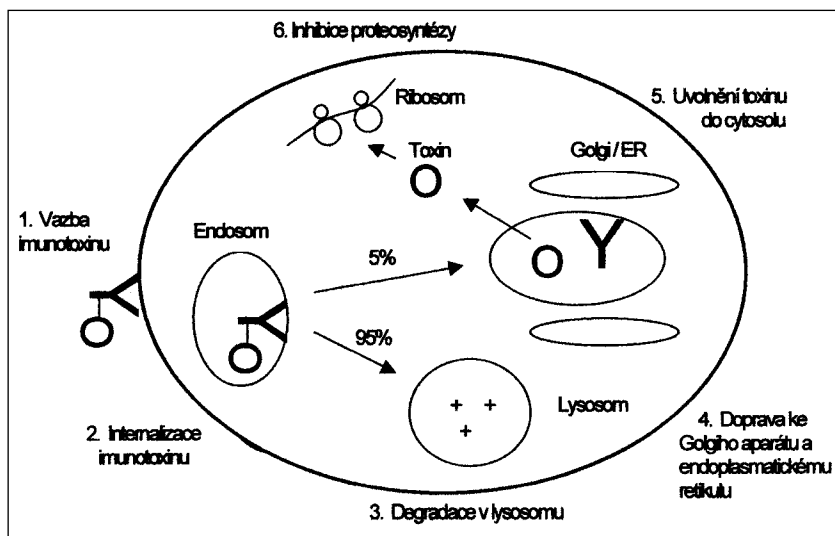
Aktivace T lymfocytů

Naivní T lymfocyty mohou setrvat po mnoho let v klidovém stavu bez dělení (10). Jejich proliferace a diferenciace záleží na stimulaci růstovým faktorem, kterým je cytokin produkovaný aktivovanými T lymfocyty – interleukin IL-2 (10). Iniciální signál přichází od specifického antigenu, který je T lymfocytům předkládán společně s molekulou hlavního histokompatibilního komplexu antigen prezentujícími buňkami (makrofágy, dendritickými buňkami, B lymfocyty). Pokud T lymfocyt dostane další kostimulační signál (zprostředkovaný CD28, CD40L) vstupuje klidová T buňka do fáze G₁ buněčného cyklu a současně je indukována tvorba IL-2 a α řetězce IL-2 receptoru (IL-2R). IL-2R má tři řetězce: α, β a γ. Řetězce α a γ jsou exprimovány klidovými T lymfocyty a jeví nízkou afinitu vůči IL-2. Připojením α řetězce, označovaného jako molekula CD25, vzniká receptor s mnohonásobně vyšší afinitou k IL-2, který umožňuje aktivaci T lymfocytů již při velmi nízkých koncentracích IL-2. Během několika dnů pak dojde k aktivaci a expanzi klonu T buněk specifických vůči původně předkládanému antigenu (10).

Charakteristika imunotoxinů

Jako imunotoxiny označujeme hybridní molekuly vzniklé navázáním účinného toxinu na molekulu monoklonální protilátky (MAB = monoclonal antibody) (11). Používané toxiny jsou zpravidla vysoce čištěné látky proteinové povahy získávané z rostlin, plísní nebo bakterií. Toxin je spojen s MAB a po jejím navázání na specifické struktury na povrchu cílové buňky je internalizován do cytosolu. Aby toxin mohl splnit svou funkci, musí být dopraven k ribosomálnímu komplexu, kde blokuje proteosyntézu a vede k zániku cílové buňky. Ke zničení cílové buňky stačí velmi malé množství imunotoxinu ve srovnání s použitím samotných nekonjugovaných MAB. V pokusech *in vitro* byly zaznamenány klinické odpovědi po podání miligramových dávek nekonjugovaných MAB, zatímco imunotoxiny byly vysoce účinné i při koncentracích minimálně o tři řády niž-

Obr. 1: Mechanismus působení imunotoxinu (popis v textu).



ších (11, 12). Teoreticky lze za letální dávku pro cílovou buňku považovat jedinou molekulu imunotoxinu, která je po internalizaci do cytosolu dopravena k ribosomálnímu komplexu. Výhodou imunotoxinů je rovněž schopnost působit na klidové i dělící se buňky. Působení imunotoxinů není vázáno na buněčný cyklus a nádorové buňky nacházející se ve fázi Go jsou rovněž zasaženy (12).

Imunotoxiny byly poprvé popsány počátkem 80. let. Od té doby byla izolována celá řada toxinů z různých rostlin, plísní a bakterií. Přehled nejpoužívanějších toxinů ukazuje Tab. 1 (12). V současné době nejvíce používanými jsou A řetězec ricinu, pseudomonádový exotoxin a difterický toxin. Mechanismus účinku imunotoxinů je následující (viz Obr. 1) (12):

1. Navázání imunotoxinové monoklonální protilátky na specifické antigenní místo na povrchu cílové buňky.
2. Internalizace imunotoxinu do cytosolu endocytózou.
3. Většina (95%) imunotoxinu je degradována v lysosomech.
4. Část imunotoxinu (5%) je dopravena v endosomu ke Golgiho aparátu a endoplasmatickému retikulu.
5. Odštěpení toxinu od MAB a jeho vyplavení do cytosolu.
6. Volný toxin enzymaticky inhibuje proteosyntézu inaktivací elongačního faktoru 2 (EF2) nebo 28s ribozomální podjednotky.

Toxiny

Rostlinné toxiny (13) můžeme rozdělit podle struktury do dvou skupin. První skupina zahrnuje toxiny s jedním enzymaticky aktivovatelným proteinem, zatímco druhá skupina obsahuje proteiny se dvěma proteinovými řetězci A a B. Řetězec A má enzymatickou aktivitu a řetězec B odpovídá za vazbu a vstup do buňky. Řetězec B obsahuje galaktózu vázající domény, které se váží na všechny galaktózu obsahující glykoproteiny a glykolipidy, tedy se váží v různé míře na všechny savčí buňky. Proto je nutné, při používání druhé skupiny toxinů, řetězec B odstranit nebo pozměnit. Toto je případ často používaného ricinu, u kterého je využíván pouze řetězec A, zatímco řetězec B je odstraněn (8). Pro obě skupiny rostlinných toxinů je charakteristické rozštěpení 28s podjednotky ribozomální RNA, což znemožňuje interakci s elongačním faktorem EF2 (13). Bakteriální toxiny (pseudomonádový exotoxin a difterický toxin) sestávají z jednoho polypeptidového řetězce, který obsahuje různé domény pro enzymatickou funkci, vazbu a vstup do buňky. Difterický toxin i pseudomonádový exotoxin působí inhibiči proteosyntézy prostřednictvím inaktivace EF2 (14). Mitogillin, alfa-sakrin a restriktocin jsou plísněvé proteiny s ribonukleázovou aktivitou. Mají malou molekulu (17 kDa) a sdílí vysoký stupeň homologie aminokyselin. Mitogillin

Tab. 1: Přehled nejpoužívanějších imunotoxinů.

Zdroj	Toxin	Místo působení
Rostliny	Saporin*	28s podjednotka rRNA
	Gelonin*	
	Momordin*	
	Trichosantin*	
	Abrin**	
	Ricin**	
Bakterie	Difterický toxin	Elongační faktor EF2
	Pseudomonádový exotoxin	
Plísně	Alfa-sakrin	28s podjednotka rRNA
	Mitogillin	
	Restriktocin	

* rostlinný toxin jednořetězcový, ** dvouřetězcový.

a restriktocin byly připraveny rekombinantně a v pokusech na myších se jevíly výhodně, neboť byly pouze slabě imunogenní a měly pouze nízkou nespecifickou toxicitu. Bohužel jejich inhibiční účinek na proteosyntézu byl pouze 20-40% ve srovnání s A řetězcem ricinu (12).

Vazba mezi toxinem a monoklonální protilátkou

Spojení toxinu s MAB musí zůstat neporušeno extracelulárně, ale musí být labilní intracelulárně tak, aby mohl být samotný toxin uvolněn do cytosolu cílové buňky (8). Tohoto požadavku je zpravidla dosahováno disulfidovou vazbou mezi toxinem a MAB (12). Vazba toxinu k MAB musí být vzhledem k *in vivo* terapii stabilní v krvi a tkáních. Vzhledem k tomu, že krev i tkáň obsahují thiolové skupiny, které mohou narušovat disulfidové vazby, byla vyvinuta speciální strategie spočívající v navázání objemných skupin kolem disulfidové vazby (8,12). Tímto mechanismem je značně ztíženo narušení disulfidové vazby a je tak zaručena vyšší stabilita imunotoxinů v krvi a ve tkáních.

Cílové antigeny

Nejdůležitější vlastností cílového antigenu na povrchu buňky je schopnost zajistit internalizaci molekuly imunotoxinu do cytosolu. Aby byl tento mechanismus účinný, nesmí se imunotoxin dostat pouze do lyzozomu, kde je zničen (14). Proto je nutné najít takové struktury na povrchu buňky, které jsou nejenom internalizovány cestou lyzozomů, ale také mechanismem endocytózy. Tímto způsobem jsou například internalizovány receptory pro růstové hormony, které slouží jako výborné terče pro imunotoxiny (12). Z pohledu internalizace imunotoxinu je také důležité umístění vazebného místa na extracelulární části proteinu v cytoplasmatické membráně. Pokud se cílová struktura, na kterou se váže MAB imunotoxinu, nachází na extracelulární části membránového proteinu blíže cytoplasmatické membrány, je zajištěna lepší internalizace imunotoxinu, než v případě, kdy se vazebné místo nachází na distálním konci extracelulární části tohoto proteinu (12). Je nezbytné, aby se cílový antigen nacházel výhradně na buňkách určených k likvidaci imunotoxinem a nebyl přítomen na ostatních buňkách.

Nežádoucí účinky imunotoxinů

Použití imunotoxinů *in vivo* v klinické praxi je omezeno jejich imunogenicitou a toxicitou. Imunogenicita je problémem myších monoklonálních protilátek a také samotných toxinů. Bezprostředně po aplikaci se může objevit hypersenzitivní reakce (horečka, třesavka, vyrážka, anafylaktický šok), zejména po opakovaném podání. Během 1-3 měsíců vznikají HAMA (human anti-mouse antibodies = lidské protilátky proti myším MAB) a další terapie imunotoxiny přestává být účinná. Potlačení hypersenzitivní reakce je možné pomocí imunosupresiv. Zabránění tvorby HAMA bylo dosaženo tzv. humanizací MAB, která spočívá v náhradě molekuly myšího imunoglobulinu lidským, s výjimkou hypervariabilní části obsahující vazebné místo pro cílovou antigenní strukturu, která zůstává myší

Protilátky proti toxinům vznikají u 30-100% pacientů a jejich dlouhodobé opakované podání je potom minimálně účinné nebo zcela neúčinné. Nejlépe je tato situace prostudována u A řetězce ricinu, kde se tyto protilátky označují jako HARA (human anti-ricin antibodies). Jejich vzniku nelze zabránit, neboť po odstranění imunogenní části toxinu se ztrácí i jeho účinnost při blokadě proteosyntézy cílové buňky.

Limitujícím faktorem imunotoxinů je jejich vysoká toxicita, která má zpravidla uniformní charakter. V klinických studiích fáze I byl hlavním faktorem limitujícím eskalaci dávky tzv. vascular leak syndrome (VLS) a hepatotoxicita. VLS je charakterizován zvýšenou propustností kapiolár s únikem tekutin a bílkovin. Klinická manifestace VLS zahrnuje hypoalbuminemii, edém plic, periferní otoky, perikardiální výpotek, hypotenzi,

váňový přírůstek a může vyústit v kardiopulmonální selhání. Příčinou VLS je poškození endotelu cév toxinem. Například A řetězec ricinu reaguje s humánním alfa-2 makroglobulinem a fibronektinem v cévní stěně a vede k její destrukci. Na myších modelech k VLS téměř nedochází, a proto se tato nepředvídatelná toxicita, která limituje eskalaci dávky imunotoxinu, projevila až během klinických zkoušek fáze I. Na druhou stranu mírný VLS je žádoucí, vzhledem k dopravě imunotoxinu až na povrch nádorové buňky v nádorové tkáni. Hepatotoxicita s elevací jaterních enzymů je zpravidla reverzibilní, je častá zejména při použití pseudomonádového exotoxinu, který se váže na jaterní buňky a vede k jejich poškození.

Klinické aplikace imunotoxinů

Klinické testování imunotoxinů bylo zahájeno koncem 80. let. Použití rekombinantních imunotoxinů v klinických studiích fáze I se objevuje v průběhu 90. let. Zatím nejlepších výsledků bylo dosaženo u hematologických malignit při likvidaci reziduální populace leukemických nebo lymfomových buněk (15-17). Léčba solidních nádorů s velkou nádorovou masou pomocí imunotoxinů nebyla příliš úspěšná. Je to způsobeno špatnou penetrací imunotoxinů do ložiska nádoru, systémovou toxicitou limitující zvyšování dávky a vznikem HAMA a HARA (12). Další cestou může být kombinace imunotoxinů s konvenční protinádorovou terapií. V současné době jsou k dispozici preklinické i klinické studie, které prokazují synergní účinek a bezpečnost kombinovaného podání imunotoxinů s chemoterapií, převážně u hematologických malignit (15-17).

Vzhledem k výrazné toxicitě *in vivo* (15-17) byly v posledních letech hledány způsoby využití imunotoxinů *in vitro*. Transplantace hematopoetických kmenových buněk představuje jeden z příkladů *in vitro* aplikace imunotoxinů. Čištění transplantátu od nádorových buněk může najít uplatnění v případě autologní transplantace u akutní lymfoblastické leukemie, non-hodgkinského lymfomu, mnohočetného myelomu (anti-CD19, anti-CD22 imunotoxiny) a akutní myeloidní leukemie (anti-CD33 imunotoxin). Jak bylo zmíněno v úvodu, anti-CD25 imunotoxin může být využit pro selektivní depleci aloreaktivních T lymfocytů při alogenní HSCT, o čemž podrobněji pojednává následující sekce.

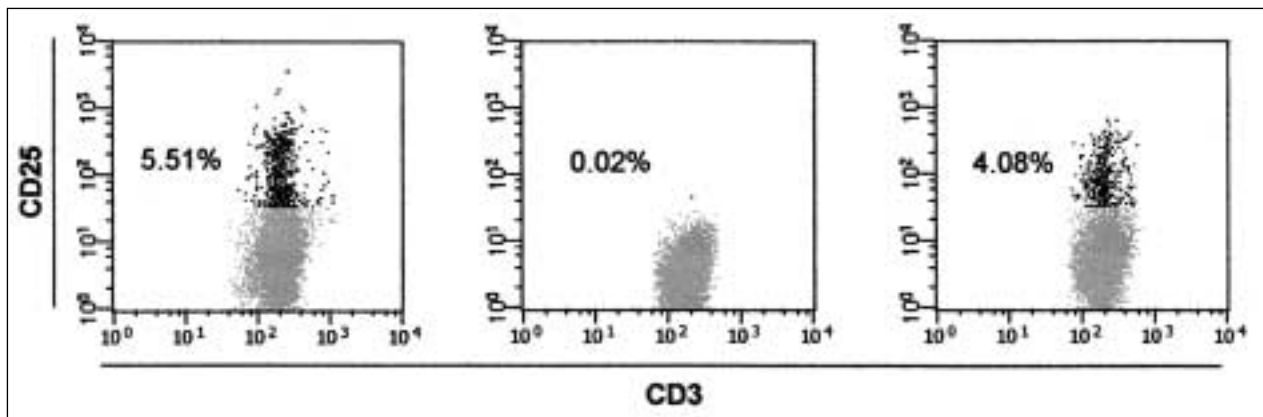
Selektivní deplece aloreaktivních T lymfocytů

Vysoká specifita anti-CD25 imunotoxinu (IT) umožňuje cílenou likvidaci aloreaktivních T lymfocytů *in vitro* (7). Tímto způsobem se lze vyhnout toxicitě imunotoxinu spojené s jeho podáním *in vivo*. Na základě našich předchozích experimentů se zdravými HLA-neidentickými dobrovolníky v malém měřítku (10^6 dárcovských T lymfocytů v MLR) jsme byli schopni definovat optimální podmínky působení anti-CD25 IT (8). Ukázalo se, že jeho podání má maximální účinek, pokud jsou nejprve inkubovány buňky dárce (RC=responder cells) a ozářené buňky příjemce (SC=stimulator cells) 24 hodin bez IT a poté je na dalších 24 hodin přidán IT v koncentraci 10^{-8} M. Tímto způsobem lze dosáhnout deplece až 90% aloreaktivních lymfocytů. Při použití vyšší koncentrace imunotoxinu dochází k nespecifické eliminaci ostatních T lymfocytů. Pokud se společně s IT podá chlorid amonný 10-20mM, který potencuje účinek IT, lze eliminovat až 99% aloreaktivních buněk. Podání samotného chloridu amonného v koncentraci ≤ 10 mM nemá žádný efekt na viabilitu buněk; >10 mM koncentrace vede ke snížení viability buněk (8).

Na základě těchto poznatků jsme přistoupili k testování ve „střední“ MLR s 10^8 RC za stejných podmínek jako v „malé“ MLR. Podání 10^{-8} M IT společně s 10mM chloridem amonným vedlo k depleci 99,3 % aloreaktivních lymfocytů, viabilita však poklesla na 66%. Další optimalizací experimentů v 5 „středních“ MLR bylo dosaženo nejlepších výsledků při použití dvou 24 hodinových inkubací: první s 10^{-8} M IT a 6mM NH_4Cl , druhé s $0,5 \times 10^{-8}$ M IT a 6mM NH_4Cl . Po první 24hodi-

Obr. 2: Eliminace aloreaktivních T lymfocytů se zachováním protileukemického efektu.

PBMC HLA-identického příbuzného dárce byly 3 dny *in vitro* stimulovány ozářenými neleukemickými PBMC pacienta s akutní myeloidní leukémií, který podstoupil allogenní HSCT (levý panel). Po aplikaci anti-CD25 IT a NH_4Cl došlo k > 2log depleci aloreaktivních T lymfocytů (střední panel), které si po 3-denní stimulaci pacientovými leukemickými buňkami zachovávají protileukemickou aktivitu (pravý panel). Všechny panely znázorňují populaci živých dárcovských $\text{CD}3^+$ T lymfocytů. Aktivované $\text{CD}25^+$ T lymfocyty jsou znázorněny černě. Výsledky u druhého páru dárce/pacient se významně nelišily od znázorněného.



nové inkubaci došlo k průměrné depleci 99,2 % (98,6-99,7 %) aloreaktivních lymfocytů, po druhé inkubaci byla zaznamenána průměrná deplece 99,9 % (99,7-100 %) aloreaktivních lymfocytů při zachování více než 70% vitality buněk a více než 85 % reaktivitě vůči aloantigenům od jiného nepřibuzného dárce. Obdobných výsledků bylo dosaženo s použitím 1/5 SC pro stimulaci RC, což má praktický význam pro klinickou studii s anti-CD25 IT u pacientů podstupujících allogenní HSCT, kdy lze použít pouze pětinu PBMC příjemce ke stimulaci dárcovských buněk.

Pro účely klinické studie by bylo racionální použít 10^7 alodepletovaných dárcovských T lymfocytů /kg hmotnosti příjemce, neboť populace zbývajících aloreaktivních buněk bude $<10^5$ /kg hmotnosti příjemce, což je dávka zpravidla nezpůsobující těžkou GVH nemoc u HLA-identických příbuzných allogenních HSCT (5,18). Proto jsme testovali „velkou“ MLR s celkovým počtem 10^9 RC za optimalizovaných podmínek nalezených ve „střední“ MLR na třech párech zdravých HLA-identických dobrovolníků a dvou párech leukemických pacientů (jeden pacient s akutní myeloidní leukémií, jeden pacient s akutní lymfoblastickou leukémií) a jejich HLA-identických

dárců. Výsledky ukázaly průměrnou depleci 99,6 % (99,1-99,9 %) aloreaktivních T lymfocytů, průměrnou viabilitu 74,6 % (68,2-89,7 %) dárcovských buněk a zachování 89,2 % (72,6-98,3 %) reaktivity vůči allogenním PBMC od jiného nepřibuzného dárce nebo vůči leukemickým buňkám, v případě dvou párů pacientů a jejich dárců (viz Obr. 2). Výsledky těchto experimentů ukazují, že anti-CD25 imunotoxin je schopen specificky eliminovat aloreaktivní $\text{CD}25^+$ lymfocyty v klinickém měřítku minimálně o 2log *in vitro* při zachování viability dárcovských buněk a jejich reaktivity vůči jiným aloantigenům. Tyto experimenty budou sloužit jako podklad pro klinickou studii fáze I zahajovanou počátkem roku 2003 na Texaské Univerzitě v Dallasu, USA.

Závěr

Uplatnění imunotoxinů jako vysoce specifické protinádorové imunoterapie je limitováno především jejich toxicitou *in vivo*. Nové uplatnění anti-CD25 imunotoxinu *in vitro* u pacientů podstupujících allogenní HSCT se jeví jako velmi slibná a účinná metoda pro eliminaci aloreaktivních T lymfocytů a prevenci GVH nemoci při zachování žádoucí GVL/GVT reaktivity.

Literatura

- Horowitz MM. Uses and growth of hematopoietic cell transplantation. In: *Hematopoietic Cell Transplantation*. 2 ed. Thomas ED, Blume KG, Forman SJ, eds. Blackwell Science, Inc., Maiden, MA, 2000: 8-15.
- Mavroudis DA, Dermime S, Mouldrem J, et al. Specific depletion of alloreactive T cells in HLA-identical siblings: a method for separating graft-versus-host and graft-versus-leukemia reactions. *Br J Haematol* 1998, 101: 565-570.
- Ferrara JL, Levy R, Chao NJ. Pathophysiologic mechanisms of acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 1999; 5: 347-356.
- Hill GR, Crawford JM, Cooke KR, et al. Total body irradiation and acute graft-versus-host disease: the role of gastrointestinal damage and inflammatory cytokines. *Blood* 1997; 90: 3204-3213.
- Marmont AM, Horowitz MM, Gale RP, et al. T-cell depletion of HLA-identical transplants in leukemia. *Blood* 1991; 78: 2120-2130.
- de Gast GC, Gratama JW, Verdonck LF, et al. The influence of T cell depletion on recovery of T cell proliferation to herpesviruses and Candida after allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 1989; 48: 111-115.
- Michálek J, Collins RH, Vitetta ES. The effect of different enhancers on the ability of an anti-CD25 ricin α chain immunotoxin to deplete cells which are activated in an MLR. *Blood* 2000; 96: 312b.
- Engert A, Martin G, Amlot P, et al. Immunotoxins constructed with anti-CD25 monoclonal antibodies and deglycosylated ricin A-chain have potent anti-tumour effect against human Hodgkin cells in vitro and solid Hodgkin tumours in mice. *Int J Cancer* 1991; 94: 450-456.
- Montagna D, Yvon E, Calcatera V, et al. Depletion of alloreactive T cells by a specific anti-interleukin-2 receptor p55 chain immunotoxin does not impair in vitro antileukemia and antiviral activity. *Blood* 1999; 93: 3550-3557.
- Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra JD (eds.). *Immunobiology: the immune system in health and disease*. 4-th ed. Garland Publishing, New York 1999.
- Multani PS, Grossbard ML. Monoclonal antibody-based therapies for hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 1998, 16: 3691-3710.
- Farah RA, Clinchy B, Herrera L, et al. The development of monoclonal antibodies for the therapy of cancer. *Crit Rev Eucaryot Gene Express* 1998; 8: 321-356.
- Barbieri L, Battelli MG, Stirpe F. Ribosome-inactivating proteins from plants. *Biochem Biophys Acta* 1993; 154: 237-243.
- Pastan I, Chaudhary V, Fitzgerald DJ. Recombinant toxins as novel therapeutic agents. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 331-342.
- Schnell R, et al. Clinical trials with an anti-CD25 ricin A-chain experimental and immunotoxin (RFT5-SMPT-dgA) in Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1998, 30: 525-537.
- Kreitman RJ, et al. Responses in refractory hairy cell leukemia to a recombinant immunotoxin. *Blood* 1999, 94: 3340-3348.
- LeMaistre CF, et al. Phase I trial of a fusion-protein (DAB₃₈₉IL-2) in lymphomas expressing the receptor for interleukin-2. *Blood* 1998, 91: 399-405.
- Ho VT, Soiffer RJ. The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2001; 98: 3192-3204.

CAMPATH-1H (ALEMTUZUMAB) V LÉČBĚ LEUKEMIÍ A V MODULACI IMUNITY

CAMPATH-1H (ALEMTUZUMAB) IN THE TREATMENT OF LEUKEMIAS AND IN MODULATION OF IMMUNITY

MAYER J.

INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO, PRACOVÍŠTĚ BOHUNICE

Souhrn: Alemtuzumab je další z monoklonálních protilátek, které nacházejí místo v onkologii. Zdá se ale, že v tomto případě by jeho uplatnění mohlo být širší. Jedná se o humanizovanou anti CD52 protilátku, která je zaměřena proti lymfocytům. V přehledu je popsána historie objevu, mechanismus působení, vedlejší účinky a způsob podání. Největší zkušenosti jsou dosud získány u nemocných s chronickou lymfatickou leukémií, kde alemtuzumab, přes silnou předchozí léčbu nemocných, dosahuje velmi dobrých léčebných odpovědí. Další uplatnění je u T lymfocytárních malignit, zvl. u T prolymfocytární leukémie. Jsou také zprávy o použití u autoimunních cytopenií a jako imunosupresiva v dalších indikacích. Alemtuzumab je také možné použít pro T buněčnou depleci při alogenní transplantaci krvetvorných buněk.

Klíčová slova: alemtuzumab, anti CD52, chronická lymfatická leukémie, transplantace kostní dřeně, T prolymfocytární leukémie

Summary: Alemtuzumab is another monoclonal antibody, which has found its place in oncology. Furthermore, it seems that its usage can be even broader. Alemtuzumab is humanized anti-CD52 antibody targeted to the lymphocytes. In this review, the history of alemtuzumab discovery, mechanism of action, side effects, and mode of administration are described. So far, the greatest experience has been gathered in the field of chronic lymphocytic leukemia. Despite of the fact that the majority of patients had been heavily pretreated, alemtuzumab was effective. Further areas of indications are T lymphocyte malignancies, especially T prolymphocytic leukemia. There are also reports indicating effectiveness of alemtuzumab for the treatment of autoimmune cytopenias, and its usage as an immunosuppressive drug in other indications. Alemtuzumab can be also used for the T-cell depletion in the setting of allogeneic transplantation of hematopoietic cells.

Key words: alemtuzumab, anti-CD52, chronic lymphocytic leukemia, bone marrow transplantation, T-prolymphocytic leukemia

Úvod

Tato protilátka má dlouhou historii. Do klinické praxe se „oficiálně“ (jako registrovaný lék) dostala až po 20 letech, v roce 2001. Její kořeny sahají do dob, kdy byly objeveny monoklonální protilátky, tedy do druhé poloviny 70. let 20. století. Izolována byla v roce 1980. Původní idea byla nalézt protilátku, která by selektivně eliminovala T lymfocyty transplantátu kostní dřeně (ošetření transplantátu *in vitro*), aby nenastala reakce štetu proti hostiteli (graft-vs-host disease, GvHD). Základní protilátka vznikla imunizací kryš lidskými T lymfocyty (Waldmann, 2002). První získaná a použitelná protilátka byla zaměřena proti struktuře CD52 a byla schopna vázat lidský komplement. Byla označena CAMPATH-1M, ze slova Cambridge Pathology 1 IgM. Tyto výzkumy se totiž prováděly na univerzitě v Cambridge. Tam měly podobné výzkumy velkou tradici: působili tam Robin Coombs a také objevitelé monoklonálních protilátek, Cesar Milstein a Georges Köhler. CAMPATH-1M byl zkoušen ve spolupráci s vynikajícím imunologem transplantací krvetvorných buněk, Shimonem Slavinem, jako prevence GvHD (Waldman et al., 1984, Slavin et al., 1985). Záhy se ale ukázala stinná stránka T-buněčné deplece transplantátů – vyšší riziko rejekce štetu. Pro klinické použití pro léčbu lymfatických leukémií bylo potřeba vyvinout IgG2b variantu CAMPATH-1, neboť varianty IgM, IgG2a a IgG2c se v klinice (při podání *in vivo*) neukázaly jako účinné (Dyer et al., 1989). To se nakonec také podařilo a tato varianta byla označena jako CAMPATH-1G (Dyer et al., 1989). Problém pro klinické použití byl ovšem v imunogenicitě kryš protilátky. Proto byla vyvinuta humanizovaná verze, CAMPATH-1H. Využívá variabilní části kry-

ší CAMPATH-1 protilátky IgG2a, ostatní části molekuly jsou lidské (IgG1 kappa). Poprvé bylo její použití popsáno u 2 nemocných s chronickou lymfatickou leukémií (CLL) v roce 1988 (Hale et al.).

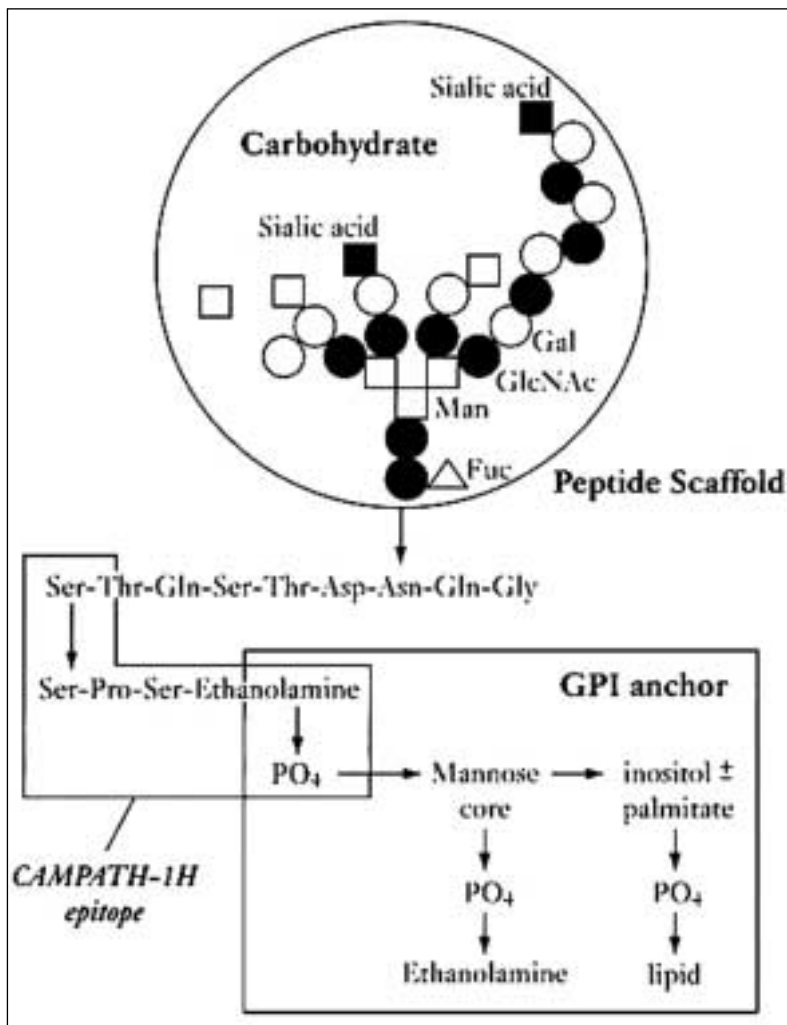
Mechanismus účinku a dávkování

Alemtuzumab působí jednak aktivací komplementu, jednak mechanismem ADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity). Váže se na strukturu CD52, která se nachází na povrchu T i B lymfocytů. CD52 je glykoprotein s vyjímečně krátkou sekvencí pouze 12 aminokyselin (viz obrázek 1). GPI, glykosylfosfatidylinositolová kotva jej drží ve vnější vrstvě buněčné membrány. CD52 je jeden z velmi frekventně se vyskytujících glykoproteinů. Lymfocyty mají těchto struktur na svém povrchu asi 450 000 a tvoří asi 5 % buněčného povrchu. Kromě všech typů lymfocytů (vyjma plazmatických buněk) se CD52 vyskytuje i na monocytech, makrofázích a eozinofilech. Mimo to se také vyskytuje na povrchu epitelálních buněk mužského reprodukčního traktu. Není na kmenových buňkách krvetvorby (Hale, 2001).

Lék je k dispozici pod názvem MabCampath v krabičkách s obsahem 3x30 mg alemtuzumabu v ampulích v roztoku.

Po podání léku se mohou vyskytovat různé akutní nežádoucí účinky, jako jsou ztuhlost, horečka, nevolnost a zvracení, pokles krevního tlaku, vyrážky, chřipkové příznaky, dušnost a další. Tyto reakce jsou způsobeny uvolněním cytokinů jako jsou TNF- α , IFN- γ a IL-6. Může také dojít k přechodnému poklesu granulocytů a destiček. Závažnější jsou ale změny v koncentraci lymfocytů, kde dochází ke hluboké lymfopenii v periferní krvi. Koncentrace makrofágů, NK buněk a B lym-

Obrázek č. 1. Diagram lidského antigenu CD52, ukazující epitop poznávaný CAMPATH-1H. Podle: Hale G.: The CD52 antigen and development of the CAMPATH antibodies. *Cytotherapy* 3, 2001, 137-143.



focytů se upravují po několika měsících, ale koncentrace CD4+ a CD8+ lymfocytů mohou zůstat pod normou mnohem déle (Hale, 2001). Z toho vyplývá zvýšené riziko infekčních komplikací. Proto se při léčbě alemtuzumabem doporučuje profylaktické podávání některých léků. Akutní příznaky lze zklidnit podáváním sedativních antihistaminik, paracetolem a nebo hydrokortisonem. Infekční komplikace lze zmírnit profylaktickým podáváním léků proti *Pneumocystis carinii*, herpetickým virům, event. houbám. Doporučuje se sledování cytomegaloviru pomocí molekulárně – biologických metod.

Běžné dávkování je 3 mg den 1, 10 mg den 2, 30 mg den 3 a v případě dobré tolerance dále 30 mg 3-krát týdně po dobu maximálně 12 týdnů v iv. infuzi trvající asi 2 hodiny. Úvodní perioda zvyšování dávky může trvat déle v případě intolerance léku. Dávka by neměla být zvýšena, dokud nemocný dobře netoleruje dávku nižší.

Klinické uplatnění alemtuzumabu

Nejstarší indikací bylo **podávání při transplantacích krvetvorných buněk**. CAMPATH-1 ať již ve variantě M nebo G (a později H) byl podáván in vitro k transplantátu a nebo i in vivo nemocnému. V současné době existuje podrobná analýza 4264 nemocných, jimž byl CAMPATH-1 podán (Hale et al., 2001). T-buněčné deplece transplantátů je vždy delikátní záležitostí, neboť snížení rizika GvHD s sebou nese také zpo-

malení vyzrávání imunity po transplantaci, zvýšené riziko infekcí, rejekce transplantátu a relapsu maligní choroby. Z podrobných analýz se zdá, že CAMPATH-1H dává stejné výsledky, jako CAMPATH-1G. Nejlepší je pravděpodobně podání léku in vitro k transplantátu nebo in vivo před transplantací. Vhodné je podávat dále cyklosporin A po transplantaci. Vzhledem k pokrokům v transplantologii zůstávají nezodpovězeny některé důležité otázky, jako je role CAMPATH-1 při alogenní transplantaci periferních kmenových buněk a nebo u nemyeloablativních transplantací (Hale et al., 2001).

Maligní lymfoproliferativní onemocnění představují další velkou oblast použití alemtuzumabu. Dosud bylo publikováno několik studií u nemocných s **chronickou lymfatickou leukémií (CLL)**, u nichž selhala předchozí léčba (Bowen et al., 1997, Östeborg et al., 1997, Rai et al., 2000, Keating et al., 2002). Největší množství dat poskytuje recentní studie z roku 2002 (Keating et al.). Bylo léčeno celkem 93 pacientů ze 21 center, kteří absolvovali až 7 předchozích terapií, minimálně jeden režim založený na alkylačních látkách a u nichž selhala léčba fludarabinem. 70% nemocných dokončilo plánovanou terapii, 33% dosáhlo léčebné odpovědi (2% kompletních remisí) a u 54% došlo ke stabilizaci choroby. Medián času do dosažení léčebné odpovědi byl 1,5 měsíce a trvání odpovědi 8,7 měsíce. Alemtuzumab způsobil redukcii infiltrovaných míst u signifikantního počtu pacientů (lymfadenopatie – 74%, hepatomegalie – 75%, splenomegalie – 82%). Po léčbě také docházelo ke zlepšení anémie, trombocytopenie nebo neutropenie, přestože přechodně alemtuzumab způsoboval trombocytopenii a neutropenii. Alespoň jedna infekční epizoda se objevila u 55% nemocných, u 27% závažného charakteru. Jednalo se o bakteriální sepsu, povrchové kandidózy, infekce cytomegalovirem, herpes simplex virem, ale i o pneumocystovou pneumonii, aspergillozu a další. Závažné byly změny v koncentracích lymfocytů, které klesaly na velmi nízké hodnoty. Medián nejnižší hodnoty CD4+ buněk byl 2.10⁶/l během 4. týdne léčby, potom docházelo ke vzestupu koncentrací. Podobně se chovaly i CD8+ buňky. Koncentrace imunoglobulinů se neměnily. Tyto studie shodně potvrdily, že alemtuzumab je velmi potentní látka, která vykazuje signifikantní efekt i u nemocných, kteří absolvovali masivní předchozí terapii.

Nabízí se tedy podávat alemtuzumab dříve v průběhu choroby (Östeborg et al., 1996, Lundin et al., 2000) nebo jej kombinovat s jinými látkami, jako je rituximab nebo fludarabin (Faderl et al., 2002, Kennedy et al., 2002). S těmito postupy zatím sice není dostatek zkušeností, ale první výsledky vypovídají nadějně.

Vzhledem k tomu, že alemtuzumab se váže také na T lymfocyty, nabízí se jeho využití i u **malignit z T buněk**. Vynikajících léčebných úspěchů bylo dosaženo u **T-prolymfocytární leukémie**, u níž lze nyní alemtuzumab zvažovat jako lék první volby (Dearden et al., 2002). Alemtuzumab lze použít i u kožních T lymfomů, LGL leukemie a leukemie-lymfomu dospělých z T buněk (Dearden et al., 2002).

Pro imunosupresivní vlastnosti léku se jeví jeho vhodné uplatnění v léčbě autoimunitních chorob. Jednou z možných indikací jsou **autoimunitní cytopenie**. Přestože počty dosud léčebných nejsou velké (desítky), zdají se výsledky velmi nadějně.

Je nutné zdůraznit, že léčba alemtuzumabem byla zahájena až po selhání jiných běžně používaných postupů. Alemtuzumab je možné použít u autoimunní neutropenie, hemolytické anémie, „pure red cell aplasia“, nebo idiopatické trombocytopenicke purpury. Dávkování bylo 10 mg denně po dobu 10 dnů (Marsh a Gordon-Smith, 2001).

Pro své imunopresivní vlastnosti byl alemtuzumab použit i pro léčbu vaskulitid, sklerosis multiplex, revmatoidní artritidy a rejekce transplantované ledviny (Friend et al., 1995, Brett et al., 1996, Paolillo et al., 1999, Waldmann, 2002). Tyto indikace však musejí být dále prověřeny.

Závěr

Je nepochybné, že alemtuzumab představuje obohacení našich léčebných možností. Přitom je také zajímavé, že tato monoklonální protilátka nebude pravděpodobně používána jen pro léčbu CLL a jiných zhoubných onemocnění, ale také jako imunopresivum. Výskyt infekčních komplikací, které byly zatím popsány, souvisí dominantně s tím, že dosavadní indikace směřovaly hlavně k nemocným, kteří byli již masivně léčeni jinými cytostatiky a jejich imunita byla předchozí léčbou a nebo progresí choroby výrazně podlomena. Alemtuzumab jistě v budoucnu nalezne své místo daleko dříve v průběhu nádorové choroby.

Literatura

1. Bowen A.L., Zomas A., Emmett E., Matutes E., Dyer M.J.S., Catovsky D.: Subcutaneous CAMPATH-1H in fludarabine-resistant/relapsed chronic lymphocytis and B-prolymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 96, 1997, 617-619.
2. Brett S., Baxter G., Cooper H., Johnston J.M., Tite J., Rapson N.: Repopulation of blood lymphocyte subpopulations in rheumatoid arthritis patients treated with the depleting humanized monoclonal antibody, CAMPATH-1H. *Immunol.* 88, 1996, 13-19.
3. Dearden C.E., Matutes E., Catovsky D.: Alemtuzumab in T-cell malignancies. *Med. Oncol.* 19, 2002, Suppl., S27-S32.
4. Dyer M.J., Hale G., Hayhoe F.G., Waldmann H.: Effects of CAMPATH-1 antibodies in vivo in patients with lymphoid malignancies: influence of antibody isotype. *Blood* 73, 1989, 1431-1439.
5. Faderl S., Thomas D.A., Garcia-Manero G., O'Brien S., Kantarjian H.M. et al.: Combination regimen of CAMPATH-1H and rituximab in lymphoid malignancies: clinical efficacy and safety. *Ann. Oncol.* 13, 2002, Suppl. 2, abstract No 009.
6. Friend P.J., Rebello P., Oliveira D., Manna V., Cobbold S.P. et al.: Successful treatment of renal allograft rejection with a humanized antilymphocyte monoclonal antibody. *Transplant. Proc.* 27, 1995, 869-870.
7. Hale G., Dyer M.J., Clark M.R., Phillips J.M. Marcus R. et al.: Remission induction in non-Hodgkin lymphoma with reshaped human monoclonal antibody CAMPATH-1. *Lancet* 2 (8625), 1988, 1394-1399.
8. Hale G.: The CD52 antigen and development of the CAMPATH antibodies. *Cytotherapy* 3, 2001, 137-143.
9. Hale G., Cobbold S., Novitzky N., Bunjes D., Willemze R. et al.: CAMPATH-1 antibodies in stem-cell transplantation. *Cytotherapy* 3, 2001, 145-164.
10. Keating M.J., Flinn I., Jain V., Binet J.L. Hillmen P. et al.: Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* 99, 2002, 3554-3561.
11. Kennedy B., Rawstron A., Carter C., Ryan M., Speed K. et al.: Campath-1H and fludarabine in combination are highly active in refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 99, 2002, 2245-2247.
12. Lundin J., Björkholm M., Celsing F., Hale G., Hjalmar V. et al.: CAMPATH-1H therapy of patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Ann. Oncol.* 11, 2000, Suppl. 4, abstract No 4300.
13. Marsh J.C.W., Gordon-Smith E.C.: CAMPATH-1H in the treatment of autoimmune cytopenias. *Cytotherapy* 3, 2001, 189-195.
14. Östeborg A., Fassas A., Anagnostopoulos A., Dyer M.J.S., Catovsky D. et al.: Humanized CD52 monoclonal antibody Campath-1H as first-line treatment in chronic lymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 93, 1996, 151-153.
15. Östeborg A., Dyer M.J.S., Bunjes D., Pangalis G.A., Bastion Y. et al.: Phase II multicentric study of human CD52 antibody in previously treated chronic lymphocytes leukemia. *J. Clin. Oncol.* 15, 1997, 1567-1574.
16. Paolillo A., Coles A.J., Molyneux P.D., Gawne-Cain M., MacManus D. et al.: Quantitative MRI in patients with secondary progressive MS treated with monoclonal antibody CAMPATH-1H. *Neurol.* 53, 1999, 751-7.
17. Rai K., Mercier R.J., Cooper M.R., Freter C.B., Brettman L. et al.: CAMPATH-1H is an effective salvage therapy for fludarabine failing CLL patients. Results of a phase II trial. *Blood* 96, 2000, No 11, abstract No 703.
18. Slavin S., Or R., Weiss L., Steiner-Zalz D., Cividalli G. et al.: Elimination of graft versus host disease in matched allogeneic leukemic transplant recipients using CAMPATH-1. *Adv. Exp. Med. Biol.* 186, 1985, 813-818.
19. Waldmann H., Polliak A., Hale G., Or R., Cividalli G. et al.: Elimination of graft-versus-host disease by in-vitro depletion of alloreactive lymphocytes with a monoclonal rat anti-human lymphocyte antibody (CAMPATH-1). *Lancet* 2 (8401), 1984, 483-486.
20. Waldmann H.: A personal history of the CAMPATH-1H antibody. *Med. Oncol.* 19, 2002, Suppl., S3-S9.

informace

OZNÁMENÍ

Sdělujeme odborné onkologické veřejnosti, že Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně získala rozhodnutím MŠMT od dubna 2003 **akreditaci pro habilitační a jmenovací profesorská řízení v oboru onkologie**. Není tedy nadále nutné, aby docentury a profesury onkologicky profi-

lovaných odborníků byly v ČR získávány v oborech jiných, jak tomu bylo doposud. Obecná kvalifikační kritéria LF MU v Brně pro habilitační a profesorská řízení jsou k dispozici na www.med.muni.cz.

*Doc. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.,
děkan Lékařské fakulty MU v Brně*

P53 A KARCINOM PROSTATY

P53 AND PROSTATE CARCINOMA

LUKEŠ M.¹, ZÁLESKÝ M.¹, HERÁČEK J.¹, ZACHOVAL R.¹, KUNCOVÁ J.¹, URBAN M.¹, MANDYS V.^{2,3}

¹ UROLOGICKÁ KLINIKA 3. LF UK A FNKV, PRAHA

² ÚSTAV PATOLOGIE 3. LF UK A FNKV, PRAHA

³ ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ MEDICÍNY AV ČR PRAHA

Souhrn: Inaktivace tumor-supresorového genu TP53 znamená ztrátu kontrolního mechanismu umožňujícího buňce účinně kontrolovat integritu genomu a znemožnit v případě jeho poškození přechod do dalších fází buněčného cyklu. Tato inaktivace umožňuje vznik klonu buněk s alterovaným genomem, snadněji podléhajícím dalším změnám, které mohou vyústit až do maligního zvratu. Ztráta tumor supresorové funkce TP53 může být následkem řady dějů na molekulární úrovni. Bodové mutace TP53 vedoucí ke zvýšené expresi mutovaného proteinu p53, patří k nejčastějším molekulárním alteracím popisovaným u lidských solidních nádorů. Jednou z možností jak identifikovat patologii TP53 je přímý záchyt mutace sekvenováním DNA. Nejčastěji využívanou metodou je však imunohistochemická detekce overexprese proteinového produktu, tj. proteinu p53. U karcinomu prostaty nepochybně dochází k mutaci genu TP53, které hrají důležitou roli v progresi nádoru a účastní se zřejmě i přechodu v hormonálně interdependentní karcinom. Údaje o využití p53 jako biomarkeru jsou však zatím rozporuplné.

Klíčová slova: karcinom prostaty, tumor-supresorový gen TP53, protein p53, marker

Summary: Inactivation of the tumor-suppressor gene TP53 represents loss of the control mechanism enabling the cell to effectively control the genome integrity and, in the case of its impairment, to inhibit transition into further phases of the cell cycle. This inactivation makes possible generation of a clone of cells with an altered genome, easily undergoing other changes potentially leading to malignant conversion. The loss of the tumor-suppressor function of TP53 may be a result of a series of events at the molecular level. Point mutations of TP53 leading to the overexpression of the mutated p53 protein represent one of the most frequent molecular alterations described in human solid tumors. One possibility to identify the TP53 pathology is direct detection of the mutation by DNA sequencing. The method of choice is, however, immunohistochemical detection of the overexpression of the protein product, i.e. p53 protein. In prostate carcinoma, mutations of the TP53 gene undoubtedly occur, playing an important role in the tumor progression and probably participating in its transition into hormonally independent carcinoma. The data on the utilization of p53 as a biomarker have been, however, so far controversial.

Key words: prostate carcinoma, tumor-suppressor gene TP53, p53 protein, marker

Karcinom prostaty (KP) patří mezi nejčastěji se vyskytující zhoubné nádory v urologií. V USA představuje karcinom prostaty druhou nejčastější příčinu úmrtí mužů na zhoubný nádor (1,2). Celosvětová incidence karcinomu prostaty roste ročně o 2-3%. V České republice roste rok od roku nejen počet nově diagnostikovaných KP ale i počet zemřelých na toto zhoubné onemocnění (graf 1) (3).

Většina karcinomů prostaty roste pomalu a metastazuje relativně pozdě. Maligní potenciál karcinomu prostaty se zvyšuje s jeho objemem. Karcinom prostaty dnes umíme úspěšně léčit, pokud byla diagnóza stanovena včas a onemocnění je ohraničeno na prostatu (4). V tom případě jsou výsledky léčby resp. doba přežití po radikální prostatektomii nebo po radikální radioterapii téměř shodné s kontrolní skupinou mužů bez karcinomu prostaty.

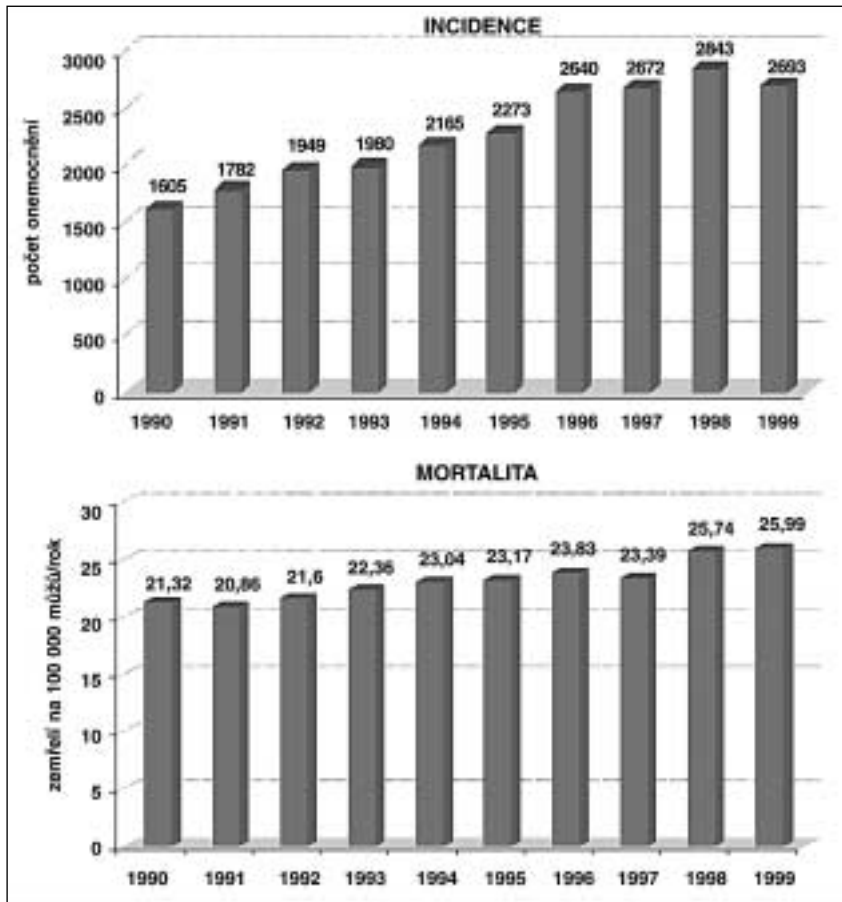
V současné době se jako nejlepší prostředek k diagnostikování pravděpodobného výskytu pokročilé nemoci nebo rizika relapsu ukázalo použití nomogramů, využívajících klinické parametry staging, grading a PSA (5,6). Partin a kol. (5) použili u radikální prostatektomie předoperační staging, Gleason skóre a PSA k sestavení tabulky pro určení pravděpodobného výskytu extrakapsulárního šíření nádoru, zasažení semenných váčků a lymfatických uzlin. Ačkoliv tyto informace jsou velmi užitečné při diskusi s pacientem o potenciálním kladném vlivu radikální prostatektomie, u mnoha pacientů neodpovídají tato předoperační kritéria stupni progresu nádoru (stagingu) v patomorfologickém hodnocení. Ukazuje se, že staging a grading nádoru hodnocené patologem, jsou jen pomocnými kritérii. Pacienti s nepříznivým patologickým nálezem mohou

být dlouhodobě vyléčeni radikální prostatektomií, zatímco u pacientů s nízkým gradingem a chorobou omezenou na orgán se mohou vyvinout metastázy. Vzhledem k těmto skutečnostem jsou v poslední době hledány další možnosti, jak zpřesnit určení biologického chování konkrétního nádoru a vytipování nemocných u kterých hrozí relaps nebo generalizace nádorového onemocnění. Pacienti s nízkým rizikem výskytu metastáz by mohli být ušetřeni potenciálních komplikací či vedlejších účinků agresivní léčby. Naopak, vysoce riziková pacientí by mohli být vybráni pro novou adjuvantní nebo neo-adjuvantní léčbu. Jako jedna z možností určení potenciálního agresivního chování nádoru se v současné době jeví detekce mutace genu TP53, nebo overexprese proteinu p53 v nádorových buňkách.

Kontrolní bod mezi G1 a S fází buněčného cyklu

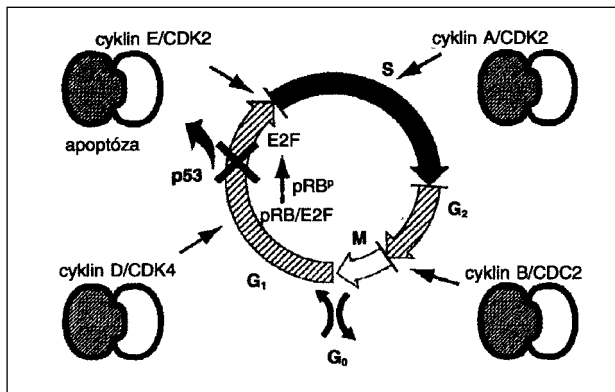
Buněčný cyklus je regulován sérií enzymatických reakcí umožňující buňce replikovat DNA a dělit se. Je to jednosměrný proces popsáný ve čtyřech krocích: v G₁ fázi se buňka připravuje k replikaci DNA; v S fázi buňka replikuje svou DNA; v G₂ fázi se buňka připravuje k dělení; a v M fázi se buňka dělí. Přechody mezi jednotlivými fázemi buněčného cyklu, vstup do další fáze a zakončení předchozí fáze jsou přísně regulovány a uskutečňují se podle určitého geneticky určeného programu. K zastavení buněčného dělení může dojít vlivem endogenních či exogenních podnětů, jakými jsou např. hypoxie, cytokiny, mezibuněčný kontakt nebo poškození DNA (7). Obvyklými kontrolními body jsou hranice mezi G₁ a S fází a G₂ a M fází (8).

Graf 1: Incidence a mortalita karcinomu prostaty 1990-1999.



G₁/S je obzvláště důležitý kontrolní bod, protože zde buňka může zastavit proces dělení aniž by při tom „vyplývala“ energii na replikaci DNA. V předcházející G₁ fázi je prováděna kontrola integrity genomu a popřípadě jsou opravovány poškozené úseky DNA (9). Tím je zamezeno replikaci případných chyb. Regulace těchto procesů je zprostředkována především p53 a jeho následnými efekty (6). p53 odpovídá na poško-

Obr. 1: Průběh buněčného cyklu je kontrolován proteinovými komplexy skládajícími se z cyklinů a cyklin-dependentních kináz (CDK). Jednotky cyklin A-CDK2 plní svou regulační funkci během fáze S a cyklin B-CDC2 kontroluje vstup do mitózy. Je vyznačen tzv. kontrolní bod p53 G₁. Zvýšení hladiny buněčného p53 divokého typu je odpovědí na poškození DNA, které může vést buď k zastavení G₁ nebo k aktivaci apoptózy, v závislosti na typu buněk, v němž k poškození došlo. Je zde také znázorněna navržená funkce pRB, který tvoří v nízkofosforylovaném stavu komplexy s proteiny vázajícími DNA, např. s E2F. Po fosforylaci pRB uvolněný transkripční faktor E2F zřejmě stimuluje transkripci buněčných genů podílejících se na indukci fáze S.



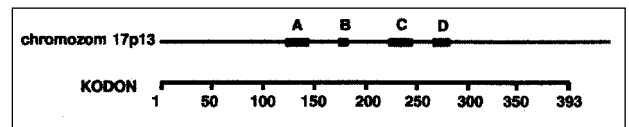
zení DNA zastavením buněčného cyklu pomocí p21^{cip1/waf1} a aktivací transkripcí reparačních enzymů pro DNA jako např. GADD45. Pokud se cyklus nedá zastavit nebo opravu nelze uskutečnit, p53 vyvolá apoptózu buď přímo nebo pomocí bax (10). (obr. 1)

Některé abnormality či poruchy buněčného cyklu jsou spojeny se vznikem nádorového onemocnění. Neschopnost správně reagovat na signály k zastavení buněčného dělení, jako ztráta kontaktní inhibice, je charakteristickou vlastností maligních nádorových buněk. Změny regulace průběhu buněčného cyklu také mohou změnit schopnost buňky účinně reagovat na poškození DNA. V buňkách, u nichž došlo k mutacím regulátorů buněčného cyklu jako např. p53, se hromadí genetické defekty, které v důsledku toho podporují vznik agresivnějšího fenotypu. Změněné exprese nebo mutace proteinů buněčného cyklu tak mohou nejen umožnit nekontrolovaný nádorový růst, ale také přispět k progresi onemocnění a tvorbě metastáz (6).

Protein p53 a TP53 supresorový gen Gen TP53 (obr.1) lokalizovaný na 17p13.1, se skládá z 11 exonů a 10 intronů a kóduje nukleární fosfoprotein o hmotnosti 53 kDa, který je označován jako p53. Pro jednoznačné odlišení od patalogického proteinu je protein fyzi-

ologický v literatuře označován jako „wild type p53“ (wt p53). Protein je tvořen 393 aminokyselinami, které byly z funkčního hlediska rozděleny do 4 domén. Druhá doména, nacházející se mezi aminokyselinami 102 a 292, je zodpovědná za vazbu se specifickými DNA sekvencemi v regulačních oblastech genů ovlivňovaných cestou p53 (11,12). V oblasti kódující tuto doménu, v exonech 5-8, vzniká přes 90% mutací TP53 (13,14). (obr. 2)

Obr. 2: Oblasti genu TP53 kritické pro maligní transformaci. A – kodon 132 – 143; B – kodon 174 – 179; C – kodon 236 – 248; D – kodon 272 – 281.



Za normální situace je protein p53 udržován v buňce v nízké koncentraci díky krátkému poločasu (5-45 min.). K aktivaci TP53 jsou nezbytné signály, objevující se při některých stresových situacích, které mají za následek zvýšení transkripcí a translace p53, ale zřejmě i aktivaci a stabilizaci latentního p53 již v buňce přítomného. Takovými signály jsou všechny druhy poškození DNA. Dalším signálem k aktivaci TP53 je hypoxie (15). Mnoho nádorů se v době dosažení kritické velikosti nachází v relativní hypoxii na podkladě limitovaného cévního zásobení. p53 ovlivňuje také trombospondin, který působí jako antiangiogenní faktor a s jehož pomocí může p53 redukovat krevní zásobení nádorové tkáně. Pro regulaci aktivity p53 je významná vazba s řadou celulárních proteinů, například s mdm-2, p21 a dalšími.

Vztah TP53 a nádorového onemocnění

Inaktivace TP53 znamená významnou poruchu kontrolního mechanismu, která umožňuje buňce s poškozeným genomem projít G1 fází a udržet se v buněčném cyklu. Postupně tak vzniká klon alterovaných buněk, mnohem snadněji podlehajících dalším změnám, které mohou vyústit až do maligní transformace.

Ztráta tumor supresorové funkce TP53 může být následkem řady dějů na molekulární úrovni. Předpokládají se čtyři možné situace, způsobující absenci fyziologického proteinu p53:

1. Ztráta heterozygoty (LOH – „lost of heterozygosity“), kdy se kombinuje bodová mutace v jedné alele s delecí celé alely druhé. V tomto případě neobsahuje buňka fyziologickou alelu.
2. Tvorba komplexů s celulárními a virovými onkoproteiny, které protein p53 inaktivují (virové proteiny, mdm-2 protein).
3. Negativně dominantní mutace, která v heterozygotním stavu dominantně ovlivňuje fenotyp prostřednictvím defektního proteinu brzdícího funkci proteinu kódovaného standardní alelou (16).
4. Nesprávná lokalizace proteinu p53 v buňce. U některých malignit byl protein p53 imunohistochemicky prokázán v cytoplazmě, tedy mimo oblast svého působení (17).

TP53 a karcinom prostaty

Bodové mutace TP53, vedoucí k zvýšené expresi mutovaného proteinu p53, jsou nejčastější molekulární alterace popisované u lidských solidních nádorů (18). Jednou z možností záchytu patologie TP53 nebo jeho proteinového produktu je přímý záchyt mutace sekvenováním DNA. Avšak nejčastěji využívanou metodou je imunohistochemické vyšetření proteinu p53 (obr. 3,4). Monoklonální protilátka D07 proti p53 může být spolehlivě použita k detekci jak wt p53, tak mutovaného proteinu p53 (14,19-21). Zvýšená exprese proteinu p53 byla imunohistochemicky detegována u 8-64% prostatických karcinomů (13,14,19,20,22-24). Tak velké rozmezí ve výskytu p53 pozitivních prostatických karcinomů je způsobeno metodickým odlišením různých studií (různé tkáňové vzorky, nukleární a cytoplasmatické barvení, různé druhy protilátek) (23).

Existují přesvědčivé důkazy o tom, že mutace TP53 hrají u karcinomu prostaty důležitou roli. Isaacs a kol. (25) prokázali výskyt těchto mutací u tří buněčných linií a jednoho klinického vzorku. Opětovné vnesení divokého typu p53 do buněk potlačilo jejich tumorigenitu (25). Následné studie potvrdily, že mutace TP53 se vyskytují jak u primárních, tak u metastatických nádorů. Frekvence mutací TP53 se u primárního karcinomu prostaty pohybuje v rozmezí 1 - 42 % (26-28). LOH studie ukazují, že delece genu TP53 se objevuje přibližně u 16% primárních, nemetastazujících karcinomů prostaty (rozmezí 0-50%) (26,28,29). Imunohistochemicky je p53 detekován ve 2 - 22 % vzorků primárních karcinomů prostaty (26-28). Chi a kol. (30) identifikovali mutace u 15 (34%) ze 44 primárních nádorů a u 2 (50%) ze 4 metastáz. Další studie potvrdily výskyt mutací u 10-35% neléčených primárních nádorů a u 40-50% metastatických hormonálně refrakterních onemocnění (31). Apakama a kol. (20) pozorovali zvýšenou expresi p53 u 29 % primárních tumorů. U pacientů s hormonálně refrakterním onemocněním byla zvýšená exprese p53 přítomna u 2/3 tumorů. Zdá se, že existuje jasná tendence zvyšování výskytu mutací genu TP53 s pokročilejší chorobou.

Abnormální exprese p53 byla důkladně studována jako diagnostický příznak agresivního karcinomu. Zvýšená exprese p53 je u karcinomu prostaty spojována s androgen-independentním fenotypem (22,32). V některých studiích byla nalezena pozitivní korelace mezi zvýšenou expresí p53, gradingem, stágingem, progresí a rekurencí onemocnění (14,19,20,23). Navone a kol. (33) vyšetřili 45 primárních nádorů, 9 metastáz v lymfatických uzlinách a 48 kostních metastáz KP a zjistili, že existuje

tube zřejmý vztah mezi pozitivitou p53 a stágingem, gradingem a androgen-independentním KP. Stapleton a kol. (14) pozorovali, že p53 imunopozitivita a apoptotický index byly biologickými markery nádorové rekurence.

U hormonálně refrakterních prostatických karcinomů Koivisto a Rantala (21) pozorovali, že zvýšená exprese p53 koreluje s amplifikací genu androgenního receptoru. Jejich výsledky prokazují, že mutace TP53, způsobující genetickou nestabilitu, umožňuje podskupině prostatických karcinomů dosáhnout vlastností, které jim umožňují růst i přes nízké hodnoty androgenů, a tudíž způsobují další nádorovou progresi. Nupponen a kol. (34), prokázali u hormonálně refrakterních karcinomů abnormality nejen na chromozomu 17p, ale také na chromozomu 1p, 7, 8, 10q, 13q, 17q, 18q, 19, 22 a Xq. Obdobné výsledky byly pozorovány v buněčné kultuře (35) a tato genetická heterogenita může být rovněž důvodem špatné prognózy u hormonálně refrakterních karcinomů.

Meyers a kol. (36) udává, že mutace TP53 jsou spojeny se zvýšeným metastatickým potenciálem karcinomu prostaty. Řada studií se zaměřila na to, zda pozměněná exprese p53 u vzorků z radikálních prostatektomií předurčuje pacienty k neúspěšné léčbě. Studie provedená v nemocnici Henryho Forda prokázala souvislost mezi zvýšenou expresí p53 a kratší dobou přežití pacientů bez onemocnění. Tato studie je pozoruhodná vzhledem k vysokému počtu nádorů vykazujících pozitivitu p53 (20 ze 32, tj. 80%) (37). Bauer a kol. (38) prokázali pozitivitu exprese p53 u 114 ze 175 (tj. 65%) vzorků z radikálních prostatektomií. Pomocí multivariátní analýzy zjistili, že existuje silná korelace mezi intenzitou exprese a dobou přežití pacientů bez onemocnění. Teodororescu a kol. (39) také prokázali jasnou souvislost mezi zvýšenou expresí p53 u vzorků z radikálních prostatektomií a špatnými klinickými výsledky, a to jak pomocí Kaplan-Meierovy, tak i multivariátní analýzy. Brooks a kol. (40) prokázali, že abnormální exprese p53 se sice zvyšuje s postupující chorobou, nepodařilo se jim ale nalézt vztah mezi zvýšenou expresí a gradingem, stágingem či dobou přežití pacientů bez onemocnění. Některé další studie prokázaly, že lokálně rekurentní karcinomy prostaty po radikální prostatektomii nebo radioterapii (RT) mají signifikantně vyšší expresi p53 než mají tumory před léčbou (21,24).

Dalším důležitým zjištěním je to, že alterace TP53 genu mohou hrát roli v rozvoji radiací rezistence (41,42). V různých nádorech bylo identifikováno několik regulačních genů, včetně Bcl-2, TP53, C-myc a Ras, ovlivňujících „spuštění“ apoptózy. Spekuluje se o tom, že defekty v takovýchto regulačních genech mohou limitovat schopnost buňky indukovat programovanou buněčnou smrt a výsledkem je rezistence k agens, které vyvolává cytotoxicitu cestou indukce apoptózy (např. RT) (41). Řada studií doložila, že letální efekt ionizujícího záření je v určitých buňkách nesoucích mutace TP53 genu zeslaben (28,42). Genetická alterace TP53 genu tak může být využívána jako marker předpovědi úspěchu či neúspěchu lokální terapie karcinomu prostaty ionizujícím zářením (41,43). Souhrnně lze říci, že mutace TP53, nepochybně prokazatelné u karcinomu prostaty, hrají významnou roli v progresi nádoru a v přechodu v hormonálně independentní karcinom. Údaje o využití p53 jako biomarkeru jsou zatím rozporuplné, většína studií však poukazuje na souvislost overexpres p53 s agresivitou choroby. Obtíže v interpretaci a porovnání výsledků těchto studií vyplývají především z okolností, že jednotlivé studie využívaly jiné techniky, protilátky a hraničních hodnot pro stanovení positivity p53. I přes tyto nedostatky má p53 jako biomarker karcinomu prostaty nejbližší k rutinnímu využití, za předpokladu provedené dokonalejší standardizace jeho detekce a interpretace získaných výsledků.

Práce byla zpracována za přispění grantu GAUK číslo 30/2001/3. LF.

Literatura

1. Dijkman, G. A., Debruyne, F. M. J.: Epidemiology of prostate cancer. *Eur. Urol.*, 30, 1996, 281.
2. Greenlee, R. T. et al.: Cancer statistic, 2001. *CA Cancer J. Clin.*, 51, 2001, 15-36.
3. Ústav zdravotnických informací a statistiky, Národní onkologický registr ČR, Praha 2001.
4. Sauvain J.-L., Palasac P., Zachoval R., Bourcheid D., Bloqueau P., Bremon J.-M., Jung L., Maniere P., Urban M.: Zobrazení vaskularizace prostaty power Dopplerem a jeho trojrozměrnou (3D) rekonstrukcí: stanovení vyhodnocovacích kritérií a význam vyšetření při určení diagnózy a stádia karcinomu prostaty. *Česká radiologie*, 54, 2000, ž. 6, s. 339-346.
5. Partin A. W., Kattan, M. W., Subong, E. N. et al.: Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. *JAMA*, 277, 1997, 1445-1451.
6. Kattan, M. W., Eastham, J. A., Stapleton, A. M. et al.: A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 90, 1998, 766-771.
7. Clurman, B. E., Porter, P.: New insights into the tumor suppression function of P27(kip1). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 1998, 15158-15160.
8. Nasmyth, K.: Viewpoint: putting the cell cycle in order. *Science*, 274, 1996, 1643-1645.
9. Sherr, C. J.: Cancer cell cycles. *Science*, 274, 1996, 1672-1677.
10. Levine, A. J.: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 88, 1997, 323-331.
11. Fields, S., Jang, S. K.: Presence of a potent transcription activating sequence in the p53 protein. *Science*, 249, 1990, 1046-1049.
12. Cho, Y., Gorina, S., Jeffrey, P. D., Pavletich, N. P.: Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: Understanding tumorigenic mutations. *Science*, 265, 1994, 346-355.
13. Salem, C. E., Tomasic, N. A., Elmajian, D. A. et al.: p53 protein and gene alterations in pathological stage C prostate carcinoma. *J. Urol.*, 158, 1997, 510-514.
14. Stapleton, A. M. F., Zbell, P., Kattan, M. W. et al.: Assessment of the biologic markers p53, Ki-67, and apoptotic index as predictive indicators of prostate carcinoma after surgery. *Cancer*, 82, 1998, 168-175.
15. Graeber, T. G., Osmanian, C., Jack, T. et al.: Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumors. *Nature*, 379, 1996, 88-91.
16. Rosypal, S.: Úvod do molekulární biologie. Díl 1-3. 2. rozšířené vydání, Brno, 1997, 839.
17. Levine, A. J.: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 88, 1998, 323-331.
18. Porter, P. L., Gown, A. M., Kramp, S. G., Coltrera, M. D.: Widespread p53 overexpression in human malignant tumours: an immunohistochemical study using methacarn-fixed, embedded tissue. *Am. J. Pathol.*, 140, 1992, 145-153.
19. Matsushima, H., Sasaki, T., Goto, T. et al.: Immunohistochemical study of p21^{WAF1} and p53 proteins in prostatic cancer and their prognostic significance. *Hum. Pathol.*, 29, 1998, 778-783.
20. Apakama, I., Robinson, M. C., Walter, N. M. et al.: bcl-2 overexpression combined with p53 protein accumulation correlates with hormone-refractory prostate cancer. *Br. J. Cancer*, 74, 1996, 1285-1262.
21. Koivisto, P., Rantala, I.: Amplification of the androgen receptor gene is associated with p53 mutation in hormone-refractory recurrent prostate cancer. *J. Pathol.*, 187, 1999, 237-241.
22. Byrne, R. L., Wilson Horne, C. H., Robinson, M. C. et al.: The expression of waf-1, p53 and bcl-2 in prostatic adenocarcinoma. *Br. J. Urol.*, 79, 1997, 190-195.
23. Moul, J. W., Bauer, J. J., Sesterhenn, I. A. et al.: Re: p53 protein and gene alterations in pathological stage C prostate carcinoma. *J. Urol.*, 158, 1997, 1648.
24. Grossfeld, G. D., Olumi, A. F., Connolly, J. A. et al.: Locally recurrent prostate tumors following either radiation therapy or radical prostatectomy have changes in Ki-67 labeling index, p53 and bcl-2 immunoreactivity. *J. Urol.*, 159, 1998, 1437-1443.
25. Isaacs, W. B., Carter, B. S., Ewing, C. M.: Wild-type p53 suppresses growth of human prostate cancer cells containing mutant p53 alleles. *Cancer Res.*, 51, 1991, 4716-4720.
26. Brooks, J. D., Bova, G. S., Ewing, C. M. et al.: An uncertain role for p53 gene alterations in human prostate cancers. *Cancer Res.*, 56, 1996, 3814-3822.
27. Wertz, I. E., Deitch, A. D., Gumerlock, P. H. et al.: Correlation of genetic and immunodetection of TP53 mutations in malignant and benign prostate tissues. *Hum. Pathol.*, 27, 1996, 573-580.
28. Ruijter, E., van de Kaa, Ch., Miller, G. et al.: Molecular genetics and epidemiology of prostate carcinoma. *Endocr. Rev.*, 20, 1999, 22-45.
29. Ittmann, M. M.: Loss of heterozygosity on chromosomes 10 and 17 in clinically localized prostate carcinoma. *Prostate*, 28, 1996, 275-281.
30. Chi, S. G., de Vere White, R. W., Meyers, F. J. et al.: p53 in prostate cancer: frequent expressed transition mutations. *J. Natl. Cancer Inst.*, 86, 1994, 926-933.
31. Heidenberg, H. B., Bauer, J. J., McLeod, D. G. et al.: The role of the p53 tumor suppressor gene in prostate cancer: a possible biomarker? *Urology*, 48, 1996, 971-979.
32. Burchardt, M., Burchardt, T., Shabsigh, A. et al.: Reduction of wild type p53 function confers a hormone resistant phenotype on LNCaP prostate cancer cells. *Prostate*, 48, 2001, 225-230.
33. Navone, N. M., Troncoso, P., Pisters, L. L. et al.: p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 85, 1993, 1657-1669.
34. Nupponen, N. N., Kakkola, L., Koivisto, P., Visakorpi, T.: Genetic alterations in hormone-refractory recurrent prostatic carcinomas. *Am. J. Pathol.*, 153, 1998, 141-148.
35. Yang, M., Loda, M., Szytkowski, A. J.: Identification of genes expressed differentially by LNCaP or PC-3 prostate cancer cell lines. *Cancer Res.*, 58, 1998, 3732-3735.
36. Meyers, F. J., Gumerlock, P. H., Chi, S. G. et al.: Very frequent p53 mutations in metastatic prostate carcinoma and in matched primary tumors. *Cancer*, 83, 1998, 2534-2539.
37. Stricker, H. J., Jay, J. K., Linden, M. D. et al.: Determining prognosis of clinically localized prostate cancer by immunohistochemical detection of mutant p53. *Urology*, 47, 1996, 366-369.
38. Bauer, J. J., Sesterhenn, I. A., Mostofi, F. K. et al.: Elevated levels of apoptosis regulator proteins p53 and bcl-2 are independent prognostic biomarkers in surgically treated clinically localized prostate cancer. *J. Urol.*, 156, 1996, 1511-1516.
39. Theodorescu, D., Broder, S. R., Boyd, J. C. et al.: p53, bcl-2 and retinoblastoma proteins as long-term prognostic markers in localized carcinoma of the prostate. *J. Urol.*, 158, 1997, 131-137.
40. Brooks, J. D., Bova, G. S., Ewing, C. M. et al.: An uncertain role for p53 gene alterations in human prostate cancers. *Cancer Res.*, 56, 1996, 3814-3822.
41. Prendergast, N. J., Atkins, M. R., Schatte, E. C. et al.: p53 immunohistochemical and genetic alterations are associated at high incidence with post-irradiated locally persistent prostate carcinoma. *J. Urol.*, 155, 1996, 1685-1692.
42. Lee, J. M., Bernstein, A.: p53 mutations increase resistance to ionizing radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 1993, 5742-5746.
43. Huang, A., Gandour-Edwards, R., Rosenthal, S. A.: p53 and bcl-2 immunohistochemical alterations in prostate cancer treated with radiation therapy. *Urology*, 51, 1998, 346-351.

BUNĚČNÁ IMUNOTERAPIE NÁDORŮ

CELLULAR IMMUNOTHERAPY OF CANCER

MICHÁLEK J.^{1,2}, SVOBODA M.^{3,4}

¹ DĚTSKÁ KLINIKA, MASARYKOVA UNIVERZITA, BRNO A

² CANCER IMMUNOBIOLOGY CENTER, UNIVERSITY OF TEXAS SOUTHWESTERN MEDICAL CENTER, DALLAS, TEXAS, USA.

³ DEPT. OF ADULT ONCOLOGY, DANA – FARBER CANCER INSTITUTE, BOSTON, MASSACHUSETTS, USA

⁴ DEPT. OF MEDICINE, HARVARD MEDICAL SCHOOL, BOSTON, MASSACHUSETTS, USA.

Souhrn: Důvodem využití buněk imunitního systému k léčbě nádorového onemocnění je imunogenní povaha nádorových buněk. Buňky imunitního systému jsou schopny rozpoznat nádorové buňky a v konečném důsledku je zničit. Cílem tohoto sdělení je ukázat stručný přehled možností a současných klinických zkušeností s tímto novým způsobem protinádorové léčby, zejména pak adoptivní imunoterapie s využitím antigen specifických T lymfocytů.

Klíčová slova: imunoterapie, buňka, nádor

Summary: The rationale for the use of immune system cells to fight cancer is the immunogenicity of tumor cells. Immune system cells are capable to recognize and finally kill the tumor cells. The aim of this article is to review the possibilities and recent clinical experience with this novel anticancer treatment, namely with adoptive immunotherapy using antigen specific T cells.

Key words: immunotherapy, cell, cancer

Úvod

Buněčná imunita hraje klíčovou roli při ochraně organismu proti nádorovému onemocnění. Buněčná imunoterapie spočívá v podání buněk imunitního systému s protinádorovou aktivitou jedinci postiženému nádorovým onemocněním. Úspěch buněčné terapie závisí na typu podaných buněk, jejich schopnosti cíleně zasáhnout nádorovou tkáň a schopnosti obejít toleranci a imunosupresi vyvolanou nádorem (1). Přestože většina studií byla provedena na myších modelech, několik terapeutických přístupů již prokázalo účinnost v klinických studiích. Různé druhy buněk jsou schopny rozpoznat nádor a vést k jeho zničení. Nespecifický protinádorový potenciál byl potvrzen u NK buněk (NK=natural killer=přírozený zabíječ), LAK buněk (lymphokine activated killer=lymfokiny aktivovaný zabíječ) a aktivovaných monocytů/makrofágů. Specifický protinádorový účinek zprostředkovaný antigen-prezentující buňkou (APC) byl prokázán u CD4⁺ a CD8⁺ T lymfocytů. Studie využívající dendritických buněk jako vakcíny v imunoterapii nádorů přesahují rozsah tohoto sdělení a nebudou proto zmíněny.

Nespecifická buněčná imunoterapie

Cílem nespecifické buněčné imunoterapie je posílení protinádorové imunity nezávisle na specifických nádorových antigenech. Původní koncept pochází od Coleyho, který popsal regresi solidních nádorů po injekci bakteriálních toxinů s cílem stimulace imunitního systému (2). Obvyklým postupem je kultivace efektorových buněk *ex vivo* s látkami, které aktivují nebo posilují jejich protinádorový účinek. Výhodou nespecifické buněčné terapie je: 1) možný účinek na široké spektrum nádorů; 2) efektorové buňky mohou být aktivovány a expandovány *ex vivo* aktivačními látkami, které jsou jinak příliš toxické *in vivo*; 3) aktivované efektorové buňky jsou injikovány příjemci v době, kdy je předpokládán jejich optimální účinek (např. v době persistence minimální reziduální nemoci po úspěšné indukční protinádorové terapii) (1,3).

LAK buňky

LAK buňky jsou lymfocyty expandované *ex vivo* pomocí inter-

leukinu IL-2. Na myších modelech s B16 melanomem bylo prokázáno prodloužené přežití po infúzi LAK buněk (3). V klinických studiích byla terapie LAK buňkami se současným podáním IL-2 neúspěšnější u melanomu a karcinomu ledviny, avšak tento přístup nepřinesl lepší výsledky než podání samotného IL-2 (4).

NK buňky

NK buňky hrají významnou roli v protinádorové imunitě a odvrhnutí allogenní transplantované tkáně vzhledem ke schopnosti likvidovat buňky s nedostatečnou expresí vlastních antigenů histokompatibilitě (MHC) I. třídy. Studie na myších modelech postrádajících T lymfocyty ukázaly, že NK buňky jsou schopny rejekce primárního nádoru a významně redukovat metastatický potenciál nádorových buněk (5). Novým poznatkem s možným klinickým využitím je zjištění, že aktivované NK buňky dárce mohou inhibovat potransplantační reakci štěpu proti hostiteli po allogenní transplantaci kostní dřeně, a přitom si uchovávají schopnost reakce štěpu proti nádoru (6,7).

Aktivované monocyty/makrofágy

Imunoterapie s využitím monocytů/makrofágů aktivovaných *in vitro* interferonem gama je založena na studiích prokazujících regresi podkožních nádorů na myších modelech (8). Monocyty jsou snadno dostupné, v klinických studiích byly velmi dobře tolerovány. Přestože nebyly dosud doloženy kompletní nebo parciální odpovědi, některé studie prokázaly zastavení nádorového růstu, nekrózu nádorové masy, redukci ascitu a zmírnění chemorezistence nádoru (8-10). Tumor nekrotizující faktor alfa je zřejmě hlavním cytokinem aktivovaných monocytů/makrofágů zodpovědným za protinádorovou aktivitu (5).

Specifická buněčná imunoterapie

Adoptivní imunoterapie s využitím specifického převodu buněk představuje nové možnosti cílené léčby mnoha onemocnění včetně zhoubných nádorů. Převod buněk imunitního

systemu s protinádorovou aktivitou můžeme rozdělit přinejmenším do dvou kategorií: tumor infiltrující lymfocyty (TIL) a antigen-specifické lymfocyty.

Tumor infiltrující lymfocyty

TIL jsou lymfocyty získané přímo z nádorové tkáně a kultivované *in vitro* za přítomnosti IL-2. Na myších modelech s různými typy lidských nádorů (karcinom, melanom, sarkom) byl prokázán nádorově specifický cytotoxický účinek TIL (3), avšak použití TIL v klinických studiích nepřineslo očekávané výsledky. Snahy o kultivaci buněčných linií TIL byly pouze částečně úspěšné, neboť většina těchto linií nebyla dostatečně specifická vůči nádorovým buňkám *in vivo* (11). Pouze pacienti s melanomem a karcinodem ledviny vykazovali zlepšení léčebné odpovědi, pravděpodobně vzhledem k tomu, že tyto nádory jsou více imunogenní (12,13). 34-38% pacientů s metastatickým melanomem vykazovalo objektivní léčebnou odpověď (OR) nezávisle na předchozí chemoterapii. Léčebný efekt přetrvával zpravidla několik měsíců (3,4,11,12). Několik studií dokumentovalo OR u pacientů s karcinomem ledviny. Podle použitého protokolu stimulace TIL interleukinem IL-2 byla OR dosažena u 20% pacientů (13), při použití CD8⁺ TIL až u 43% (14). Další studie testující optimální využití TIL probíhají.

Antigen specifické lymfocyty

Na rozdíl od TIL, jejichž podání je závislé na vysokých dávkách IL-2 s řadou nežádoucích účinků (13), představuje podání lymfocytů, které by byly schopny specificky rozpoznat nádorové antigeny, možnost cíleně zasáhnout nádorové buňky. Níže uvedené preklinické i klinické studie v posledním desetiletí jsou toho důkazem. Spolu se zavedením metod, které umožňují izolaci genů kódujících antigeny rozpoznávané T lymfocyty, bylo vyvinuto několik technologií použitelných k detekci nádorových antigenů. Boon a spol. (15) jako jeden z prvních popsal metodiku identifikace klonů cytotoxických T lymfocytů (CTL) izolovaných od pacientů s nádorovým onemocněním, která spočívá v transfekci autologních buněk sekvencemi z cDNA knihovny vytvořené z RNA z autologních nádorových buněk. CTL byly schopny rozpoznat a cíleně zničit buňky transfekované cDNA kódující nádorový antigen (15). Další způsob, jak určit nádorové antigeny, spočívá v sérologické analýze proteinů připravených z rekombinantních cDNA knihoven (SEREX). Sérum pacientů s nádorem je použito k detekci proteinů exprimovaných bakteriemi transfekovanými nádorovou cDNA (16). Nejnovější technologií úspěšně použitelnou k identifikaci nádorových antigenů představují „DNA čipy“ (pracující s kompletní kódující sekvencí

přírodních genů) a jejich modifikace „microarrays“ (využívající pouze několika oligonukleotidů odvozených z kódující sekvence). Právě jejich pomocí je možno stanovit profil genové exprese nádoru a identifikovat geny kódující potenciální nádorové antigeny (17-19). Cílem je nalézt takový nádorový antigen, který by byl: a) intenzivně exprimován nádorovou buňkou; b) hrál nepostradatelnou úlohu v procesu karcinogeneze, a to nejlépe v časných stádiích; c) obsahoval co nejvíce imunogenních epitopů s vysokou afinitou k HLA systému (existuje řada komerčně i veřejně dostupných databází a programů ke stanovení predikce HLA afinity) (20).

Antigenní epitopy rozpoznávané CTL jsou odvozeny z proteinů tumorigenních virů, mutovaných autologních proteinů, nadměrně exprimovaných proteinů nebo embryonálních proteinů, které jsou normálně přítomny pouze v určité fázi ontogeneze. Přehled vybraných antigenů je uveden v tabulce č. 1. Existuje mnoho přístupů, jak využít nádorové antigeny v klinické praxi. Pacienti mohou být imunizováni DNA, RNA, proteiny nebo peptidy odvozenými z těchto antigenů. Lymfocyty imunizovaných pacientů izolované z periferní krve nebo z lymfatické uzliny drénující místo vakcinace mohou být dále manipulovány a expandovány *in vitro* ve smyslu selekce CTL s vysokou specifitou k danému nádorovému antigenu, případně geneticky modifikovány např. genetickým transferem růstových faktorů (genu pro IL-2) nezbytných pro dlouhodobé přežití CTL po infúzi *in vivo* (23,24).

Přestože bylo nalezeno velké množství nádorových antigenů, které za ideálních *in vitro* podmínek vedou ke vzniku protinádorově reagujících T lymfocytů, nelze očekávat, že všechny budou úspěšné při léčbě nádorů *in vivo*. Existuje mnoho důvodů proč T lymfocyty specificky reaktivované *in vitro* selhávají v protinádorovém efektu *in vivo* (25-27). Některé mechanismy jsou uvedeny v tabulce č. 2. Tyto limitace je nutno brát v potaz při sestavování klinických studií, které v současné době teprve hledají své místo vedle standardních léčebných postupů.

Dosavadní klinické zkušenosti s CTL

Nejlepších klinických výsledků bylo dosaženo v prevenci a léčbě virem-asociovaných nádorových onemocnění. Infekce Epstein-Barrové virem (EBV), kde replikace EBV je kontrolována specifickými CTL, může způsobovat potenciálně letální imunoblastický lymfom u pacientů po alogenní transplantaci kostní dřene s deplecí dárcovských T lymfocytů (28). Adoptivním převodem anti-EBV specifických dárcovských CTL lze dramaticky snížit incidenci EBV infekce po transplantaci. U 39 dětských pacientů, kteří byli považováni za vel-

Tab. 1: Antigeny stimulující specifickou protinádorovou buněčnou imunitu (21,22).

Vznik/povaha nádorového antigenu	Označení	Typ nádoru
Produkt virového genu u malignit asociovaných s virovou infekcí	HPV E6 a E7 proteiny EBV LMP-1, EBNA-1 proteiny	Karcinom děložního krčku Hodgkinova nemoc, nasofaryngeální karcinom
Mutované geny nebo specifické chromozomální přestavby	p21 ras BCR/ABL PML/RARA ETV6/AML1 Beta katenin, MUM-1 EWS/FLI-1 PAX-3/FKHR	Cca 10% všech nádorů Chronická myeloidní leukémie Akutní promyelocytární leukémie Pre-B akutní lymfoblastická leukémie Maligní melanom Ewingův sarkom Alveolární rhabdomyosarkom
Nadměrně exprimované produkty normálních genů	Telomeráza Her-2/neu n-myc WT-1	Cca 85% všech nádorů Karcinom prsu Neuroblastom Akutní leukémie
Tkáňově specifické produkty normálních genů	Tyrosináza, melan A, gp100, TRP-1, TRP-2	Maligní melanom
Produkty normálních genů, které v dospělosti nejsou exprimovány	MAGE, BAGE, GAGE, RAGE, NY/ESO proteiny	Maligní melanom a další epiteliální nádory
Idiotypové proteiny	Imunoglobulinové řetězce	B non-Hodgkinský lymfom, mnohočetný myelom

Tab. 2.: Možnosti selhání protinádorového efektu specifických T lymfocytů.

Faktory závislé na nádorové buňce a jejím okolí	<ul style="list-style-type: none"> ● Ztráta nádorového antigenu mutací či delecí ● Snížení exprese nádorového antigenu ● Maskování nádorového antigenu jiným proteínem ● Produkce imunosupresivních cytokinů (IL-10, TGF-β*) ● Modulaace nádorové vaskulatury
Faktory závislé na zpracování nádorového antigenu	<ul style="list-style-type: none"> ● Interference při zpracování a prezentaci nádorového antigenu nádorového antigenu APC ● Chybějící kostimulace
Faktory závislé na T lymfocytu	<ul style="list-style-type: none"> ● Navození anergie tumor-reaktovaných T lymfocytů ● Ztráta T lymfocytů exprimujících vysokoafinity TCR**
Jiné faktory	<ul style="list-style-type: none"> ● Navození apoptózy nádorově specifických lymfocytů ● Eliminace nádorově specifických lymfocytů

*TGF-β = transformující růstový faktor beta

**TCR = T-cell receptor (T lymfocytární receptor)

mi rizikové z hlediska indukce potransplantačního EBV lymfomu, byl úspěšně proveden převod dárcovských anti-EBV CTL. Tyto EBV-specifické lymfocyty přežily v těle příjemců až 18 týdnů a zabránily vzniku lymfomu u všech takto léčených pacientů. Navíc dva pacienti s již rozvinutým potransplantačním EBV lymfomem se dostali do kompletní remise po infúzi EBV-specifických CTL (28). Tyto povzbudivé výsledky ukazují, že buněčná terapie využívající EBV-specifické buněčné linie T lymfocytů může být s výhodou použita k léčbě dalších malignit asociovaných s EBV, jako například nasofaryngeální karcinom a EBV-pozitivní Hodgkinův lymfom. Roskow a spol. (29) léčil tři pacienty s rezistentním, několikrát relabovaným, Hodgkinovým lymfomem pomocí autologních EBV-specifických CTL. CTL perzistovaly po více než 13 týdnů po infúzi, potencovaly imunitní odpověď pacienta vůči EBV a uchovaly si silný protivirový efekt *in vivo*.

Dalším úspěchem protivirové buněčné imunoterapie je adoptivní transfer CTL specifických k cytomegaloviru (CMV). Život ohrožující CMV nemoc se objevuje u pacientů po alogenní transplantaci a koreluje s absencí CMV-specifických T lymfocytů (30,31). Adoptivní převod CMV-specifických CTL klonů izolovaných od dárce transplantátu je schopen restaurovat imunitu vůči CMV. Infúze až $10^9/m^2$ CD8⁺ CTL byla podána 14 pacientům s vysokým rizikem potransplantačního CMV nemoci. Léčba dárcovskými CTL nebyla spojena s žádnou toxicitou a CMV-specifické CTL perzistovaly déle než 12 týdnů. U žádného z takto léčených pacientů nedošlo k rozvoji CMV infekce po transplantaci (30). Povzbudivé výsledky přinesla také studie s přenosem HIV-1-specifických CTL třem HIV-1 pozitivním pacientům. Podané CTL si uchovaly lytickou funkci, akumulovaly se v lymfatických uzlinách v oblastech přiléhajících k HIV-1 infikovaným buňkám a dočasně snížily hladinu cirkulujících infikovaných CD4⁺ T lymfocytů (32).

Všechny výše zmíněné klinické studie s adoptivním převodem virově-specifické imunity ukazují vysokou efektivitu a specifitu s minimem vedlejších účinků. Mohou sloužit jako příklad pro imunoterapeutické protokoly zaměřené specificky na

nádorové antigeny. CTL mohou být senzitivovány *in vivo* nebo *in vitro* celými nádorovými buňkami, jejich lysáty, nádorově-specifickými proteiny či peptidy. Výběr individuálních klonů T lymfocytů s vysokým stupněm specifity vůči vhodnému nádorovému antigenu může významně zlepšit klinický léčebný výsledek, jak bylo ukázáno v několika preklinických studiích (23,24). Další studie na myších modelech ověřily přesně definované nádorově-specifické antigeny, které lze vybrat pro klinickou studii. Tyto studie také poukázaly na vztah mezi *in vitro* aviditou T lymfocytů k nádorovému antigenu a efektivitou adoptivního transferu *in vivo* (24,33). Dudley a spol. (34) na základě preklinických testů provedl klinickou studii u 13 pacientů s metastatickým melanomem využívající buněčnou linii CTL specifickou vůči peptidu gp100 (viz Tab. 1). Přestože tato studie postrádala významnější klinickou efektivitu u těchto značně předlžených pacientů (jeden pacient dosáhl minoritní odpovědi a jeden pacient dosáhl smíšené odpovědi), ukázala možnost *in vitro* kultivace a následné expanze CTL specifických k jasně definovanému nádorovému antigenu. Infúze CTL nebyla spojena s vážnými vedlejšími účinky. CTL podlely záhy apoptóze, neboť již za dva týdny po infúzi nebyly detekovatelné v těle pacientů, což je několikanásobně kratší doba, než po jakou byly detekovány virus-specifické CTL ve výše zmíněných studiích (28-31). Příprava dostatečného množství tumor-specifických CTL, které budou schopny přežít dostatečně dlouhou dobu v těle hostitele představuje v současné době značnou překážku pro uplatnění této nové léčebné strategie.

Alogenní transplantace kostní dřeně a reakce štěpu proti nádoru

Alogenní transplantace kostní dřeně (TKD), která je používána k léčbě zejména hematologických malignit, představuje značný imunoterapeutický potenciál označovaný jako reakce štěpu proti leukemii/nádoru (GVL/GVT=graft-versus-leukemia/tumor) (35,36). Limitujícím faktorem alogenní TKD je zpravidla reakce štěpu proti hostiteli (GVHD=graft-versus-host disease), která velmi často provází GVL (37). Příkladem existence GVL efektu je úspěšná léčba relapsu (u 70-80 % pacientů) chronické myeloidní leukémie po TKD dárcovskými lymfocyty (38). Podobný efekt byl popsán u pacientů s akutní myeloidní leukémií, chronickou lymfatickou leukémií a některých non-hodgkinových lymfomů (39,40). Současný výzkum je orientován na nalezení linií či klonů dárcovských T lymfocytů zodpovědných za GVL/GVT, které by postrádaly reaktivitu ve smyslu GVHD (40,41).

Závěr

Jak jsme ukázali na několika příkladech, buněčná protinádorová imunoterapie si postupně začíná budovat místo vedle standardních léčebných postupů v onkologii. Přispěly k tomu zejména nové poznatky z oblasti základní imunologie, nádorové imunobiologie, molekulární biologie a rozvoj nových biotechnologií. Podobně jako každá nová metoda, prochází i buněčná imunoterapie dramatickými změnami v metodických přístupech; hlavní cíl však zůstává neměnný: porozumět a vhodně využít potenciál imunitního systému při léčbě zhoubného nádorového onemocnění. Jak vyplývá z textu, hlavní zájem je v současné době věnován antigen specifickým T lymfocytům.

Literatura

1. Ben-Efraim S. Cancer immunotherapy: Hopes and pitfalls: Review. *Anti-cancer research* 1996; 16: 3235-40.
2. Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin Orthop* 1991; 262: 3-11.

3. Dudley ME. Cell transfer therapy: Basic principles and preclinical studies. In: *Biologic therapy of cancer* 2001: 305-21.
4. Bremers AJA, Parmiani G. Immunology and immunotherapy of human cancer: present concepts and clinical developments. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000; 34: 1-25.
5. Schreiber H. *Tumor immunology*. 2-nd ed., Paul WE ed. 1989: 923-55.

6. Murphy WJ, Longo DL. The potential role of NK cells in the separation of graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Immunol Rev* 1997; 157: 167-76.
7. Ruggeri L, Capanni M, Martelli MF, et al. Cellular therapy: exploiting NK cell alloreactivity in transplantation. *Curr Opin Hematol* 2001; 8: 355-9.
8. Ben-Efraim S. One hundred years of cancer immunotherapy. A critical appraisal. *Tumor Biol* 1999; 20: 1-24.
9. Hennemann B, Beckmann G, Eichelmann A, et al. Phase I trial of adoptive immunotherapy of cancer patients using monocyte-derived macrophages activated with interferon gamma and lipopolysaccharide. *Cancer Immunol Immunother* 1998; 45: 250-6.
10. Bartolleys J, Romet-Lemonne JL, Chokri M, et al. Immune therapy with macrophages: present status and critical requirements for implementation. *Immunobiology* 1996; 195: 550-62.
11. Kammula US, Marincola FM. Cancer immunotherapy: Is there real progress at last? *Biodrugs* 1999; 11: 249-60.
12. Rosenberg SA, Yannelli JR, Yang JC, et al. Treatment of patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2. *J Natl Cancer Inst* 1994, 86: 1159-1166.
13. Weis GR, Margolin KA, Aronson FR, et al. A randomized phase II trial of continuous infusion interleukin-2 or bolus injection interleukin-2 plus lymphokine-activated killer cells for advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1992; 10: 275-81.
14. Figlin RA, Pierce WC, Kaboo R, et al. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with nephrectomy, interleukin-2 and cytokine-primed or CD8(+) selected tumor infiltrating lymphocytes from primary tumor. *J Urol* 1997; 158: 740-5.
15. Van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991, 254: 1643-1647.
16. Sahin U, Tureci O, Schmitt H, et al. Human neoplasms elicit multiple specific immune responses in the autologous host. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, 92: 11810-11813.
17. Mathiasen S, Laue ML, Ruhwald M, et al. Tumor-associated antigens identified by mRNA expression profiling induce protective anti-tumor immunity. *Eur. J. Immunology* 2001;31:1239-1246.
18. Wang T, Hopkins D, Reed SG, et al. Identification of genes differentially over-expressed in lung squamous cell carcinoma using of cDNA subtraction and microarrays analysis. *Oncogene* 2000;19:1519-1528.
19. Zammatteo N, Lockman L, Remacle J, et al. DNA microarrays to monitor the expression of MAGE-A genes. *Clinical Chemistry* 2002;48 (1):25-34.
20. Schultze JL, Vonderheide RH. From cancer genomics to cancer immunotherapy: toward second-generation tumor antigens. *Trends in Immunology* 2001;9:516-522.
21. Renkvist N, Chiara C, Paul FR, et al. A listing of human tumor antigens recognized by T cells. *Cancer Immunol Immunother* 2000; 50: 3-15.
22. Van den Eynde BJ, Van den Bruggen P. T cell defined tumor antigens. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 684-93.
23. Hanson HL, Donermeyer DL, Ikeda H, et al. Eradication of established tumors by CD8+ T cell adoptive immunotherapy. *Immunity* 2000, 13: 265-276.
24. Shilyansky J, Yang JC, Custer MC, et al. Identification of a T-cell receptor from a therapeutic murine T-cell clone. *J Immunother* 1997, 20: 247-55.
25. Theobald M, Ruppert T, Kuckelkorn U, et al. The sequence alteration associated with a mutational hotspot in p53 protects cells from lysis by cytotoxic T lymphocytes specific for a flanking peptide epitope. *J Exp Med* 1998, 188: 1017-1028.
26. Staveley-O'Carroll K, Sotomayor E, Montgomery J, et al. Induction of antigen-specific T-cell anergy: an early event in the course of tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95: 1178-1183.
27. Cohen PA, Peng L, Kjaergaard J, et al. T-cell adoptive therapy of tumors: mechanisms of improved therapeutic performance. *Crit Rev Immunol* 2001, 21: 215-248.
28. Rooney CM, Smith CA, Ng CYC, et al. Infusion of cytotoxic T cells for the prevention and treatment of Epstein-Barr virus-induced lymphoma in allogeneic transplant recipients. *Blood* 1998, 92: 1549-1555.
29. Roskow MA, Suzuki N, Gan Y, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T lymphocytes for the treatment of patients with EBV-positive relapsed Hodgkin's disease. *Blood* 1998, 91: 2925-2934.
30. Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, et al. Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor. *N Engl J Med* 1995, 333: 1038-1044.
31. Riddell SR, Greenberg PD. T-cell therapy of cytomegalovirus and human immunodeficiency virus infection. *J Antimicrob Chemother* 2000, 45: 35-43.
32. Brodie SJ, Lewinsohn DA, Patterson BK, et al. In vivo migration and function of transferred HIV-1-specific cytotoxic T cells. *Nature Med* 1999, 5: 34-41.
33. Alexander-Miller MA, Leggett GR, Berzofsky JA. Selective expansion of high- or low-avidity cytotoxic T lymphocytes and efficacy for adoptive immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, 93: 4102-4107.
34. Dudley ME, Wunderlich J, Nishimura MI, et al. Adoptive transfer of cloned melanoma-reactive T lymphocytes for the treatment of patients with metastatic melanoma. *J Immunother* 2001, 24: 363-373.
35. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1991; 75: 555-562.
36. Barrett AJ, Malkovska V. Graft-versus-leukemia: understanding and using the alloimmune response to treat hematological malignancies. *Br J Haematol* 1996; 93: 754-761.
37. Ferrara JLM, Deeg HJ. Graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 667-674.
38. Collins RH Jr, Shpilberg O, Drobyski WR, et al. Donor leukocyte infusions in 140 patients with relapsed malignancy after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1997; 15: 433-444.
39. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia. *Blood* 1995; 86: 2041-2050.
40. Van Rhee F, Kolb HJ. Donor leukocyte transfusions for leukemic relapse. *Curr Opin Hematol* 1995; 2: 423-430.
41. Datta AR, Barrett AJ, Jiang YZ, et al. Distinct T cell populations distinguish chronic myeloid leukemia cells from lymphocytes in the same individual: a model for separating GVHD from GVL reactions. *Bone Marrow Transplant* 1994; 14: 517-524.

PREVALENCE AUTOIMUNITNÍCH TYREOPATIÍ U ŽEN S KARCINOMEM PRSU VE SROVNÁNÍ S KOLOREKTÁLNÍM KARCINOMEM

PREVALENCE OF AUTOIMMUNE THYROID DISEASES IN WOMEN WITH BREAST CANCER IN COMPARISON WITH COLORECTAL CANCER

JISKRA J., LÍMANOVÁ Z., BARKMANOVÁ J.*, FRIEDMANNOVÁ Z.*

III. INTERNÍ KLINIKA I. LF UK A VFN, PRAHA
* ONKOLOGICKÁ KLINIKA I. LF UK A VFN, PRAHA

Souhrn: Východiska: Dosavadní výzkumy ukázaly, že se autoimunitní tyreopatie vyskytují často u žen s karcinodem prsu, a naznačily i lepší prognózu žen s karcinodem prsu a současnou tyreopatií. **Typ studie a soubor:** Cílem studie bylo porovnat výskyt autoimunitních tyreopatií u dvou věkově srovnatelných skupin žen (66 s karcinodem prsu a 68 s kolorektálním karcinodem) a zjistit možný vztah ke stadiu choroby, terapii a nádorovým markerům. **Metody a výsledky:** U každé osoby byly metodou chemiluminiscence stanoveny sérové koncentrace tyreostimulačního hormonu (TSH), volného tyroxinu (fT4), protilátek proti tyreoglobulinu (TGB-ab) a tyreoperoxidáze (TPO-ab) a nádorových markerů CEA, CA 15-3 a CA 19-9. Sérové koncentrace TSH, fT4 a TPO-ab se v obou skupinách nelišily. Koncentrace TGB-ab byly vyšší u žen s karcinodem prsu oproti kolorektálnímu karcinomu (mediány: 35,80 vs. 31,75 kIU.1.10⁻¹, p<0,0008) a rovněž procento pozitivit TGB-ab a TPO-ab bylo vyšší u žen s karcinodem prsu (TGB-ab: 15,15% vs. 10,29%, TPO-ab: 15,15% vs. 11,76%). U 19,70% žen s karcinodem prsu byla zjištěna hladina TSH nad 3,5 mIU.1.10⁻¹ oproti 14,70% žen s kolorektálním karcinodem. Ženy s karcinodem prsu s TSH nad 3,5 mIU.1.10⁻¹ měly nižší hladiny CEA oproti ženám s TSH pod 3,5 (mediány CEA: 0,75 vs. 1,7 ng.1.10⁻¹, p=0,046). **Závěr:** Vyšší procento žen s pozitivitou TPO-ab a TGB-ab a s TSH nad 3,5 mIU.1.10⁻¹ ukazuje na vyšší výskyt autoimunitních tyreopatií u žen s karcinodem prsu.

Klíčová slova: karcinom prsu, tyreoidální autoprotilátky, tyreostimulační hormon

Summary: Backgrounds: Previous research has shown a high prevalence of autoimmune thyroid diseases in women with breast cancer and has suggested better survival rate in women with breast cancer and contemporary thyroopathy. **Design and subjects:** The aim of the study was to compare the prevalence of autoimmune thyroopathies in two age-comparable groups of women (66 with breast cancer and 68 with colorectal cancer) and to find out a possible relationship to stage of disease, therapy and tumor markers. **Methods and results:** Serum levels of thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (fT4), antibodies to thyroglobulin (TGB-ab) and thyroperoxidase (TPO-ab) and tumor markers CEA, CA 15-3 and CA 19-9 were investigated in all subjects with use of chemiluminiscence method. Serum levels of TSH, fT4 and TPO-ab were comparable in both groups. Serum levels of TGB-ab were higher in group with breast cancer compare to colorectal cancer (medians: 35,80 vs. 31,75, p<0,0008), likewise the percentage of positive TGB-ab and TPO-ab serum levels was higher in women with breast cancer (TGB-ab: 15,15% vs. 10,29%, TPO-ab: 15,15% vs. 11,76%). Serum levels of TSH above 3,5 mIU.1.10⁻¹ were found in 19,70% women with breast cancer compare to 14,70% with colorectal cancer. Women with breast cancer and TSH above 3,5 mIU.1.10⁻¹ had lower serum levels of CEA compare to women with TSH below 3,5 (medians CEA: 0,75 vs. 1,7 ng.1.10⁻¹, p=0,046). **Conclusions:** The increased percentage of women with TGB-ab and TPO-ab positivity and with TSH above 3,5 mIU.1.10⁻¹ suggests high frequency of autoimmune thyroid diseases in women with breast cancer.

Key words: breast cancer, thyroid autoantibodies, thyroid stimulating hormone

Úvod

Vzájemný vztah mezi chorobami štítné žlázy a karcinodem prsu je řadu let předmětem intenzivního zájmu. Obě onemocnění se vyskytují častěji u žen a byl prokázán vyšší výskyt subklinických tyreoidálních autoimunitních poruch (na rozdíl od prosté nodózní strumy) u žen s karcinodem prsu (až u 30%).

U pacientek s karcinodem prsu byl ultrazvukovým vyšetřením potvrzen větší průměrný objem štítné žlázy než u zdravých žen (1,2) a ve vysokém procentu byla také prokázána pozitivita sérových protilátek proti tyreoidální peroxidáze (TPO-ab) – podle některých studií až v 34% (2,3). Navíc podle našich předchozích zkušeností téměř 10% pacientek s karcinodem prsu vykazuje zvýšené hladiny TSH, svědčící o subklinické či manifestní hypotyreóze (4,5). U benigních mastopatií je udáván výskyt strumy až v 80% (6) a pozitivita protilátek proti tyreoidální peroxidáze (TPO-ab) asi ve

28% případů (3). U postmenopauzálních žen s benigní mastopatií byla pozorována snížená hladina T3 při normálních hladinách TSH a T4 ve srovnání se zdravou populací (7).

Rozsáhlá retrospektivní studie 9520 žen s karcinodem prsu v Massachusetts General Hospital ukázala lepší dlouhodobou prognózu přežití u žen s karcinodem prsu se současnou autoimunitní tyreopatií, na rozdíl od pacientek bez tyreoidálního postižení (8). Předpoklad, že autoimunitní tyreopatie může zpomalit progresi a příznivě ovlivnit léčbu karcinomu prsu, byl podpořen i ve studiích Smythe a Sheringa (3,9). V recentní studii na řecké populaci byly pozitivní tyreoidální protilátky nalezeny u 37,7% žen s karcinodem prsu oproti 19% žen s benigními mastopatiemi a 18,4% žen bez onemocnění prsu. S využitím FNAB byla autoimunitní tyreoiditis prokázána u 19 z 310 (13,23%) žen (10). Autoři nesledovali sérové hladiny TSH.

Cíl práce

Cílem naší práce bylo porovnat výskyt tyreoidálních poruch u dvou skupin žen s různým onkologickým onemocněním – karcinomem prsu a kolorektálním karcinomem. Zajímalo nás rovněž, existuje-li nějaký vztah stadia nádorového onemocnění, sérových hladin nádorových markerů a onkologické léčby (chemoterapie, hormonální terapie a aktinoterapie) k parametrům tyreoidální funkce a tyreoidální autoimunity.

Pacienti a metody

Do studie bylo zařazeno 136 náhodně vybraných žen s malignitami: 66 s karcinomem prsu - CaB, průměrný věk $63,50 \pm 11,75$ a 68 s kolorektálním karcinomem - CaC, průměrný věk $66,87 \pm 10,82$. Obě skupiny pacientek pocházely ze stejné geografické oblasti (Praha). Pacientky byly rozděleny podle stadia onkologického onemocnění a druhu onkologické terapie. 2 ženy s karcinomem prsu, již léčené tyreoidálními hormony, byly ze studie vyřazeny. U každé osoby byla odebrána osobní a rodinná anamnéza se zaměřením na autoimunitní, endokrinní a nádorové choroby, bylo provedeno klinické vyšetření, sonografie štítné žlázy a metodou chemiluminiscence byly stanoveny sérové koncentrace tyreostimulačního hormonu (TSH), volného tyroxinu (fT4) a protilátek proti tyreoperoxidáze (TPO-ab) a tyreoglobulinu (TGB-ab) a tyreoglobulinu (TGB-ab). U části souboru byly vyšetřeny sérové hladiny nádorových markerů (karcinoembryonální antigen – CEA, CA 15-3 a CA 19-9) - rovněž metodou chemiluminiscence.

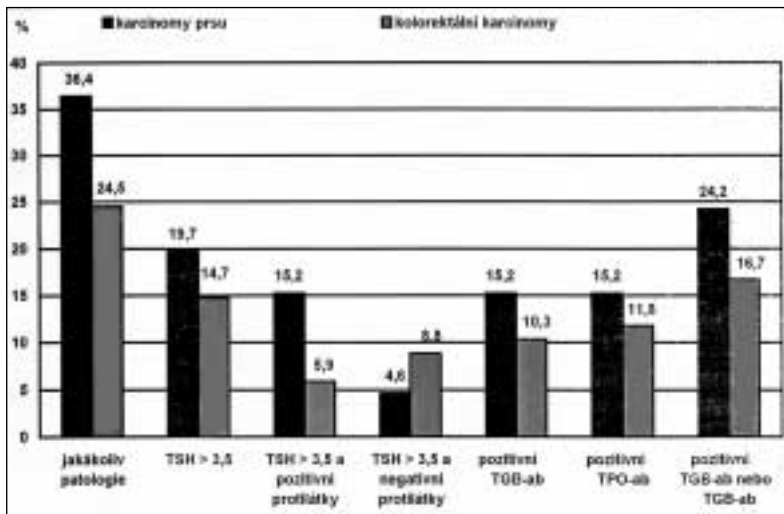
Za normální hodnoty považujeme: TSH $0,5 - 3,5$ mIU.l.10⁻¹ (11), fT4 $9,8-23,1$ pmol.l.10⁻¹, TGB-ab <100 kIU.l.10⁻¹, TPO-ab <20 kIU.l.10⁻¹, CEA $0-5,0$ ug.l.10⁻¹, CA 15-3 $0-31,0$ kIU.l.10⁻¹, CA 19-9 $0-37,0$ kIU.l.10⁻¹. Výsledky byly statisticky hodnoceny pomocí χ^2 -testu, dvouvýběrového párového testu, testu Mann-Whitney, Pearsonova a Spearmanova koeficientu s využitím statistického programu Sigmatstat.

Výsledky

Jakákoliv patologie v tyreoidálních laboratorních testech (TSH, fT4, TPO-ab, TGB-ab) byla prokázána u 36,40% žen s CaB oproti 24,50% žen s CaC (graf 1). TSH nad $3,5$ mIU.l.10⁻¹ bylo zjištěno u 19,70% žen s CaB oproti 14,70% žen s CaC (graf 1); statisticky tyto rozdíly nebyly významné. Rovněž rozdíly sérových koncentrací fT4 a TSH mezi oběma skupinami nedosáhly statistické významnosti (tab. 1).

Ve skupině CaB byly zjištěny významně vyšší sérové koncentrace protilátek TGB-ab oproti CaC (mediány: 35,80 vs. 31,75, $p=0,0008$, průměry: 198,30 vs. 49,90) (graf 2, tab. 1). Sérové koncentrace protilátek TPO-ab se významně nelišily v obou skupinách (graf 2, tab. 1). Procento pozitivit protilátek TGB-ab a TPO-ab bylo vyšší u žen s CaB oproti ženám s CaC (TGB-ab: 15,15% vs. 10,29%, TPO-ab: 15,15% vs. 11,76%, TGB-ab nebo TPO-ab: 24,24% vs. 16,67%) (graf 1); tyto rozdíly opět nedosáhly statistické významnosti.

Graf 1. Souhrnné výsledky v procentech.



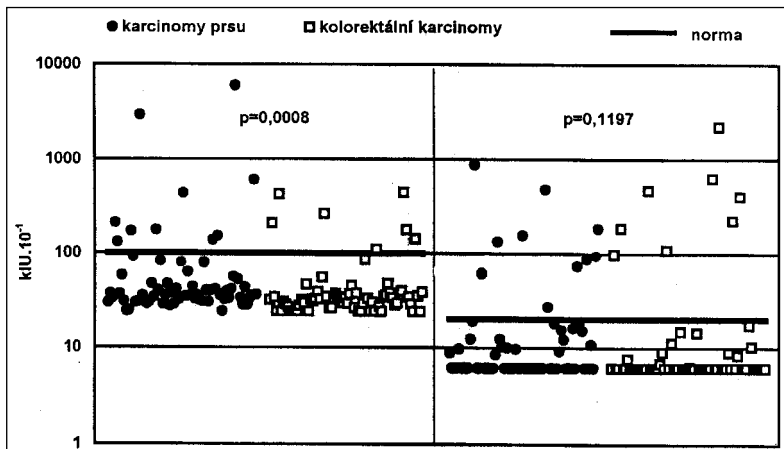
TSH: tyreostimulační hormon, TGB-ab: protilátek proti tyreoglobulinu, TPO-ab: protilátek proti tyreoidální peroxidáze

Tab. 1. Srovnání sérových hladin TSH, fT4, TGB-ab a TPO-ab u žen s karcinomem prsu a kolorektálním karcinomem.

	karcinomy prsu	kolorektální karcinomy	p
	medián (minimum...dolní kvartil...horní kvartil...maximum)		
n	66	68	
věk	65 (40...54...73...87)	69 (43...58...75...85)	0,0900
TSH	1,77 (0,15...1,04...2,84...47,9)	1,68 (0,33...1,15...2,41...9,26)	0,7790
fT4	15,70 (7,38...14,26...17,37...22,63)	15,10 (9,90...13,25...16,97...17,29)	0,0736
TGB-ab	35,80 (26,10...30,80...55,40...6000,00)	31,75 (24,1...26,50...37,00...445,20)	0,0008
TPO-ab	6,10 (6,10...6,10...12,20...871,00)	6,10 (6,10...6,10...7,20...2211,00)	0,1881

n: počet vyšetřených, TSH (mIU.l.10⁻¹), fT4 (pmol.l.10⁻¹), TGB-ab (kIU.l.10⁻¹), TPO-ab (kIU.l.10⁻¹): sérové koncentrace tyreostimulačního hormonu, volného tyroxinu, protilátek proti tyreoglobulinu a tyreoidální peroxidáze, vyjádřeno jako medián, minimum, dolní kvartil, horní kvartil a maximum, p: hladina významnosti (Mann-Whitney test)

Graf 2. Sérové hladiny TGB-ab a TPO-ab u žen s karcinomem prsu a kolorektálním karcinomem.



TGB-ab (kIU.l.10⁻¹): sérové koncentrace protilátek proti tyreoglobulinu, TPO-ab (kIU.l.10⁻¹): sérové koncentrace protilátek proti tyreoidální peroxidáze, p: hladina významnosti (Mann-Whitney test)

Z třinácti žen s TSH nad $3,5 \text{ mIU.l.}10^{-1}$ mělo ve skupině CaB současně pozitivní protilátky (TPO-ab či TGB-ab) deset (76,92%) a tři ženy (23,08%) měly protilátky negativní, na rozdíl od skupiny CaC, kde čtyři ženy z deseti (40,00%) měly protilátky pozitivní a šest žen negativní (60,00%).

Nebyl prokázán signifikantní vliv hormonální terapie tamoxifenem, chemoterapie ani aktinoterapie na tyreoidální laboratorní parametry.

Nenašli jsme žádný vztah mezi pozitivitou tyreoidálních protilátek, TSH a fT4 a stadiem a dobou trvání onkologického onemocnění u pacientek s CaB. Ve skupině CaC mělo 22 žen s trváním onemocnění delším než 5 let vyšší sérové koncentrace TSH oproti 46 pacientkám s chorobou kratší (mediány: $1,99$ vs. $1,52 \text{ mIU.l.}10^{-1}$, $p=0,039$), i když se obě skupiny věkově nelišily ($67,50 \pm 11,78$ v.s. $66,72 \pm 10,62$, $p=0,791$). Ve skupině s CaC byly u 44 žen s pokročilými stadii tumoru T3-4 signifikantně vyšší sérové hladiny TGB-ab ve srovnání se 24 ženami se stadii T1-2 (mediány: $34,2$ vs. $26,85 \text{ kIU.l.}10^{-1}$, $p=0,01$).

V obou skupinách byla zjištěna významná pozitivní korelace TGB-ab a TPO-ab (Spearmanův pořadový korelační koeficient, CaB: $r=0,432$, $p=0,000$, $n=66$, CaC: $r=0,260$, $p=0,034$, $n=68$) (graf 3), TSH a TPO-ab (CaB: $r=0,407$, $p=0,000$, $n=66$, CaC: $r=0,609$, $p=0,000$, $n=68$) (graf 4) a významná negativní korelace TSH a fT4 (Spearmanův pořadový korelační koeficient, CaB: $r=-0,446$, $p=0,001$, $n=66$, CaC: $r=-0,436$, $p=0,000$, $n=68$).

Ve skupině CaB nebyla zjištěna žádná signifikantní korelace nádorových markerů CEA a CA 15-3 s parametry tyreoidální funkce (TSH a fT4) a tyreoidální autoimunity (TGB-ab a TPO-ab). V této skupině však měly ženy se sérovými koncentracemi TSH nad $3,5 \text{ mIU.l.}10^{-1}$ signifikantně nižší koncentrace CEA oproti ženám s TSH pod $3,5 \text{ mIU.l.}10^{-1}$ (mediány CEA: $0,75$ vs. $1,7 \text{ ng.l.}10^{-1}$, $p=0,046$) (graf 5).

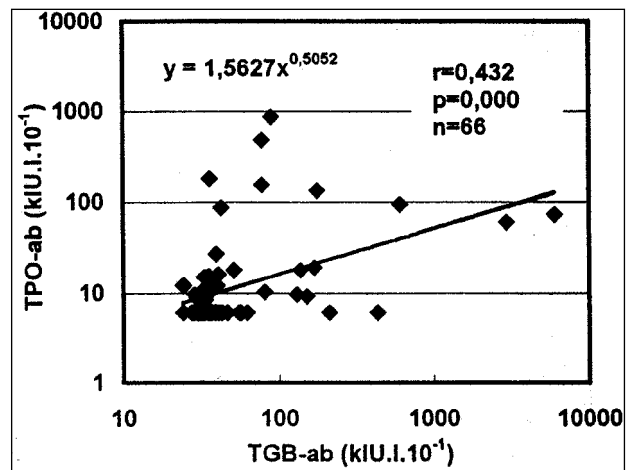
Ve skupině CaC byla zjištěna signifikantní negativní korelace TSH a CEA (Spearmanův pořadový korelační koeficient $r=-0,431$, $p=0,00172$, $n=51$) a signifikantní pozitivní korelace CA 19-9 s věkem (Pearsonův korelační koeficient $r=0,288$, $p=0,0475$, $n=37$). V této skupině nebyl zjištěn rozdíl v koncentracích nádorových markerů (CEA a CA 19-9) u žen s hladinami TSH nad a pod $3,5 \text{ mIU.l.}10^{-1}$.

V žádné ze skupin se signifikantně nelišily sérové koncentrace nádorových markerů u osob s pozitivními a negativními TGB-ab a TPO-ab. Ve skupině CaB hladiny CEA pozitivně korelovaly s CA 15-3 (Spearmanův pořadový korelační koeficient $r=0,423$, $p=0,00542$, $n=42$).

Diskuse

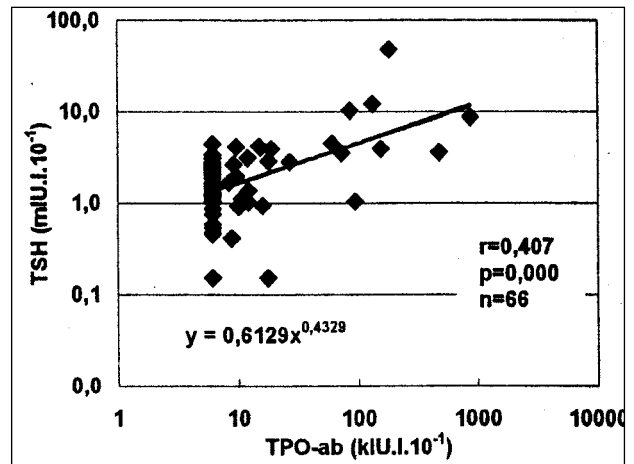
Jakákoliv patologie v tyreoidálních laboratorních parametrech byla pozorována u 36% žen s CaB a 25% žen s CaC. Ve všech sledovaných parametrech (TSH $> 3,5 \text{ mIU.l.}10^{-1}$, pozitivita TPO-ab a TGB-ab) kromě fT4, bylo procento patologických hodnot ve skupině CaB vysoké a bylo vyšší než ve skupině CaC, tyto rozdíly byly však menší než bychom předpokládali na základě předchozích údajů a nedosáhly při dané velikosti souboru statistické významnosti. Překvapivě vysoké procento patologických nálezů bylo zjištěno i ve skupině CaC. Nabízí se vysvětlení, že častější výskyt autoimunitní tyreoidální poruchy není specifický pro karcinom prsu, ale vyskytuje se obecně u žen vyšších věkových skupin, kde uniká diagnóze. Procento pozitivity protilátek TPO-ab bylo u žen s CaB v našem souboru menší (15,2%), než bylo některými autory udáváno – až 34% (3). Tento rozdíl může být zapříčiněn i rozdílným geografickým zásobením jodem při jeho potenciální úloze v patogenezi autoimunitních tyreopatií a karcinomu prsu. Funkce a regulace štítné žlázy může být u pacientek s karcinomem prsu ovlivněna onkologickou léčbou (chemoterapií, hormonální léčbou a aktinoterapií). Známé jsou zvýšené sérové koncentrace celkového T4 a T3 v důsledku zvýšení koncentrací vazebných proteinů pro T4 a T3 při léčbě antiestrogeny.

Graf 3. Pozitivní korelace TGB-ab a TPO-ab u žen s karcinomem prsu.



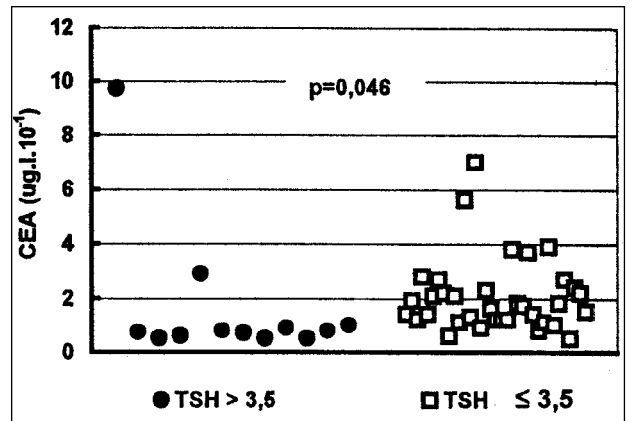
TGB-ab ($\text{kIU.l.}10^{-1}$): sérové koncentrace protilátek proti tyreoglobulinu, TPO-ab ($\text{kIU.l.}10^{-1}$): sérové koncentrace protilátek proti tyreoidální peroxidáze, r: Spearmanův pořadový korelační koeficient, p: hladina významnosti, n: počet vyšetřených

Graf 4. Pozitivní korelace TSH a TPO-ab u žen s karcinomem prsu.



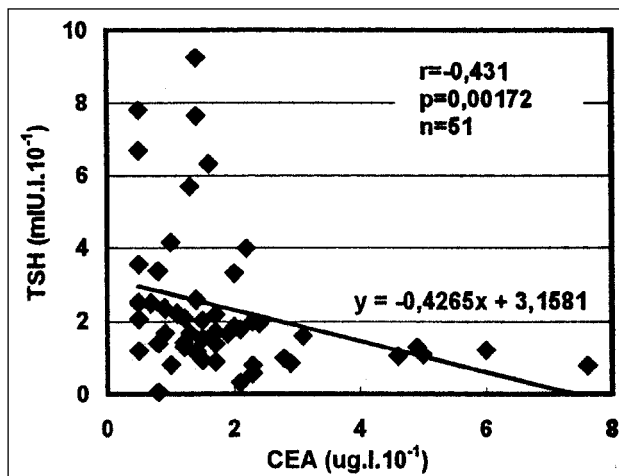
TSH ($\text{mIU.l.}10^{-1}$): sérové koncentrace tyreostimulačního hormonu, TPO-ab ($\text{kIU.l.}10^{-1}$): sérové koncentrace protilátek proti tyreoidální peroxidáze, r: Spearmanův pořadový korelační koeficient, p: hladina významnosti, n: počet vyšetřených

Graf 5. Rozdílné koncentrace karcinoembryonálního antigenu u žen s TSH pod a nad $3,5 \text{ mIU.l.}10^{-1}$ ve skupině karcinomu prsu.



CEA ($\text{ug.l.}10^{-1}$): sérové koncentrace karcinoembryonálního antigenu, TSH ($\text{mIU.l.}10^{-1}$): sérové koncentrace tyreostimulačního hormonu, p: hladina významnosti (Mann-Whitney test)

Graf 6. Negativní korelace TSH a CEA u žen s kolorektálním karcinomem.



CEA (ug.l.10⁻¹): sérové koncentrace karcinoembryonálního antigenu, TSH (mIU.l.10⁻¹): sérové koncentrace tyreostimulačního hormonu, r: Spearmanův pořadový korelační koeficient, p: hladina významnosti, n: počet vyšetřených

geny (tamoxifen) (12,13). Byl pozorován i pokles volného tyroxinu a trijodtyroninu, vzestup tyreoglobulinu, a signifikantní zvýšení TSH v séru po jednom roce užívání tamoxifenu (13). Jiná studie pozorovala pouze přechodné zvýšení hladiny TSH po třech měsících léčby s návratem do normálního rozmezí po 6 měsících terapie (14). Tamoxifen tedy vede ke zvýšení hladin celkového T4 prostřednictvím zvýšení vazebných proteinů, zatímco přímý vliv na syntézu, výdej a biologické využití hormonů štítné žlázy v periférii (vliv na dejodázy?) má asi jen přechodně a jen u některých osob. V našem souboru jsme neprokázali významný vliv hormonální terapie tamoxifemem, chemoterapie ani aktinoterapie na TSH, fT4, TPO-ab a TGB-ab v séru.

Předmětem intenzivního zájmu posledních let je potenciální účast jodu a jeho transportního proteinu natrium-jodidového symporteru (NIS) v rozvoji autoimunitních tyreopatií, benigních a maligních nádorů štítné žlázy, benigních a maligních nádorů prsu a využití získaných poznatků v diagnostice a terapii. Natrium jodidový symporter (jodidová pumpa, NIS) je protein v bazolaterální membráně tyreocytu odpovědný za vychytávání a transport jodu z intersticiální tekutiny do nitra tyreocytu. Energie je získávána současným štěpením ATP sodíkovou pumpou (Na/K ATP-ázou) (15). Fyziologickou funkcí NIS je zajištění dostatečné koncentrace jodidových iontů uvnitř tyreocytu, potřebné k syntéze tyreoidálních hormonů (16,17). Gen pro NIS je uložen na p raménku 19. chromozomu (18) a mutace tohoto genu může být jednou z příčin kongenitální hypotyreózy. Expresí NIS a intracelulární transport jodu jsou stimulovány TSH (15). V experimentu na tkáňových kulturách bylo zjištěno, že expresi NIS inhibují některé cytokiny (TNF- α a IL-1 inhibují jak bazální tak TSH indukovanou expresi NIS, IFN- γ inhibuje TSH stimulanou expresi) (19). Bylo zjištěno, že tyreoidální protilátky pacientů s Hashimotovou tyreoiditidou mohou inhibovat NIS (15). Zvýšená exprese byla prokázána u Graves-Basedowovy tyreotoxikózy a autonomních adenomů štítné žlázy, naopak snížená exprese u Hashimotovy tyreoiditidy a nádorů štítné žlázy (15), a to podle stupně jejich dediferenciace (18). Snížená exprese NIS buňkami nádorů štítné žlázy může být považována za časnou známku maligní transformace (20). Experimenty na zvířatech naznačují, že protražovaný jodový deficit vede ke stavu zvýšené stimulace tyreoidální tkáně nejen TSH, ale asi i jinými růstovými faktory. V oblastech s vysokým příjmem jodu sice nebyla prokázána snížená incidence karcinomů štítné žlázy,

byl však pozorován nižší podíl více agresivních folikulárních a anaplastických karcinomů a vyšší podíl méně agresivních papilárních karcinomů. Rovněž po zavedení profylaktického podávání jodu byl pozorován nárůst incidence papilárního karcinomu na úkor folikulárního (21).

Kromě tyreocytů byla exprese NIS prokázána i v tkáni prsní žlázy, buňkách žaludku, slinných žláz (22), vaječnících (18), hypofýzy, pankreatu, varlat, prostaty, nadledvin, srdce, thymu a plic (23). Expresí naopak nebyla zjištěna ve fibroblastech orbity, sliznici nosohltanu a tlustého střeva (23).

V experimentu na tkáňových kulturách buněk krysí mléčné žlázy bylo prokázáno, že vychytávání radioaktivního jodu i exprese NIS se výrazně zvyšuje v laktující mléčné žláze a je inhibována antagonisty oxytocinu a dopaminergními agonisty (bromocryptin). Podobně v kulturách buněk lidských karcinomu prsu byla po oxytocinu a prolaktinu zjištěna dávkově závislá zvýšená exprese mRNA pro NIS (24). Deficit jodu v prsní žláze vede k její vyšší vnímavosti k nádorovému zvratu. V prsních žlázách s jodovým deficitem byly pozorovány změny charakteru buněčných atypií, dysplazie až neoplazie. Jod deficitní buňky mléčné žlázy vykazují změněný poměr RNA/DNA a změny cytozolových estrogenových receptorů (25). Jedním z vysvětlení rozdílné geografické incidence karcinomu prsu může tedy být i různé zásobení mléčné žlázy jodem (26). V experimentu s krysími samicemi, u kterých byl pomocí 7,12-dimethyl-benzanthracenu (DMBA) indukován karcinom prsní žlázy, bylo pozorováno zpomalení růstu nádoru při kombinovaném podávání medroxyprogesteron acetátu (MPA) a anorganického jodu, ve srovnání s podáváním samotného MPA. Krysy, u kterých byl později zjištěn vyšší obsah anorganického jodu v nádorové tkáni, vykazovaly pomalejší růst tumoru (27). Podobný efekt byl dosažen podáváním mořských řas s vysokým obsahem jodu. V tumorech s pomalejším růstem byla navíc prokázána zvýšená exprese TGF- β a vyšší apoptotický index. Autoři uzavírají, že zvýšená koncentrace jodu může vést prostřednictvím zvýšené exprese TGF- β k indukci apoptózy nádorových buněk (28).

Především hladiny TGB-ab byly v naší studii signifikantně vyšší u osob s karcinomem prsu oproti kolorektálnímu karcinomu. Je známo, že antigenicita tyreoglobulinu stoupá s obsahem jodu v jeho molekule. Lze tedy vyslovit hypotézu, že ženy s vyššími titry protilátek proti tyreoglobulinu mohou být lépe zásobeny jodem, jsou náchylnější k rozvoji autoimunitní tyreopatie (vyšší antigenicita tyreoglobulinu) se (sub)klinickou hypotyreózou a přísun jodu u těchto žen může chránit prsní žlázu před rozvojem karcinomu a zlepšovat odpověď na onkologickou léčbu a dlouhodobou prognózu. V souladu s tím v naší studii měly ženy ve skupině karcinomu prsu s TSH nad 3,5 mIU.10.l⁻¹ signifikantně nižší sérové koncentrace CEA než ženy s hladinami TSH do 3,5. Ve skupině žen s kolorektálním karcinomem sice nebyl tento rozdíl patrný, byla zde však zjištěna silná negativní korelace TSH a CEA. Tato korelace může být ale vysvětlena i nespecifickou supresí TSH úměrně k závažnosti nádorového onemocnění, provázené elevací nádorových markerů. V této souvislosti by byl přínosný výzkum geografického výskytu karcinomu prsu a autoimunitních tyreopatií ve vztahu k odlišnému geografickému zásobení jodem.

Ve studii zabývající se obsahem jodu ve vzorcích z maligních a benigních nádorových změn prsu byl popsán vyšší obsah elementárního jodu ve vzorcích z fibroadenomů ve srovnání s karcinomy prsní žlázy. Zajímavým zjištěním bylo, že séra 19% pacientek s karcinomem prsu, 16% pacientek s fibroadenomem a 31% pacientek s Gravesovou chorobou inhibovala NIS-zprostředkované vychytávání sérového radioaktivně značeného ¹²⁵I v experimentu na buněčných kulturách, na rozdíl od kontrolních sér zdravých pacientek. Inhibice NIS byla prokázána u čištěného sérového IgG těchto osob. Schopnost inhibice NIS navíc statisticky významně korelovala s pozitivitou sérových protilátek TPO-ab u pacientek s karcinomem prsu, na rozdíl od žen s benigními onemocněními prsu, kde bylo sice pozorová-

no srovnatelné procento sér s inhibiční aktivitou, avšak bez závislosti na TPO-ab pozitivitě (29). Z těchto údajů lze vyvozovat, že inhibice vychytávání jodu, způsobená zablokováním NIS v prsní žláze, by mohla být prostředkována autoimunitními procesy (TPO-ab?). Důsledkem by pak mohl být jodový deficit v buňkách prsní žlázy a vyšší pravděpodobnost nádorového zvratu. To je však v rozporu s původním Goldmanovým pozorováním.

Etiopatogeneze autoimunitních tyreopatií se účastní různé cytokiny. Změny plazmatických hladin některých cytokinů byly pozorovány i u žen s karcinomem prsu. Byly zjištěny signifikantně vyšší plazmatické hladiny interleukinů IL-8 a zejména IL-6 u pacientek s progresí karcinomu prsu a také statisticky významná negativní korelace IL-6 a IL-8 s fT3 a fT4 (30). U pacientek s progresí onemocnění byl také pozorován vzestup hladiny prolaktinu a TSH a pokles fT4, ve srovnání s nemocnými v remisi (31). V terminální fázi rakoviny prsu byl pozorován pokles TSH a fT3 a fT4 (31), což odpovídá syndromu nízkého T3. Je možné, že zvýšené plazmatické hladiny některých cytokinů (např. IL-6) u žen s pokročilým karcinomem prsu jsou jednou z příčin porušené funkce štítné žlázy. V naší studii jsme neprokázali signifikantní změny sérových koncentrací TSH, fT4 a fT3 v závislosti na stadiu karcinomu prsu. Stanovení plazmatických hladin některých cytokinů u žen s karcinomem prsu a jejich vztah k rozvoji autoimunitních tyreopatií bude předmětem našich dalších studií.

Závěr

Vyšší incidence positivity TPO-ab a TGB-ab i vyšší procento

žen s TSH nad 3,5 mIU.l.10⁻¹ ukazuje na vyšší výskyt autoimunitních tyreopatií u žen s karcinomem prsu.

Má-li autoimunitní tyreopatie se (sub)klinickou hypothyreózou příznivý vliv na léčbu a dlouhodobou prognózu žen s karcinomem prsu, podílejí-li se změny plazmatických cytokinů u žen s karcinomem prsu na iniciaci autoimunitní tyreopatie, či jsou-li změny sérových hladin TSH a tyreoidálních protilátek u žen s karcinomem prsu jen laboratorní odchylkou v rámci nádorového onemocnění bez klinického významu, zůstává otevřenou otázkou. I když není dosud jasné, jak se na patogenézi obou chorob podílí stav zásobení organismu jodem, porucha natrium-jodidového symporteru (např. jeho inhibice imunologickými mechanismy) nebo změny plazmatických hladin některých cytokinů, nabízí se jeden z těchto mechanismů jako potenciální spojovací článek obou chorob.

Vysoký výskyt zvýšené sérové koncentrace TSH nad 3,5 mIU.l.10⁻¹ v obou skupinách pacientek (především ve skupině karcinomu prsu) a vysoký výskyt positivity tyreoidálních protilátek ve skupině žen s karcinomem prsu znovu otevírá otázku screeningového vyšetření TSH u vybraných skupin žen, z nichž jednou by mohly být ženy s karcinomem prsu. Ženy s pozitivními titry tyreoidálních protilátek a hraniční až vyšší hladinou TSH jsou ohroženy rozvojem hypothyreózy ať již v průběhu života, nebo při užívání některých léků (cytokiny, léky s obsahem jodu, lithia). Ženy z našeho souboru neměly žádné klinické známky tyreopatie a o patologii náležu nevěděly. Zjištění, že jde - z pohledu endokrinologa - o rizikové osoby stran onemocnění štítné žlázy, by mělo vést k lepší informovanosti o zdravotním stavu pacientek.

Literatura

1. Smyth P.P., Smith D.F., McDermott E.W., Murray M.J., Geraghty J.G., O'Higgins N.J.: A direct relationship between thyroid enlargement and breast cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81, 1996, 937-941.
2. Shering S.G., Zbar A.P., Moriarty M., McDermott E.W., O'Higgins N.J., Smyth P.P.: Thyroid disorders and breast cancer. *Eur. J. Cancer Prev.*, 6, 1996, 504-506.
3. Smyth P.P., Shering S.G., Kilbane M.T., Murray M.J., McDermott E.W., Smith D.F., O'Higgins N.J.: Serum thyroid peroxidase autoantibodies, thyroid volume, and outcome in breast cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 83, 1998, 2711-2716.
4. Límanová Z., Barkmanová J., Friedmannová Z., Kašparová E., Tichá, Spanlangová I., Jelínková A.: Thyroid gland function in women with breast carcinoma. *Vnitřní Lékařství*, 42, 1996, 605-609.
5. Límanová Z., Barkmanová J., Friedmanová Z.: The frequent incidence of thyroepaties in women with breast carcinoma. *Vnitřní Lékařství*, 44, 1998, 76-82.
6. Mizia-Stech K., Zych F., Widala E.: Mastopathy and simple goiter-mutual relationship. *Przegl. Lek.*, 55, 1998, 250-258.
7. Zych F., Mizia Stec K., Mucha Z., Zych F., Twardowska E.: Fibrocystic disease of breast and pituitary axis function. *Pol. Merkurius Lek.*, 1, 1996, 227-228.
8. Goldman M.B., Monson A.A., Maloof F.: Benign thyroid disease and risk of death from breast cancer. *Oncology*, 49, 1992, 461-466.
9. Shering S.G., Kilbane M.T., Smith D.F. et al.: Thyroid autoimmunity - a positive prognostic factor in breast cancer. *Journal of Endocrinology*, 151, 1997, 106.
10. Gogas J., Kouskos E., Tseleni-Balafouta S., Markopoulos C., Revenas K., Gogas G., Kostakis A.: Autoimmune thyroid disease in women with breast carcinoma. *Eur. J. Surg. Oncol.*, 27, 2001, 626-630.
11. Dayan C.M., Saravan P., Bayly G.: Whose normal thyroid function is better - yours or mine? *The Lancet*, 3, 2002, 353-354.
12. Mamby C.C., Love R.R., Lee K.E.: Thyroid function test changes with adjuvant tamoxifen therapy postmenopausal women with breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 13, 1995, 854-857.
13. Anker G.B., Lonning P.E., Aakvaag A., Lien E.A.: Thyroid function in postmenopausal breast cancer patients treated with tamoxifen. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 58, 1998, 103-107.
14. Zidan J., Rebenstein W.: Effect of adjuvant tamoxifen therapy on thyroid function postmenopausal women with breast cancer. *Oncology*, 56, 1999, 43-45.
15. Schmutzler C., Kohrle J.: Implications of the molecular characterization of the sodium-iodide symporter (NIS). *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 106, 1998, 1-10.
16. Zamrazil V.: Present status of the iodine supply and its results in the Czech Republic. *Cas. Lek. Cesk.*, 137, 1998, 611-618.
17. Zamrazil V., Cerovska J., Bilek R., Simeckova A., Vrbikova J., Dvorakova M., Hnikova O., Janeckova M., Tomiska F.: The effect of insufficient iodine intake on the size and function of the thyroid gland. *Bratisl. Lek. Listy*, 96, 1995, 609-612.
18. Smanik P.A., Ryu K.Y., Theil K.S., Mazzaferri E.L., Jhiang S.M.: Expression, exon-intron organisation of the human sodium iodide symporter. *Endocrinology*, 138, 1997, 3555-3558.
19. Ajjan R.A., Watson P.F., Findlay C., Metcalfe R.A., Crisp M., Ludgate M., Weetman A.P.: The sodium iodide symporter gene and its regulation by cytokines found in autoimmunity. *J. Endocrinol.*, 1558, 1998, 351-358.
20. Filletti S., Bidart J.M., Arturi F., Caillou B., Russo D., Schlumberger M.: Sodium/iodide symporter: a key transport system in the thyroid cancer cell metabolism. *Eur. J. Endocrinol.*, 141, 1999, 443-457.
21. Feldt-Rasmussen U.: Iodine and cancer. *Thyroid*, 11, 2001, 483-486.
22. Riedel C., Dohan O., De la Vieja A., Ginter C.S., Carrasco N.: Journey of the iodide transporter NIS: from its molecular identification to its clinical role in cancer. *Trends Biochem. Sci.*, 26, 2001, 490-496.
23. Spitzweg C., Joba W., Eisenmenger W., Huefelder A.E.: Analysis of human sodium iodide symporter gene expression in extrathyroidal tissues and cloning of its complementary deoxyribonucleic acid from salivary gland, mammary gland and gastric mucosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 83, 1998, 1746-1751.
24. Cho J.Y., Leveille R., Kao R., Rousset B., Parlow A.F., Burak W.E. Jr., Mazzaferri E.L., Jhiang S.M.: Hormonal regulation of radioiodide uptake activity and Na⁺/I⁻ symporter expression in mammary glands. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85, 2000, 2936-2943.
25. Eskin B.A.: Iodine and mammary cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 91, 1977, 293-304.
26. Smyth P.P.: The Thyroid and breast cancer: a significant association? *Ann. Med.*, 29, 1997, 189-191.
27. Funahashi H., Imai T., Tanaka Y., Tobinaga J., Wada M., Morita T., Yamada F., Tsukamura K., Oiwa M., Kikumori T., Narita T., Takagi H.: Suppressive effect of iodine on DMBA-induced breast tumor growth in the rat. *J. Surg. Oncol.*, 61, 1996, 209-213.
28. Funahashi H., Imai T., Tanaka Y., Tsukamura K., Hayakawa Y., Kikumori T., Mase T., Itoh T., Nishikawa M., Hayashi H., Shibata A., Hibi Y., Takahashi M., Narita T.: Wakame seaweed suppresses the proliferation of 7,12-dimethylbenz(a)-anthracene-induced mammary tumors in rats. *JPN J. Cancer Res.*, 90, 1999, 922-927.
29. Kilbane M.T., Ajjan R.A., Weetman A.P., Dwyer R., McDermott E.W., O'Higgins N.J., Smyth P.P.: Tissue Iodine Content and Serum-Mediated ¹²⁵I Uptake-Blocking Activity in Breast Cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85, 2000, 1245-1250.
30. Yokoe T., Iino Y., Takei H., Horiguchi J., Koibuchi Y., Maemura M., Ohwada S., Morishita Y.: Changes of cytokines and thyroid function in patients with recurrent breast cancer. *Anticancer Res.*, 17, 1997, 695-699.
31. Yokoe T., Iino Y., Takei H., Horiguchi J., Koibuchi Y., Maemura M., Ohwada S., Morishita Y.: Relationship between thyroid pituitary function and response to therapy in patients with recurrent breast cancer. *Anticancer Res.*, 16, 1996, 2069-2077.

CISPLATINA A ETOPOSID SO SIMULTÁNNOU KONVENČNOU RÁDIOTERAPIOU 60 GY PRI LIMITOVANOM ŠTÁDIU MALOBUNKOVÉHO KARCINÓMU PĽÚC

CISPLATIN AND ETOPOSIDE WITH CONCURRENT CONVENTIONAL RADIOTHERAPY 60 GY IN LIMITED STAGE SMALL-CELL LUNG CANCER

BERŽINEC P.¹, KLENOVSKÝ S.², BARÁTOVÁ H.², GÁLIKOVÁ J.², KUZMOVÁ H.¹, LIGOVÁ A.¹, PILLAJOVÁ, G.¹

¹ ONKOLOGICKÉ ODDELENIE I, VYSOKOŠPECIALIZOVANÝ ODBORNÝ ÚSTAV TUBERKULÓZY A RESPIRAČNÝCH CHORÔB, NITRA-ZOBOR

² ODDELENIE ONKOLOGIE A RÁDIOTERAPIE, FAKULTNÁ NEMOCNICA S POLIKLINIKOU, NITRA, SR

Súhrn: Východiská: Chemoterapia cisplatina - etoposid (PE) so simultánnou rádioterapiou (RT) je pri limitovanom štádiu malobunkového karcinómu pľúc (LD MBKP) novým štandardom liečby. Dávka RT 45 Gy použitá v kľúčovom US Intergroup Trial 0096 je však pri konvenčnej aplikácii (jedenkrát denne 1,8 Gy, päť dní v týždni) pokladaná za nedostatočnú. **Typ štúdie a súbor:** Do prospektívneho nerandomizovaného sledovania zameraného na simultánnu chemo-rádioterapiu so zvýšenou dávkou konvenčnej RT boli zaradení pacienti s LD MBKP, ktorí boli vo veľmi dobrom výkonnostnom stave (WHO 0-1). **Metódy a výsledky:** Použitý bol protokol liečby PE (4 cykly) so simultánnou konvenčnou RT v celkovej dávke 60 Gy. V r. 2000 - 2001 boli liečení 7 pacienti. Odpoveď na liečbu bola 100%. Kompletná remisia: 1, parciálna remisia: 6 - z toho v 5 prípadoch na hranici kompletnej remisie. Všetci pacienti prekonali neutropéniu, 4 (57%) stupeň III-IV WHO. Ďalšia toxicita bola iba stupňa I - II. Medián prežívania nie je docielený. **Záver:** Simultánnu chemo-rádioterapiu s použitím 4 cyklov PE a konvenčnou RT je efektívnou liečbou LD MBKP. Zvýšenie celkovej dávky konvenčnej RT zo 45 na 60 Gy je možné a vhodné pre klinickú prax.

Kľúčové slová: malobunkový karcinóm pľúc, chemo-rádioterapia

Summary: Backgrounds: Chemotherapy cisplatin - etoposide (PE) with concomitant radiotherapy (RT) is a new standard treatment for limited disease small-cell lung cancer (LD SCLC). However, a 45 Gy dose of RT used in a key US Intergroup Trial 0096 is considered to be insufficient when administered conventionally, i.e. once daily 1.8 Gy, five days a week. **Design and subjects:** Patients with LD SCLC, in very good performance status (WHO 0-I), were included into prospective non-randomized study aimed on concomitant CT-RT with enhanced total dose of RT. **Methods and results:** Four courses of PE and conventional radiotherapy 60 Gy were administered concurrently according to protocol. Seven patients were treated in the years 2000 - 2001. Overall response to therapy was 100%. Complete response: 1, partial response: 6 (in 5 of them the response was near to complete). Neutropenia occurred in all patients, grade III - IV (WHO) in 4 (57%). Other toxicities were grade I - II only. Median survival time has not been reached yet. **Conclusions:** Concurrent chemo-radiotherapy using 4 courses of PE and conventional RT is effective treatment of LD SCLC. Escalation of total conventional RT dose from 45 to 60 Gy is possible and suitable for clinical practice.

Key words: small-cell lung cancer, chemo-radiotherapy

Úvod

Malobunkový karcinóm pľúc (MBKP) tvorí 20 - 25% všetkých pľúcnych karcinómov. Asi 20% pacientov má tzv. limitované ochorenie (LD), t.j. ochorenie postihujúce maximálne jeden hemitorax a regionálne lymfatické uzliny (1). Od 60tych rokov dvadsiateho storočia boli v liečbe LD MBKP postupne skúšané resekcia, rádioterapia, chemoterapia - najprv samotné, neskôr v kombináciach. Začiatkom 90tych rokov sa na základe dvoch metaanalýz štandardom stala chemo-rádioterapia, avšak bez definovania optimálnej sekvencie liečby (2,3). V roku 1995 bola publikovaná metaanalýza, ktorá skúmala vzťah medzi časom začatia rádioterapie (vzhľadom k chemoterapii) a dlhodobým prežívaním pacientov s LD MBKP. Pravdepodobnosť prežitia 3 rokov bola 20% pri začatí rádioterapie do 5 týždňov od začatia chemoterapie. S predĺžovaním intervalu medzi chemo a rádioterapiou táto pravdepodobnosť klesala a najmenšia (6,7%) bola u pacientov liečených iba chemoterapiou (4). V roku 1999 boli publikované výsledky 2 štúdií fázy III zameraných na včasnú simultánnu chemo-rádioterapiu LD MBKP. V japonskej štúdií bolo 228 pacientov liečených chemoterapiou PE (cisplatina + etoposid) s randomizáciou buď ku včasnej simultánnej rádioterapii (začatie 2. deň 1. cyklu PE) alebo k rádioterapii zahájenej po podaní 4. cyklu PE, t.j. v deň 120 (5).

V USA bolo do „Intergroup trial 0096“ zaradených 417 pacientov. Liečba spočívala v podaní 4 cyklov PE so začatím rádioterapie v 1. deň 1. cyklu. Pacienti boli randomizovaní k rádioterapii aplikovanej 1x denne (1,8 Gy, 5 dní v týždni, 5 týždňov, do celkovej dávky 45 Gy) alebo 2x denne (po 1,5 Gy, 5 dní v týždni, počas 3 týždňov, do celkovej dávky 45 Gy) (6). Obe štúdie potvrdili výborné výsledky simultánnej chemo-rádioterapie. Japonská štúdia favorizovala simultánnu chemo-rádioterapiu pred sekvenčnou chemo-rádioterapiou. Medián prežívania bol predĺžený o 3 mesiace (z 19 na 22) a o 10% bolo zvýšené percento pacientov prežívajúcich 3 roky (z 21% na 31%). V americkej štúdií nebol preukazný rozdiel v prežívaní 3 rokov v jednom alebo v druhom ramene liečby (27% a 31%), po 5 rokoch boli lepšie výsledky s rádioterapiou podávanou 2x denne (prežitie 26% pacientov). Na základe týchto štúdií sa stala včasná simultánnu chemo-rádioterapia LD MBKP u pacientov vo veľmi dobrom celkovom stave štandardným postupom (7, 8). Celková dávka rádioterapie použitá v americkej štúdií (45 Gy) pri konvenčnom podávaní, však bola podrobená kritike ako nedostatočná (9, 10). V štúdií fázy I simultánnej chemo-rádioterapie LD MBKP bola tolerovaná celková dávka rádioterapie až 70 Gy (11). Rádioterapia v dávke 61 Gy v kombinácii so simultánnou chemoterapiou PE bola efektívna aj

u pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc v štádiu IIIB, či už samotná, alebo novšie s adjuvantou liečbou docetaxelom (12, 13).

Cieľom našej práce je predbežné zhodnotenie výsledkov, ktoré sme docielili s použitím liečebného protokolu PE + simultánna konvenčná rádioterapia v celkovej dávke 60 Gy u pacientov s LD MBKP.

Pacienti a metódy

Do protokolu liečby LD MBKP simultánnou chemo-rádioterapiou boli zaradení pacienti spĺňajúci nasledujúce základné kritériá: prítomnosť histologicky a/alebo cytologicky overeného MBKP, limitované štádium ochorenia, veľmi dobrý celkový stav (WHO 0-1), normálne hodnoty bežných biochemických a hematologických parametrov, žiadna závažnejšia komorbidity.

Liečba bola nasledovná: chemoterapia v schéme cisplatina 80 mg/m² v deň 1 a etoposid v dávke 100 mg/m² v deň 1-3, so začiatkom liečby deň pred začatím rádioterapie a podaním 4 cyklov chemoterapie v trojtýždňových intervaloch. Rádioterapia bola aplikovaná 1 x denne v dávke 2 Gy, 5 dní v týždni, počas 6 týždňov, do celkovej dávky 60 Gy. Plánovanie rádioterapie bolo robené na základe CT nálezov počítačovým systémom. Možnosť preventívnej kraniálnej iradiácie bola určená pre pacientov s docielenou kompletnou remisiou. Na určenie štádia ochorenia boli použité nasledovné metódy: fyzikálne vyšetrenie, RTG hrudníka, CT hrudníka + horného abdomenu, brušná sonografia, fibrobronchoskopia. Merateľné tumorové lézie boli využité na určenie odpovede na liečbu po chemo-rádioterapii. Všetci pacienti mali pred začatím terapie vyšetrené sérové hodnoty neurónšpecifickej enolázy (NSE, normálne hodnoty do 20 ug/l) a funkčné testy pľúc. Ďalšie vyšetrenia (gamagrafia skeletu a CT mozgu) boli robené iba cielene pri klinickej symptomatológii. Hematologické parametre boli pri chemo-rádioterapii sledované týždenne, biochemické parametre pred každou aplikáciou chemoterapie. Zhodnotenie odpovede na liečbu bolo urobené po ukončení chemo-rádioterapie a po 4. cykle chemoterapie.

Výsledky

V rokoch 2000 - 2001 sme kombinovanou chemo-rádioterapiou podľa protokolu liečili 7 pacientov. Charakteristiky pacientov sú uvedené v Tab. 1. Prehľad nežiadúcich účinkov liečby je v Tab. 2 - zaznamenaná je najvyššia toxicita pozorovaná u jednotlivých pacientov. Plánovaná schéma liečby bola presne dodržaná iba u jedného pacienta. V dôsledku nežiadúcich účinkov liečby bola rádioterapia u dvoch pacientov ukončená pri dávke 54 Gy. Chemoterapia bola bežne oddialovaná, v cykloch 3 a 4 prakticky vždy, obvyčajne o 1 týždeň, vzhľadom na nevyhovujúce hematologické parametre. Pri sledovaní základných funkčných testov pľúc bola v celej skupine pacientov pozorovaná tendencia k zlepšeniu parametrov FVC a FEV1 po chemo-rádioterapii. Odpoveď na liečbu je uvedená v Tab. 3. V 1 prípade bola docieľaná kompletná remisia, v 6 parciálna remisia - z nich v 5 prípadoch sa blížila ku kompletnej remisii. Výborná odpoveď na liečbu bola potvrdená aj normalizáciou hladín markeru NSE u 6 pacientov, ktorí mali pri diagnostike zistené jeho zvýšenie. Medián prežívania nebol docieľený a v súčasnosti pokračuje sledovanie pacientov.

Diskusia

Simultánna včasná chemo-rádioterapia u pacientov s LD MBKP je aktuálne pokladaná za štandard s najlepšimi výsledkami (7,8,14,15). Optimálny spôsob chemo-rádioterapie LD MBKP však stále nie je jednoznačne definovaný. Otvorené sú otázky optimalizácie chemoterapie, rádioterapie ako aj inkorporácie chemo k rádioterapii. Protokol používaný u našich pacientov sa líši od starších protokolov vyššou dávkou rádioterapie, t.j. celkovou dávkou 60 Gy. Pri použití simultánnej chemo-rádioterapie s aplikáciou rádioterapie v celkovej dáv-

Tab. 1: Charakteristika pacientov.

Počet pacientov	7
Muži/ženy	6/1
Vek - medián (rozpätie)	57 (44 - 79) rokov
Celkový stav (WHO) 0/1	2/5
Štádium ochorenia (CT)	
T2-3 N2 M0	4
T4 N1-N2 M0	2
T4 N0 M0	1
NSE (ug/l) - medián (rozpätie)	37 (19 - 76)

Tab. 2: Pozorovaná toxicita simultánnej chemo-rádioterapie.

Toxicita	Stupeň WHO			
	I	II	III	IV
Hematologická				
Leukopénia	1 (14%)	2 (29%)	3 (43%)	1 (14%)
Neutropénia	1 (14%)	3 (43%)	2 (29%)	1 (14%)
Anémia	1 (14%)	1 (14%)	-	-
Trombocytopenia	2 (29%)	1 (14%)	-	-
Nehematologická				
Febrilita	-	2 (29%)	-	-
Ezofagitída	5 (71%)	2 (29%)	-	-
Postiradiačná alveolitída	2 (29%)	-	-	-
Elevácia urey	1 (14%)	-	-	-
Elevácia kreatinínu	1 (14%)	-	-	-

Tab. 3: Odpoveď na liečbu.

Kompletná remisia	1 (14%)
Parciálna remisia	6 (86%)
Normalizácia zvýšených hladín NSE*	6 (100%)

* Zvýšené hladiny NSE pri zahájení liečby u 6 pacientov

ke 45 Gy bolo pozorované lokálne zlyhanie liečby u 52% pacientov liečených konvenčnou rádioterapiou a u 36% liečených rádioterapiou aplikovanou 2x denne (6). Zvýšenie dávky rádioterapie by teda malo priniesť zvýšenie lokálnej kontroly nádoru a v konečnom dôsledku aj zlepšiť nádej na dlhodobé prežívanie pacientov. Pokiaľ nie je zmenená dávka chemoterapie, je toxicita liečby simultánnou chemo-rádioterapiou vo všeobecnosti vyššia ako toxicita sekvenčnej liečby (16). Neprekvapuje preto, že simultánna chemo-rádioterapia je pri LD MBKP v úvahe iba u pacientov vo veľmi dobrom celkovom stave. Podľa našich predbežných skúseností je však toxicita liečby akceptovateľná. Iba u jedného pacienta sme pozorovali febrilnú neutropéniu, pričom ťažká neutropénia trvala iba 3 dni a stav sa podarilo zvládnuť bez použitia rastových faktorov. Podávanie chemoterapie sme však museli bežne oddialiť pre leukopéniu a/alebo neutropéniu, obzvlášť pri 3. a 4. cykle. Krátky odklad chemoterapie (obvyčajne 1 týždeň) však nepokladáme za podstatný - napr. v japonskej štúdiu zameranej na včasnú simultánnu chemo-rádioterapiu LD MBKP bola schéma PE podávaná v štvortýždňových intervaloch (5). Samozrejme, ponúka sa otázka, či by v tejto skupine potencionálne kurabilných pacientov nebola šanca rutinným použitím rastových faktorov alebo cytoprotektív dosiahnuť ďalšie zlepšenie liečebných výsledkov. Pozorovaná výborná odpoveď na liečbu u našich pacientov, dokumentovaná okrem bežných metód aj normalizáciou NSE vo všetkých prípadoch s pôvodne elevovanou hladinou markeru, je v zhode s výsledkami docieľo-

vanými v iných štúdiách, kde je taktiež udávaná asi 90% odpoveď na liečbu (5, 6, 14). Medián prežívania nebol ešte docielený a pokračujeme v sledovaní 6 žijúcich pacientov. Na zamyslenie je fakt, že počas 2 rokov od zavedenia protokolu chemo-rádioterapie LD MBKP sme týmto spôsobom liečili iba 7 pacientov. Ide o dôsledok smutnej skutočnosti, že väčšina pacientov s MBKP ktorých diagnostikujeme, má pokročilé štádium ochorenia a z tých, ktorí majú limitované ochorenie, iba malá časť je v celkovom stave umožňujúcom simultánnu chemo-rádioterapiu. Podobná situácia je však celo-

svetovým problémom. Nepriamo to potvrdzuje aj skutočnosť, že zaraďovanie pacientov s LD MBKP do multicentrických štúdií s potrebnou štatistickou významnosťou trvalo v USA 3 roky a v Japonsku až 4 roky (5, 6).

Záver

Simultánnu chemo-rádioterapiu s použitím 4 cyklov PE a konvenčnou RT je efektívnou liečbou LD MBKP. Zvýšenie celkovej dávky konvenčnej RT zo 45 na 60 Gy je odôvodnené a vhodné pre klinickú prax.

Literatúra

1. International Association for the Study of Lung Cancer: Textbook of Lung Cancer. London, UK, Martin Dunitz Ltd. 2000, 442 s.
2. Warde, P., Payne, D.: Does thoracic irradiation improve survival and local control in limited-stage small-cell carcinoma of the lung? A meta-analysis. J. Clin. Oncol., 1992, 10:890 - 895.
3. Pignon, J. P., Arriagada, R., Ihde, D. C.: A meta-analysis of thoracic radiotherapy for small cell lung cancer. N. Engl. J. Med., 1992, 327:1618 - 1624.
4. Murray, N., Goldman, A.: The relationship between thoracic irradiation and long term survival in combined modality therapy of limited small cell lung cancer. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 1995, 14:384.
5. Goto, K., Nishiawaki, Y., Takada, M., Fukuoka, M., Kawahara, M., Sugiura, T., Kurita, Y., Watanabe, K., Noda, K., Yoshimura, K., Tamura, T., Saijo, N.: Final results of a phase III study of concurrent versus sequential thoracic radiotherapy in combination with cisplatin and etoposide for limited stage small cell lung cancer: the Japan clinical oncology group study. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 1999, 18:468.
6. Turrisi, A. T., Kyungman, K., Blum, R., Sause, W. T., Livingston R., Komaki, R., Wagner, H., Aisner, S., Johnson, D. H.: Twice daily compared with once daily thoracic radiotherapy in limited small-cell lung cancer treated concurrently with cisplatin and etoposide. N. Engl. J. Med., 1999, 340:265 - 271.
7. National Cancer Institute (USA) PDQ Database: Small cell lung cancer. 1999, <http://cancernet.nci.nih.gov/clinpq>.
8. Deutsche Krebsgesellschaft Leitlinien: Therapie des kleinzelligen Lungenkarzinoms. 1999, http://www.krebsinfo.de/homepage.html/Informationen_fur_den_Arzt.
9. Laber, D.A.: Radiotherapy for small-cell lung cancer (Letter to the Editor). N. Engl. J. Med., 1999, 340:2003.
10. Abadir, R., Orton, C.: Radiotherapy for small-cell lung cancer (Letter to the Editor). N. Engl. J. Med., 1999, 340:2002 - 2003.
11. Choi, N. C., Herndon, J. E., Rosenman, J., Carey, R. W., Chung, C. T., Bernard, S., Leone, L., Seagren, S., Green, M.: Phase I study to determine the maximum-tolerated dose of radiation in standard daily and hyperfractionated-accelerated twice-daily radiation schedules with concurrent chemotherapy for limited stage small cell lung cancer. J. Clin. Oncol., 1998, 16:3528-3536.
12. Albain, K. S., Crowley, J. J., Turisi A. T. III, Gandara, D. R., Farrar, W. B., Clark, K. R., Beasley, K. R., Livingston, R.B.: Concurrent cisplatin/etoposide plus radiotherapy (PE+RT) for pathologic stage IIIB non-small cell lung cancer (NSCLC): a Southwest Oncology Group (SWOG) phase II study. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 17, 1997, A1600.
13. Gaspar, L., Gandara, D. R., Chansky, K., Albain, K. S., Lara, P. N., Crowley, J. J., Livingston, R. B.: Consolidation docetaxel following concurrent chemoradiotherapy in pathologic stage IIIB non-small cell lung cancer (NSCLC) SWOG 9504: patterns of failure and updated survival. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20, 2001, A1255.
14. Beržinec, P.: Chemo-rádioterapia pri malobunkovom karcinóme pľúc. Respiro, 1, 1999:21-23
15. Skácel, Z., Marel, M., Prausová, J., Hovorková, K.: Konkomitantní chemoradioterapie limitované formy malobuněčné plicní rakoviny. Literární přehled a naše zkušenosti. Stud. pneumol. phtiseol., 60, 2000:104-107
16. Mornex, F., Mazon, J. J., Droz, J. P., Marty, M.: Concomitant Chemoradiation: Current Status and Future. 1st ed., Paris, FR, Elsevier, 1999, 340 s.

European Society of Surgery

7^{th.} Annual Meeting

November 20th to 22th, 2003
Prague - Czech Republic



Scientific Programme

Pre-meeting workshop

Inguinal hernia

Topics

Infection in HPB surgery

Progress in abdominal oncosurgery

Breast cancer complex treatment

Nosocomial infections

Progress in Surgery (price)

Varia including miniinvasive surgery

Video section

Poster section

Online Information

www.ESSCZ2003.com

ANASTROZOL V ADJUVANTNÍ LÉČBĚ KARCINOMU PRSU

ANASTROZOLE IN THE ADJUVANT THERAPY

NOVOTNÝ J, PETRUŽELKA L.

ONKOLOGICKÁ KLINIKA VFN A 1. LF UK PRAHA

Na základě rozhodnutí vydaného Státním ústavem pro kontrolu léčiv dne 8. ledna 2003 dochází ke změně registrace přípravku Arimidex (anastrozol). Jeho indikace byla rozšířena na léčbu časného stádia karcinomu prsu u postmenopauzálních žen. Kategorizace zdravotními pojišťovnami však dosud neproběhla. Tato změna v registraci byla reakcí na publikaci výsledků studie ATAC, která prokázala aktivitu tohoto preparátu v adjuvantní léčbě postmenopauzálních žen s karcinomem prsu.

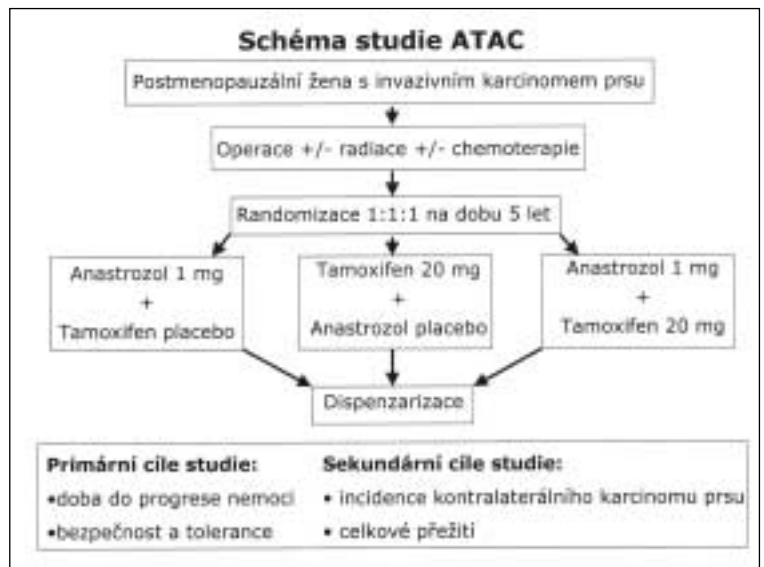
Design studie byl velmi jednoduchý. Postmenopauzální pacientky s karcinomem prsu iniciálního stádia byly randomizovány k pětiletému užívání tamoxifenu (T), anastrozolu (A) nebo obou léků (A+T) současně (obr. 1.). Pozitivní estrogenní receptory mělo 84% patientek, 8% patientek mělo receptory negativní, 8% neznámé (z nich přibližně 2/3 jsou nemocné s ER+). U 34% žen bylo zaznamenáno uzlinové postižení. Primárními cíli studie bylo vyhodnotit dobu do vzniku recidivy a nežádoucí účinky léčby, sekundárními cíli bylo zhodnotit celkové přežití nemocných, incidenci kontralaterálního karcinomu prsu a dobu do vzniku vzdálených metastáz. S mediánem doby sledování patientek 33,3 měsíce bylo zjištěno¹⁾, že anastrozol zvyšuje 3 letý interval bez známek onemocnění o 2% (A vs T, 89,4% vs 87,4%). Výsledky kombinace A+T nejsou významně jiné než výsledky monoterapie tamoxifinem (poměr rizik 1,08; p=0,8). Současně byla popsána statisticky významná redukce vzniku kontralaterálního karcinomu prsu ve skupině léčené A (A vs T, 14 vs 33 karcinomů, p=0,007). Tamoxifen způsoboval významně vyšší incidenci endometriálního karcinomu (A vs T, 0,1% vs 0,5% osob, p=0,02), tromboembolických příhod (A vs T, 2,1% vs 3,5%, p=0,0006) a vazomotorických symptomů (A vs T, 34,3% vs 39,7%, p<0,0001). Naopak pacientky léčené anastrozolem trpěly větším množstvím zlomenin (A vs T, 5,9% vs 3,7%, p<0,0001) a muskuloskeletálními příznaky (A vs T, 27,8% vs 21,3%, p<0,0001).

Nové vyhodnocení studie ATAC s mediánem sledování 48 měsíců bylo publikováno loni na Symposiu o karcinomu prsu v San Antoniu²⁾. Základní změnou výsledků bylo:

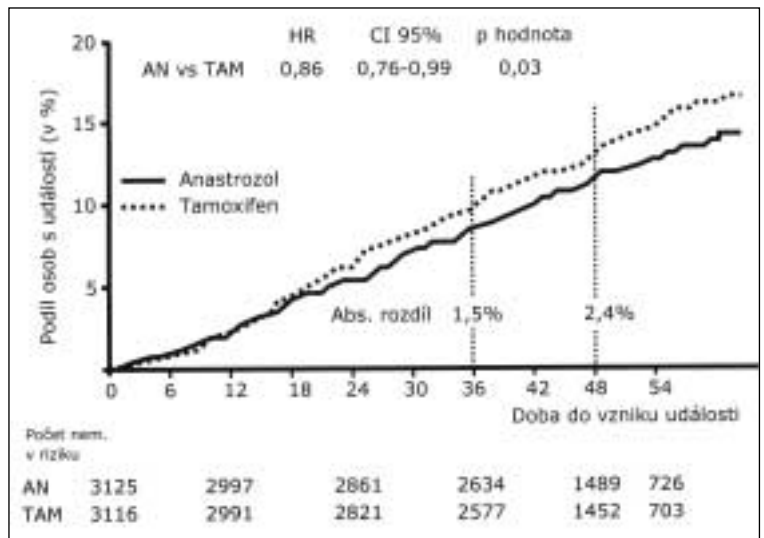
– zvětšení absolutního rozdílu v době do vzniku sledované události na 2,4% (A vs T, 86,9% vs 84,5%) ve prospěch anastrozolu u všech žen bez ohledu na stav ER v nádoru (obr. 2.)

– zvětšení absolutního rozdílu v čase do progresu ve skupině patientek s ER+ na 2,6% ve prospěch anastrozolu

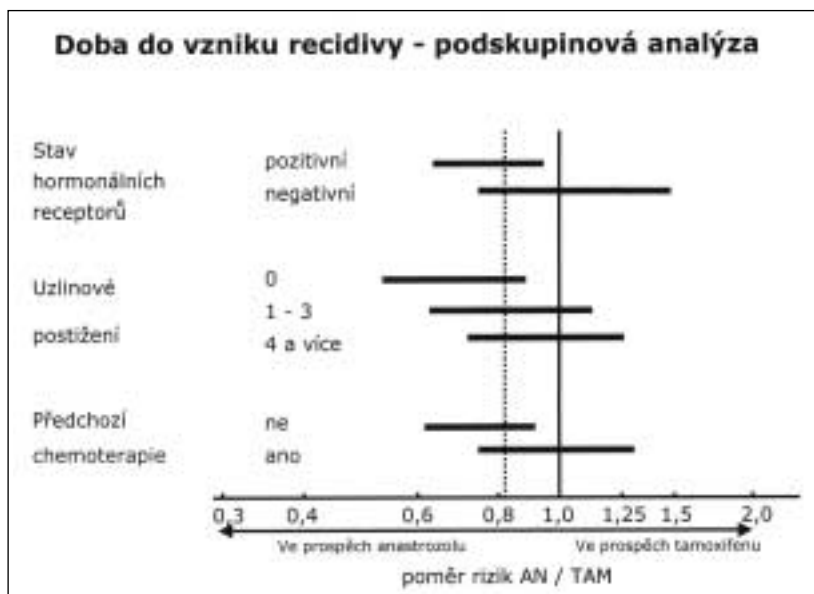
Obrázek 1.: Design studie ATAC.



Obrázek 2.: Čas do vzniku recidivy a / nebo kontralaterálního karcinomu prsu a / nebo úmrtí z jakékoliv příčiny u žen léčených adjuvantně anastrozolem (A) nebo tamoxifinem (T).



Obrázek 3.: Podskupinová analýza účinnosti anastrozolu a tamoxifenu.



– snížení statistické významnosti redukce vzniku kontralaterálního karcinomu prsu ve skupině léčené anastrozolem (A vs T, 25 vs 40, $p=0,062$) s přetrváváním trendu ve prospěch A. Rozdíl ve skupině pacientek s pozitivními receptory (A vs T, 20 vs 35, $p=0,042$) zůstává statisticky signifikantní.

Jak posuzovat výše uvedené výsledky studie v kontextu běžné klinické praxe?

Stanovisko Americké společnosti klinické onkologie (ASCO) bylo publikováno loni na jaře³. V článku panel odborníků ASCO upozorňuje na velice slibné výsledky studie ATAC, které však stále nepovažuje za zralá k tomu, aby změnila současnou klinickou praxi.

A pomineme-li toto stanovisko, musíme vyřešit odpověď na otázku, kterým ženám tedy adjuvantní anastrozol nabídnout. Všem postmenopauzálním s hormonálně dependentními nádory?

Odpověď je poměrně jednoduchá: Nikoliv. Podskupinovou analýzou totiž bylo zjištěno, že anastrozolem není dosaženo lepších výsledků než tamoxifenem ve skupinách žen léčených chemoterapií, s postižením mízních uzlin a u žen s negativitou hormonálních receptorů (obr. 3.).

A jak by se mohl výsledek studie ATAC promítnout do klinické praxe v České republice v případě kategorizace anastrozolu v této indikaci? Vyjděme z dostupných dat Národního onkologického registru za rok 2000.

V roce 2000 bylo v ČR nově diagnostikováno 4871 invazivních

karcinomů prsu. U 757 záznamů není uvedeno stádium, ale předpokládáme-li poměrné zastoupení stádií v této skupině shodné s proporcionálním rozdělením zbývajících záznamů, lze odhadnout, že 478 onemocněných bylo diagnostikovaných ve IV. klinickém stádiu, tedy neindikovaných k adjuvantní léčbě.

K adjuvantní hormonální terapii budou indikovány pouze ženy s pozitivitou hormonálních receptorů (HR) ve stádiu I-III. Přítomnost hormonálních receptorů není systematicky NOR sledována, ale z EBCTCG overview vyplývá⁴, že polovina premenopauzálních a dvě třetiny postmenopauzálních žen mají nádory HR pozitivní. O anastrozolu tedy můžeme potenciálně uvažovat u 3357 žen.

Ovšem víme-li, že pacientky léčené chemoterapií nemají žádný prospěch z nasazení anastrozolu ve srovnání s tamoxifenem, musíme dále zúžit kandidáty nasazení anastrozolu na ženy chemoterapií neléčenné. A protože adjuvantní chemoterapie je indikována u všech žen s postižením axi-

lálních uzlin, nelze tedy za adepty anastrozolu považovat téměř žádnou ženu klinického stádia II a III. Výjimku by snad mohly tvořit ženy velmi staré, ženy se závažnými komorbidity a ženy s onemocněním T2N0M0. Diskutujeme tedy dále terapii 835 žen I. klinického stádia s HR+ nádory.

Z tohoto souboru bude 283 ženám bez přítomnosti rizikových faktorů nabídnuta pouze dispenzarizace. To bude skupina žen nízkého rizika dle konsensu St. Gallen⁵.

Proto vlastní skupinu, u které lze předpokládat přednost anastrozolu před tamoxifenem, tvoří 552 žen. V případě, že bychom všem těmto ženám nasadili v roce 2000 anastrozol, lze očekávat, že za 4 roky by vzniklo o 16 recidiv nebo kontralaterálních karcinomů méně. Více než polovina těchto recidiv by byla vzdáleným relapsem, který by po určité době hormonální senzitivity a chemosenzitivity nevyhnutelně vedl ke smrti nemocné.

V tuto chvíli jsme tedy schopni definovat místo anastrozolu v adjuvantní léčbě, ve které má jednoznačnou přednost před tamoxifenem. Léčbou 34 pacientek anastrozolem zabráníme v horizontu 4 let jedné recidivě a při léčbě dvojnásobného množství žen předejdeme jednomu úmrtí. Kromě této vybrané skupiny žen má samozřejmě z anastrozolu take přednost skupina nemocných, které jsou z interních důvodů kontraindikovány k podání tamoxifenu.

V případě adjuvantní aplikace anastrozolu bude samozřejmě čím dál častěji potřeba diskutovat otázku relapsu vzniklého při léčby inhibitorem aromatáz. Jako efektivní se z dosud provedených studií jeví podání tamoxifenu nebo fulvestrantu.

Literatura

1. Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: first results of ATAC randomised trial. *The Lancet* 2002, 359, 2131-2139
2. Buzdar A., The ATAC („Arimidex“, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial in postmenopausal women with early breast cancer – updated efficacy results based on a median follow up of 47 months. *Breast Cancer Res Treat.* 2003, 295, 77.

3. Winer E.P., Hudis C., Burstein H.J.: American Society of Clinical Oncology Technology Assessment on the Use of Aromatase Inhibitors as Adjuvant Therapy for Women With Hormone Receptor-Positive Breast Cancer: Status Report 2002 *J Clin Oncol* 2002, 20, 3317-3327
4. (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group). Tamoxifen for early breast cancer (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 4, 2002. Oxford: Update Software.
5. Meeting Highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2001, 19, 3817-3827

ÚLOHA CHEMOTERAPIE A RADIOTERAPIE PŘI VÝVOJI VÍCEČETNÝCH MALIGNIT.

THE ROLE OF CHEMOTHERAPY AND RADIOTHERAPY IN DEVELOPMENT OF MULTIPLE MALIGNANCIES

VÍTOVÁ V.
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

V české literatuře z oboru onkologie je v souvislosti s aplikací protinádorové chemoterapie (CHT) a radioterapie (RT) nejčastěji zmiňován následný rozvoj myelodysplastického syndromu (MDS) a akutní myeloidní leukémie (AML). AML vzniká pravděpodobně jako následek cytogenetických abnormalit způsobených předchozí léčbou alkylačními činidly – např. po léčbě melfalanem, BCNU, režimem MOPP v kombinaci s radioterapií, kombinací ABVD, Busulfanem nebo ³²P. Je deklarována průměrně 4 letá latence do jejich vzniku a výjimka – zvýšení incidence solidního karcinomu ledvin po léčbě cyklofosfamidem (10). *Perez a Brady* upozorňují u nemocných s karcinomem prsu na zvýšené riziko (RR 2.4) akutní nelymfatické leukémie po samostatné radioterapii, po alkylačních činidlech samotných (RR 10.0), po kombinaci obou druhů léčby (RR 17.4). Bylo zjištěno 10x častější leukemoidní riziko závislé na dávce RT po léčbě melfalanem a cyklofosfamidem než jen po léčbě pouze cyklofosfamidem (RR 31.4 versus 3.1). Perioda latence mezi RT a diagnózou sarkomu hrudní stěny byla zjištěna 5–28 roků (16). V roce 1998 byly některé preparáty (dusíkatý yperit a několik dalších alkylačních činidel) a léčebné režimy prohlášeny IARC za **prokázané**, případně **pravděpodobně lidské karcinogeny** (8), což mělo význam nejen pro diagnostiku vícečetných malignit (VM), ale i širší prevenci zhoubného bujení, například zlepšení ochrany zdraví při práci.

Výše uvedené zkušenosti jsou poměrně dobře známy a jsou dnes již vnímány jako bazální znalosti. Zahraniční autoři však v několika desítkách, možná stovkách prací upozorňují i na další zkušenosti s karcinogenními vlivy protinádorové CHT a RT, jejich vzájemných kombinací, případně kombinací s dalšími rizikovými faktory zhoubného bujení. Všimají si zvýšené incidence i solidních zhoubných nádorů (ZN) v souvislosti s protinádorovou léčbou.

• **Vlivy radioterapie.** ZN indukovaný RT by měl splňovat tato kritéria: *odlišná morfologie, vznik v nebo blízko pole záření, latence od provedené radioterapie minimálně 2 roky* (16, 17). V tomto smyslu referují např. autoři (9) o výskytu následných ZN rekta, vaginy, vulvy, ovaria a močového měchýře po provedené RT karcinomu čípku děložního. *Cavazza a kol.* (2) popisují raritní výskyt mesotheliomu jako RT indukovaného následného ZN. Maligní mesotheliom vznikl v poli záření v rozmezí 11–29 let po provedené RT. *Ensinger a kol.* (4) upozorňují na vysoký počet (12,9 %) následných ZN za dobu cca 5 let po RT primárního karcinomu thyreoidy radiojodem. Šlo o ZN prsu, ovaria, dělohy, plic, prostaty, kolon a maligního melanomu. Dle autorů *Prochazka a kol.* (18) mají ženy s karcinomem prsu signifikantně zvýšené riziko rozvoje subsequentního ZN plic při interakci RT a kouření. *Kossman a Weis* (11) pozorovali za 17 a 26 měsíců po aplikaci čistého β zářiče ⁸⁹Sr k léčbě adenokarcinomu prostaty rozvoj akutní myeloidní leukémie.

• O zkušenostech s karcinogenními vlivy **protinádorové chemoterapie** referují autoři z mnoha zemí. Četností sledovaných souborů se pohybují řádově v desítkách až tisících pacientů. Nemocní jsou léčeni kombinacemi protinádorových léčiv

s participujícími alkylačními činidly (cyklofosfamidem, případně N – yperitem, atd.) i inhibitory topoizomerázy II – v závislosti na typu primární malignity. Incidence sekundárních malignit se nejčastěji pohybuje kolem cca 4 – 6 – 8 % v závislosti na časovém úseku sledování a přežívání léčeného souboru. Latentní interval byl zjišťován nejčastěji 2–5 let, ale i více než 30 let. *Felice a kol.* (5) informují o 2 skupinách pacientů do 20 let věku léčených jednak inhibitory topoizomerázy II, jednak alkylačními činidly. Během 2–55 měsíců byla diagnostikována *sekundární* AML v 8 ze 138 případů. Jiní autoři (1, 7, 21) též poukazují na výskyt akutní myeloidní, nelymfatické leukémie a MDS v souvislosti s léčbou maligních (převážně Hodgkinských) lymfomů i primárních solidních ZN. *Einhorn a kol.* (3) upozorňují na zvýšenou incidence následných solidních ZN u pacientek léčených CHT pro primární ovarální karcinom. *Ragaz* (19) potvrzuje, že adjuvantní léčba ZN prsu dle protokolu CMF (Bonadonna) i v kontrolním ramenu adriamycin – cyklofosfamid má nízkou asociaci se vznikem sekundární AML. „High dose“ CHT spojená s transplantací kostní dřeně nebo periferních kmenových buněk bývá doprovázena též následnými malignitami (ZN jater, plic, vulvy, myeloidní leukémie, apod.) během cca 1–7 let, případně až 13 let (6, 15) po skončení léčby. Multicentrická mezinárodní studie (22) upozorňuje na riziko vývoje sekundárních malignit (AML i solidních ZN) u pacientů léčených pro primární testikulární ZN. Sekundární leukémie je asociována se synergním vlivem CHT a RT.

Léčba ZN prsu **tamoxifenem** má v indikovaných případech význam nejen pro zpomalení poměrně pokročilých stavů, ale i v prevenci kontralaterálního ZN. Je však nutno počítat s rozvojem následného ZN těla děložního. Za relativně bezpečnou dobu podání jsou považovány 2–3 roky aplikace (12, 13, 14, 23). Doba podávání 5 a více let se jeví bez eventuální profylaktické hysterectomie významně riziková.

LITERATURA

1. Aung L., Gorlick R. G., Shi W. et al.: Second malignant neoplasms in long – term survivors of osteosarcoma. Cancer October 15, 2002/Volume 95/Number 8 1728-1734
2. Cavaza A., Travis L. B., Travis W. D. et al.: Post – irradiation malignant mesothelioma. Cancer 77(7):1379-85 1996
3. Einhorn N., Nilsson B., Lambert B. et al.: The increased risk of secondary solid tumors in a cohort of patients with ovarian carcinoma is primarily due to the carcinogenic effect of chemotherapy (Meeting abstract). Proc-Annu-Meet-Am-Assoc-Cancer- Res. 36:A3783 1995
4. Ensinger Ch., Kremser R., Obrist P. et al.: Unexpected high incidence of second primary tumors in 534 patients with thyroid carcinomas observed over 20 year period. AACR Conference on frontiers in cancer prevention research. October 14 -18, 2002. Boston, MA.
5. Felice, M., Zubizarreta P., Alfaro E. et al.: Secondary acute myeloid leukemia (sAML) in children. Report of a single institution (Meeting abstract). Proc-Annu-Meet-Am-Soc-Clin-Oncol. 15: A 1085 1996
6. Fetscher S., Finke J., Engelhardt R.: Early – onset secondary malignancies after high – dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation. Ann-Hematol. 74(2):73-7 1997
7. Hawkins M. M., Wilson L. M., Burton H. S. et al.: Radiotherapy, alkylating agents, and risk of bone cancer after childhood cancer. J-Natl-Cancer-Inst. 88(5):270-8 1996
8. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, IARC Lyon November 1998
9. Kleinerman R. A., Boice J. D., Storm H. H. et al: Second primary cancer after treatment for cervical cancer. An international cancer registries study. Cancer. 76(3):442-52 1995
10. Klener P.: Protinádorová chemoterapie. Galén 1996, 179
11. Kossman S. E., Weiss M. A.: Acute myelogenous leukemia after exposure to Strontium – 89 for the treatment of adenocarcinoma of the prostate. Cancer February 1, 2000 /Volume 88/ Number 3
12. van Leeuwen F. E., Hoening M. J., Aleman B. M. P., Travis L. B.: Second cancer risk following breast cancer 2002 © Elsevier Science Ltd S 28-29
13. Li Ch. I., Malone K. E., Wiess N. S., Daling J. R.: Tamoxifen and contralateral breast cancer: the other side Journal of the NCI, Vol.93, No 22., November 21, 2001 1753

14. Mignotte H., Lasset Ch., Bonadonna V. et al.: Iatrogenic risks of endometrial carcinoma after treatment for breast cancer in a large french case – control study. *Int.J.Cancer*: 76, 325-330 (1998)
15. Oddou S., Vey N., Viens P. et al.: Second neoplasms following high – dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation for malignant lymphomas: a report of six cases in cohort 171 patients from a single institution. *Leuk-Lymphoma*. 31 (1-2): 187-94 1998
16. Perez C. A., Brady L. W.: Principles and practise of radiation oncology, 1992, 2nd Ed., Pennsylvania 1395, 1819
17. Pierlot A., Calteux N., Mataire F., Colette J. M.: Soft tissue sarcomas of the hand: report of a radiation – induced case. *Ann Chir Plast Esthet* 2001 Feb; 46(1):45-54
18. Prochazka M., Granath F., Ekbo M. A. et al.: Lung cancer risks in women with previous breast cancer. *European Journal of Cancer* 38(2002) 1520-1525
19. Ragaz J., Yun J., Spinelli J.: Analysis of incidence of secondary acute myelogenous leukemias in breast cancer patients treated with adjuvant therapy: association with therapeutic regimens. (Meeting abstract.) *Proc-Annu-Meet-Am-Soc-Clin-Oncol*. 14:A147 1995
20. Schellong G., Riepenhausen M., Creutzig U. et al.: Low risk of secondary leukemias after chemotherapy without mechlorethamine in childhood Hodgkin's disease. German – Austrian pediatric Hodgkin's disease group. *J-Clin-Oncol*. 15(6):2247-53 1997
21. Saso R., Kulkarni S., Mitchell P. et al.: Secondary myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukaemia following mitoxantrone – based therapy for breast carcinoma. *British Journal of Cancer* (2000) 83(1), 91-94
22. Travis L. B., Curtis R. E., Storm H. et al.: Risk of second malignant neoplasms among long – term survivors of testicular cancer, *Journal of the NCI*, Vol. 89, No 19, October 1, 1997
23. Wysowski D. K., Honig S. F., Beitz J.: Uterine sarcoma associated with tamoxifen use. *N.Engl.J.Med*, Vol 346 No 23. June 6,2002 1832-33

25 LET KATEDRY KLINICKÉ ONKOLOGIE IPVZ 25th ANNIVERSARY OF THE CHAIR OF MEDICAL ONCOLOGY OF THE INSTITUTE OF POSTGRADUATE MEDICINE

KLENER P.

KATEDRA KLINICKÉ ONKOLOGIE IPVZ, PRAHA

Klinická onkologie je relativně mladým lékařským oborem, ale pro svůj význam si velmi brzy získala nezastupitelné místo v moderní medicíně. Podobně jako v jiných zemích s rozvinutým zdravotnictvím, měla i u nás perspektivu výrazného rozvoje. Adekvátní postavení oboru však nebylo samozřejmostí, a tak sice se zpožděním, ale postupně a již plně nezvratně se klinická onkologie zařadila mezi nepostradatelné lékařské disciplíny. Přispěl k tomu nepochybně i vzestupný trend incidence nádorových onemocnění a skutečnost, že vedle úmrtí na kardiovaskulární choroby se zhoubné nádory staly druhou nejčastější příčinou úmrtí. Až do poloviny minulého století byla dominantní léčebnou metodou radioterapie. Bylo tedy logické, že péče o onkologické nemocné se soustředovala na radioterapeutických odděleních. Rozvoj dalších léčebných disciplín, především chemoterapie a později i biologické léčby si vynutil i komplexnější přístup k onkologickým nemocným. Začala vznikat specializovaná onkologická pracoviště, která byla schopna vyhovět všem požadavkům na stále náročnější onkologickou léčbu, vyžadující i doplňkovou a podpůrnou léčbu. U nás prosadil novou koncepci onkologické péče před 30 lety prof. Stašek, který se též zasloužil o zřízení první české onkologické kliniky. Klinika, jako pracoviště tehdejší Fakulty všeobecného lékařství v Praze, vzala na svá bedra kromě léčebné a preventivní péče především pregraduální výuku onkologie. Zajistit systematické postgraduální vzdělávání se však podařilo až o pět let později. Na sklonku r. 1977 povolilo Ministerstvo zdravotnictví zřízení Katedry onkologie při Institutu pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů v Praze. Vedením katedry byl pověřen doc. Bek, tehdejší přednosta Onkologické kliniky. Stál před ním nelehký úkol. Především vytvořit koncepci postgraduálního vzdělávání a sestavit tým spolupracovníků, kteří by byli schopni zajistit pro celé území státu odpovídající erudici lékařů, zabývajících se diagnostikou a léčbou nádorových onemocnění. V prvních letech musel docent Bek tento úkol zvládnout pouze se dvěma asistenty a instruktorkou. Katedra začala organizovat specializované

kurzy, na které zajišťovala kvalifikované lektory nejen z lékařských fakult, ale i z výzkumných ústavů MZD a z ČSAV. Ve spolupráci s Onkologickou klinikou a Radioterapeutickým ústavem Na Bulovce organizovala katedra předatestační stážové pobyty („školící místa“) pro lékaře ze všech regionů Čech a Moravy. Na Katedře byl založen a postupně doplňován archiv audiovizuálních pomůcek, kartotéka abstrakt z onkologické literatury a postupně se budovala i příruční knihovna, kde byly pro školence k dispozici základní a tehdy těžko dostupné monografie oboru. Atestační zkoušky v prvních letech skládali především radioterapeuti, kteří si doplnili potřebné znalosti o moderních trendech v onkologii. Postupně se však okruh zájemců o získání kvalifikace z klinické onkologie rozšiřoval a tak již za prvních deset let existence katedry složilo úspěšně kvalifikační atestaci... uchazečů.

V r. 1988 převzal vedení katedry prof. Klener. Navázal na práci svého předchůdce a snažil se využít nových možností, které přinesl listopad 1989. Bylo to především navázání mezinárodních kontaktů jednak s evropskou školou onkologie (European School of Oncology), jednak s evropskou asociací pro vzdělávání v onkologii (European Association for Cancer Education - EACE). Ve spolupráci s European School of Oncology se uskutečnily v České republice 3 školící kurzy (Maligní lymfomy, Protinádorová chemoterapie a Karcinom ovaria). Prof. Klener se stal členem výboru EACE a byl jmenován prezidentem evropského kongresu této mezinárodní společnosti, který se konal v Praze v r. 1992. Ke změnám došlo i v práci katedry. Byl rozšířen počet asistentů, rozšířil se počet kurzů a školících míst, vznikla těsnější spolupráce s jinými katedrami IPVZ. Pracovníci katedry se zapojili i do výzkumné činnosti v rámci Interní grantové agentury MZ ČR. Byla zpřísněna kritéria pro složení atestační zkoušky, což se projevilo i stoupajícím počtem neúspěšně složených atestací. Pro zvýšení objektivitu v hodnocení znalostí stal se součástí zkoušky i počítačový test. Na přechodnou dobu bylo ke katedře přičleněno i Ambulantní onkologické centrum (AOC) v Praze 4-Opatově, které se stalo nejen centrem výukovým, ale plnilo pod vedením prim. Helmichové i nemalé úkoly v léčebně preventivní oblasti. Pro narůstající počty nemocných byla léčebně-preventivní složka činnosti tohoto centra převedena pod Všeobecnou fakultní nemocnici a AOC se stalo detašovaným pracovištěm Onkologické kliniky VFN. Výuková činnost však zde zůstala zachována a později byla naopak rozšířena i na výuku pregraduální a to nejen pro 1. a 2. LF ale též pro Ústav teorie a praxe ošetřovatelství 1. LF. Ve spolupráci s Onkologickou společností ČLS J. E. Purkyně připravili pracovníci Katedry novou koncepci předatestačního vzdělávání a podíleli se na sestavení tzv. „Log-booku“, v němž uchazeči o atestaci prokazují absolvování všech součástí předatestační přípravy.

V současné době má katedra kromě vedoucího (prof. Klener), tajemníka (prim. Helmichová) a sekretářky (I. Amírouchová) ještě 6 odborných asistentů většinou na částečné úvazky 0,2-0,5 (doc. Konopásek, doc. Petruželka, dr. Haber, dr. Tesařová, dr. Trsková a dr. Strzondala). Asistenti připravují kurzy katedry, školící místa, přednášejí též v kurzech jiných kateder IPVZ, účastní se atestačních zkoušek jako examinační praktických dovedností. Počet žadatelů o přiznání kvalifikační atestace rok od roku stoupá, naproti tomu překvapivě klesá zájem o účast v kurzech katedry. Možné vysvětlení spatřujeme v neobyčejném nárůstu nejrůznějších postgraduálních seminářů pořádaných Českou lékařskou komorou, odbornými společnostmi i farmaceutickými firmami. Považujeme však za prioritní udržet vysoký standard atestačních zkoušek, bez ohledu na zdroj přípravy. Atestační komise byly proto rozšířeny o významné představitel oboru onkologie z různých regionů ČR a o zástupce ČLK. Domníváme se, že IPVZ musí garantovat vysokou odbornou úroveň lékařů-specialistů a Katedra klinické onkologie se snaží k tomuto poslání Institutu účinně přispět.