

VYDÁVÁ  
ČESKÁ  
LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST  
J. E. PURKYNĚ

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

REDAKCE:  
Masarykův onkologický ústav Brno  
Žlutý kopec č. 7  
656 53 Brno

Sekretář redakce:  
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:  
Bohuslav Havlíček

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

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

Expedici na základě roční objednávky  
vyřizuje redakce

F 5158 Mič 46-772  
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI  
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLEČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK  
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO  
REDAKTORA: KOZA IVAN  
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

#### REDAKTOŘI:

BEDNAŘÍK OTAKAR HÁJEK ROMAN  
MAYER JIŘÍ KOCÁK IVO  
ČOUPEK PETR ŽALODÍK 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	ŽALODÍK JAN, Brno
KOVAŘÍK JAN, Brno	

**Přehled**

Havlík R., Vojáček P., Neoral Č., Král V., Lovečková Y., Habib N. Onkolytické viry v léčbě jaterních malignit .....	181
Munzarová M. Etické aspekty stanovování geneticky podmíněné vnímavosti ke vzniku zhoubných nádorů .....	186
Kapras J., Kohoutová M., Kotlas J., Křepelová A., Štekrová J. Mutace podmiňující vznik kolorektálních karcinomů (diagnostika, prevence) .....	189
Gut I., Milfajtová J., Patzelová V., Frantík E., Šarmanová J., Souček P., Vodička P. Úloha polymorfismu genotypu a fenotypu P450 2E1 a P450 2D6 v metabolismu a účincích léčiv a karcinogenů .....	193

**Původní práce**

Lang B.A., Černoch M., Šimíčková M., Nekulová M., Forbelská M., Pecen L., Eben K., Vondráček J., Pačovský Z., Vermousek I. Vliv předozáření na některé biochemické parametry maligních nádorů mléčné žlázy: receptory steroidních hormonů .....	197
Janků F., Petruželka L., Novotný J., Šafanda M., Judas L. Naše zkušenosti s kombinací mini ICE (ifosfamid, etoposid, karboplatina) po selhání antracyklinů a taxánů u pacientek s metastazujícím karcinomem prsu .....	202

**Sdělení**

Mechl Z., Vorlíček J. Co má společného protinádorová a protibakteriální chemoterapie? .....	207
--	-----

**Zprávy**

Skovajsová M. Zpráva z měsíčního pobytu v Breast Imaging Service na Mayo Clinic v Rochesteru v Minnesotě, USA .....	213
Soumarová R. Pracovní zasedání EORTC RT Group-Statford, říjen 2001 .....	214

**Informace**

– První oznámení – V. Dny mladých onkologů .....	185
– Nádory z pohledu ekonomické zátěže společnosti .....	188
– Závažné oznámení Obci českých onkologů .....	196
– Program Brněnských onkologických dnů v r. 2002 .....	201
– VII. Staškův den .....	206

<b>Rejstřík – jmenný a věcný</b> .....	215
--	-----

<b>Onkologické společnosti</b> .....	216
--------------------------------------	-----

**CONTENTS****Reviews**

Havlík R., Vojáček P., Neoral Č., Král V., Lovečková Y., Habib N. The role of oncolytic viruses in the treatment of liver tumours .....	181
Munzarová M. Ethical aspects of the measurement of genetic susceptibility to malignant tumours .....	186
Kapras J., Kohoutová M., Kotlas J., Křepelová A., Štekrová J. Mutations involved in colorectal carcinoma development (diagnosis, prevention) .....	189
Gut I., Milfajtová J., Patzelová V., Frantík E., Šarmanová J., Souček P., Vodička P. The role of P450 2E1 and P450 2D6 genotype and phenotype polymorphism in metabolism and action of drugs and carcinogens .....	193

**Original publication**

Lang B.A., Černoch M., Šimíčková M., Nekulová M., Forbelská M., Pecen L., Eben K., Vondráček J., Pačovský Z., Vermousek I. Influence of pre-irradiation on some biochemical parameters of breast malignant tumors: Steroid hormone receptors .....	197
Janků F., Petruželka L., Novotný J., Šafanda M., Judas L. Mini ICE (ifosfamide, etoposid, carboplatinum) after the failure of anthracyclines and taxanes in metastatic breast cancer patients: single institution experience .....	202

**Notification**

Mechl Z., Vorlíček J. What do the antitumor and antibacterial chemotherapies have in common? .....	207
---	-----

**Report**

Skovajsová M. Imaging service in Mayo clinic in Rochester in Minesot. USA .....	213
Soumarová R. EORTC radiotherapy group Meeting in Stratford, October 2001 .....	214

**Information**

– The First Announcement-The Fifth Days of Young Oncologists .....	185
– The cancers from the viewpoint of the economical burden of the Society .....	188
– The Programme of the Oncological Days in Brno in 2002 .....	201
– The Seventh Stašek Day .....	206

<b>Register nominal and factual</b> .....	215
---	-----

<b>Oncological associations</b> .....	216
---------------------------------------	-----

## ONKOLYTICKÉ VIRY V LÉČBĚ JATERNÍCH MALIGNIT

### THE ROLE OF ONCOLYTIC VIRUSES IN THE TREATMENT OF LIVER TUMOURS

HAVLÍK R.<sup>1</sup>, VOJÁČEK P.<sup>1</sup>, NEORALČ.<sup>1</sup>, KRÁL V.<sup>1</sup>, LOVEČKOVÁ Y.<sup>2</sup>, HABIB N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>I. CHIRURGICKÁ KLINIKA LF UP A FN OLOMOUC

<sup>2</sup>ODDĚLENÍ MIKROBIOLOGIE LF UP A FN OLOMOUC

<sup>3</sup>LIVER SURGERY SECTION, HAMMERSMITH HOSPITAL, LONDÝN

**Souhrn:** Velké procento chirurgicky neresekabilních jaterních malignit a jejich špatné ovlivnění jinými terapeutickými modalitami vytváří nutnost hledání nových léčebných prostředků. V současnosti jsou rozvíjeny metody genové léčby. Pro nepřesvědčivé výsledky s replikace neschopnými viry, které jsou používány jako nosiče terapeutických genů, jsou dnes zkoušeny také replikačně kompetentní viry. Tyto jsou upravovány k selektivnímu napadení a ničení nádorů. Z onkolytických virů vstupují v léčbě jaterních malignit do fáze prvních klinických zkoušek geneticky upravené adenoviry a herpesviry. První preklinické i klinické studie potvrzují předpoklady jejich budoucího klinického využití. Cílem tohoto článku je podat přehled současných poznatků v možnostech ovlivnění jaterních malignit onkolytickými viry.

**Klíčová slova:** onkolytické viry, jaterní nádory, genová léčba.

**Summary:** High percentage of liver tumours are not suitable for surgical resection and there are no other effective treatment modalities for these tumours. Therefore there is need to develop some new therapeutic strategies. Currently methods of gene therapy are extensively explored. One of those represents replication competent oncolytic viruses that are engineered for selective tumour destruction. Genetically modified adenoviruses and herpesviruses are entering the first clinical trials as therapeutics tools for liver tumours. The preclinical and first preliminary clinical results hold promise for the treatment of cancer. The aim of this review is to describe current possibilities of oncolytic viruses in the treatment of liver tumours.

**Key words:** oncolytic viruses, liver tumours, gene therapy.

#### Úvod

Jaterní nádory zaujímají celosvětově v příčině úmrtí na malignity přední místo. Obecně jde o dva hlavní typy nádorů jater. V Evropě a v USA převládají metastázy kolorektálního karcinomu, kdy u pacientů s generalizovanou nemocí má 40 % pacientů tuto generalizaci lokalizovanou pouze v játrech. V rozvojových zemích je daleko častější hepatocelulární karcinom, nejčastěji vzniklý na podkladě hepatitidy C a B. Jedinou potenciálně kurativní metodou léčby u primárních a sekundárních nádorů jater je chirurgická resekce. Bohužel u většiny pacientů jsou jaterní tumory neresekabilní pro multifokální jaterní postižení nebo pro špatnou funkci jater. Pacienti, kteří jsou nevhodní pro chirurgickou léčbu, mají velmi špatnou prognózu. Nejčastěji umírají na selhání jaterních funkcí. Jejich přežití je přímo úměrné stupni jaterního postižení (1). Pro pacienty s nádory jater, které pro svou pokročilost již nejsou indikovány k chirurgické léčbě, neexistuje v současnosti žádná efektivní terapie. Výzkum a vývoj nových léčebných metod je proto v této oblasti prioritní.

V posledních letech jsme svědky velkého pokroku v oblasti molekulární biologie, genetiky a genového inženýrství. Metody genové léčby přinášejí naděje i do oblastí léčby zhoubných nádorů. Bylo zjištěno, že maligní nádor je specifický typ genetické nemoci charakterizovaný neschopností udržet v postižených buňkách neporušenou vlastní DNA. K jeho vzniku vede akumulace několika genových mutací zvláště ve skupinách genů regulujících opravu poškozené DNA a kontrolu buněčného dělení a růstu (2). Vznikly a jsou rozvíjeny metody jako je použití nádory potlačujících genů, inaktivace onkogenů, metody imunogenové terapie, antiangiogeneze a mno-

hé další. I když dnes máme k dispozici množství genů, které jsou velmi efektivní v ničení nádorových buněk, není možno dosáhnout ve všech cílových buňkách jejich vysoké exprese, což by bylo nutné k vyvolání klinického efektu (3). Základní podmínkou genové léčby je totiž transport rekombinované DNA do cílových buněk či tkání a v nich následná exprese aplikovaných genů. Bezpečný a efektivní transfer je dnes ale jedním z hlavních limitujících faktorů genové léčby. Obecně lze transportní systémy rozdělit na virové a nevirové. Nevirové nosiče (vektory) jsou bezpečné, jednoduché a stabilní, ale jejich efektivita je ve srovnání s virovými vektory poměrně malá. Virové vektory jsou pro přenos terapeutických genů používány již delší dobu a mají některé vlastnosti, hlavně dobrý průnik do buněk, lepší než nosiče nevirové. Strategie genové léčby jaterních malignit, které používají virové replikace neschopné vektory, jsou následující: substituce nádory potlačujících genů, metody suicidální genové léčby a imunogenová terapie. Pokroky na poli rekombinovaných virů jako nosičů léčebných genů byly podkladem pro vytvoření nových přístupů v léčbě malignit a vyústily až v používání virů schopných replikace. Novou metodou je používání replikace schopných geneticky upravených (rekombinovaných) virů, které svou replikací způsobují zničení hostitelské buňky. Viry jsou totiž přirozeně cytotoxické a navíc některé, jako například adenoviry, mají afinitu k epitelovým buňkám ze kterých vzniká většina nádorů. Díky množení a následnému infikování sousedních, dosud nenapadených buněk, dochází k významnému znásobení podané dávky (4). Pro tyto replikačně kompetentní viry, vyvíjené k přímému ničení nádorových buněk, se dnes používá označení onkolytické viry. Cílem tohoto článku

je podat přehled o současných poznatcích v možnostech ovlivnění jaterních malignit onkolytickými viry.

### Historie používání virů v léčbě malignit

Úvahy o možnosti využití virů k léčbě nádorů vznikly již na počátku dvacátého století, a to na základě pozorování občasně regrese tumorů u pacientů, kteří prodělali virózu. V padesátých letech pak bylo provedeno několik klinických studií, při nichž byly k ničení nádorů využity adenoviry. V jedné z nich bylo použito 10 různých sérotypů adenoviru u pacientek s nádory děložního čípku (5). Tyto byly podány lokálně přímo do tumoru, intraarteriálně nebo intravenózně. Ke snížení aktivity neutralizujících protilátek byly současně podávány kortikosteroidy. Žádné větší toxické ani alergické účinky nebyly pozorovány. Některé pacientky však prodělaly mírnou virózu, která bez další léčby po dvou až sedmi dnech ustoupila. Adenovirus se následně podařilo identifikovat ve dvou třetinách tumorů, a to i ve vzorcích odebraných po 14 dnech od podání viru. U několika pacientek došlo k regresi tumoru. Poprvé tak bylo demonstrováno, že podání adenoviru je bezpečné, a že adenovirus může působit nekrozu nádoru. Nicméně nepřesvědčivé klinické výsledky vedly přechodně k upuštění od využití virů při léčbě nádorů.

### Životní cyklus virů

Virovou částici můžeme zjednodušeně popsat jako "organellu", která je vhodně přizpůsobená k přenosu nukleové kyseliny mezi buňkami (6).

Životní cyklus adenoviru lze rozdělit do následujících etap (obr. č.1) (7):

1. Uchycení na buňce a následný průnik do hostitelské buňky (endocytóza), při kterém se virus zbaví obalu chránícího jeho genom.
2. Zablokování syntézy buněčných proteinů hostitelské buňky a zamezení v její apoptóze.
3. Replikace virové DNA.
4. Syntéza nových virových proteinů. Nově tvořené virové proteiny jsou buď budoucí částí nových virionů (strukturální proteiny), nebo plní funkce enzymů či regulátorů v metabolismu hostitelské buňky a při replikaci viru (nestrukturální proteiny).
5. Nahromadění virionů (dceřinných virových částic) v hostitelské buňce.
6. Případná smrt hostitelské buňky a postupné uvolnění nových virů.

Jeden replikační cyklus u adenoviru trvá přibližně 8 hodin. Podle doby exprese adenovirových genů, které kódují mRNA a proteiny, se tyto geny dělí na časné a pozdní. Hranicí mezi nimi je začátek replikace virové DNA. Časné geny (E - early) jsou exprimované ještě před započetím transkripce virové DNA, zatímco pozdní (L - late) až po začátku její transkripce (obr. č.2). Regulace transkripce jednotlivých genových skupin je kaskádová. Proteinové produkty jedné genové skupiny aktivují transkripci další oblasti. Transkripce časných genů E1-E4 je navíc regulována promotory. To znamená, že teprve aktivace promotoru umožňuje přepis určité oblasti genomu. Proteiny vznikající transkripcí virového genomu lze rozdělit na strukturální a nestrukturální. Strukturální jsou použity k vytvoření nových virionů. Nestrukturální mají důležitou roli ve vzájemné interakci mezi virem a hostitelskou buňkou, v níž inaktivují proteiny, které by bránily ve virové replikaci. Mezi tyto buněčné proteiny, které virus během svého množení inaktivuje, patří například p53 a pRb.

Na usmrcení nádorové buňky napadené onkolytickým virem se podílí několik mechanismů. Jedním z nich je produkce cytotoxických proteinů, které virus produkuje na konci svého replikačního cyklu. Jde o E3-11,6 smrtící protein a E4ORF4 protein (7,8). Odstranění genů, které kódují výše uvedené cytotoxické proteiny, oddálí smrt infikovaných buněk. Dalším mechanismem je navození vysoké senzitivity hostitelské buňky na tumor nekrotizující faktor, který pak může působit její

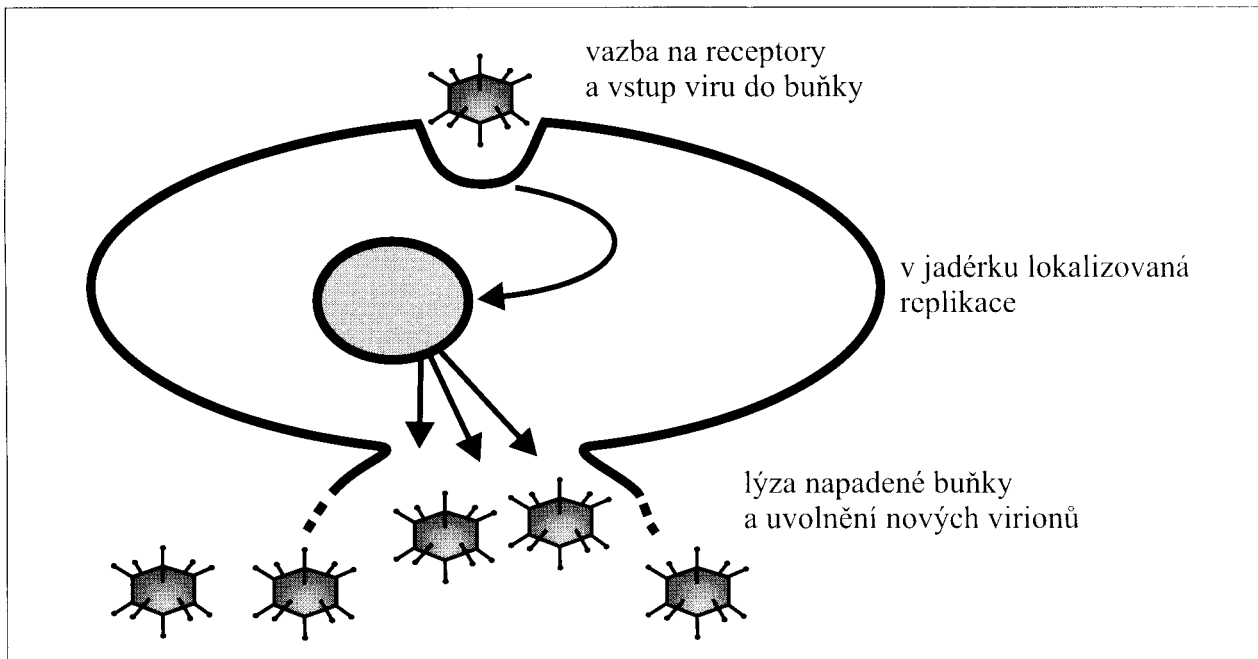
zničení. Citlivost na ničení tumor nekrotizujícím faktorem je zprostředkována proteiny, které jsou kódovány v E1A oblasti adenovirového genomu (9). Virová infekce a lýza nádorových buněk navíc vyvolává buněčné zprostředkovanou imunitní odpověď proti nádorovým buňkám (10,11).

### Optimalizace nádorově selektivní replikace

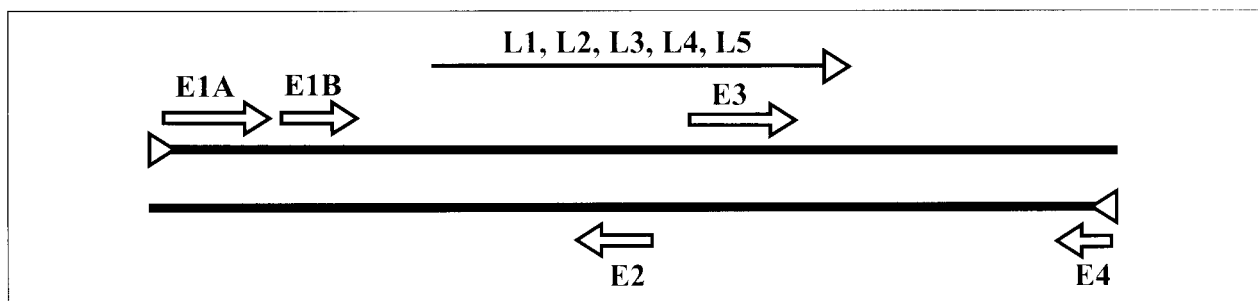
S rozvojem nových molekulárně biologických poznatků v oblasti interakce viru a hostitelské buňky jsou dnes zkoušeny a vyvíjeny jako selektivně se replikující protinádorové prostředky hlavně geneticky upravené adenoviry a herpesviry. Ty dovedou velmi dobře pronikat do buněk. Do genomu hostitelské buňky se neintegrují a jejich exprese je proto dočasná. U onkolytických virů není trvalá exprese nutná, neboť i jejich dočasné působení stačí ke zničení (cytolýze) hostitelské buňky. Výhodami aplikace replikačně kompetentních virů je znásobení podané dávky a možnost šíření do sousedních, dosud neinfikovaných nádorových buněk (12). V současnosti se tyto viry upravují tak, aby byly toxičtější k nádorovým buňkám a než k normálním tkáním.

K navození nádorově selektivní virové replikace jsou zkoumány dvě metody. První metodou je omezení exprese jen na nádorové buňky. Časné nestrukturální proteiny kódované v E1 oblasti genomu adenoviru aktivují jak virové tak i buněčné geny, které jsou nutné pro efektivní virovou infekci. Také blokují různé buněčné proteiny, bránící množení viru. Tak vlastně až teprve správná transkripce této oblasti adenovirového genomu umožní jeho množení (13). Vložení promotoru před E1 oblast omezí její transkripci jen na buňky, které jsou schopny tento promotor aktivovat. Organově nebo nádorově specifické promotory tak umožní replikaci viru jen na určité cílové tkáni. Například vložení CEA (carcinom embryonální antigen) či AFP (alfa fetoprotein) jako promotoru před E1A oblast umožňuje transkripci této části virového genomu, a tím replikaci viru jen v buňkách, které mají CEA či AFP (14,15). Vložním více promotorů pak lze tuto specifitu dále zvyšovat. Jako příklad lze uvést použití albuminu a AFP jako promotoru, které omezí replikaci jen na nádory vzniklé z hepatocytů a již nezasáhnou další AFP pozitivní buňky (14).

Druhou strategií, vedoucí k selektivní replikaci, je odstranění či zablokování genů důležitých pro replikaci viru v normálních buňkách, které ale neovlivňují jeho množení v nádorových buňkách. K úspěšné replikaci musí virus v hostitelské buňce inaktivovat určité proteiny, jako p53 či pRb (protein retinoblastom). Oba tyto proteiny patří mezi důležité regulátory buněčného cyklu, ale také brání ve virové replikaci. V mnohých nádorových buňkách však tyto proteiny nejsou přítomné, neboť jsou při karcinogenezi inaktivovány (16,17). Například delece či mutace p53 byla identifikována zhruba u 50 % všech tumorů, včetně tumorů jater (18,19). Protein p53 je odpovědný za kontrolu integrity genomu (20). Porucha ve struktuře DNA vede k produkci proteinu p53. Jeho zvýšená koncentrace pak vede buď k pozastavení buněčného cyklu během něhož je porucha DNA opravena, nebo k apoptóze (buněčná smrt), pokud je porucha DNA větší a buňka ji nedovede opravit. Jednoduše řečeno protein p53 má roli určité záchranné brzdy ve vztahu ke vzniku genetických mutací, a tím ke vzniku nádorů. U viry infikovaných buněk pak p53 dokáže bránit virové replikaci. Adenovirus produkuje polypeptid, který p53 váže a inaktivuje. Tím je umožněna replikace adenoviru v hostitelské buňce. Tento polypeptid má molekulovou váhu 55000 a je zakódován v E1B oblasti adenovirového genomu. Adenovirus s chybějícími geny v E1B oblasti, později nazvaný dl1520, byl vyvinut k léčbě nádorů s poruchou p53 (16). Teoreticky pak tento virus není schopen vyvázat p53, a proto se nemůže množit v buňkách s funkčním p53. Naopak v buňkách s porušeným p53 se tento virus může normálně replikovat a napadené buňky mřit. Jak již bylo uvedeno, porucha p53 je přítomna zhruba u 50 % všech nádorů, včetně nádoru jater. Obdobně lze využít i jiné



Obr. č. 1: Schéma životního cyklu adenoviru.



Obr. č. 2: Schéma struktury adenovirového genomu. E1A, E1B, E2, E3, E4 – oblasti časných genů, kódujících časné proteiny; L1-L5 – oblasti pozdních genů, které kódují pozdní proteiny.

nádorový supresor pRb, který také brání efektivní virové infekci a je inaktivován proteinem produkovaným v E1A oblasti adenoviru. Nicméně vztah mezi replikujícím se virem a hostitelskou nádorovou buňkou je složitější a hraje v něm roli i dosud nepoznané mechanismy, neboť mutanty adenoviru s chybějící E1A oblastí mají jak v nádorových kulturách tak i in vivo signifikantně větší protinádorový potenciál než přirozené typy adenovirů (21).

### Ovlivnění jaterních nádorů onkolytickými viry; preklinické a klinické studie

#### Herpes viry

Herpes simplex virus (HSV) je obalený DNA virus s dvojitým řetězcem DNA. Po napadení buňky zůstává extrachromozomálně a jeho exprese proto není trvalá. HSV byl nejdříve používán jako replikace neschopný vektor, který mohl do buněk dopravit jakýkoliv terapeutický gen. Onkolytické replikace schopné mutanty viru herpes simplex byly prvotně vyvíjeny pro léčbu neurologických malignit, jelikož wild-typ (normální typ) HSV je přirozeně neurotropní (22). Později bylo zjištěno, že mají schopnost působit i na mnoho jiných typů nádorů (23,24). Například hrR3 je HSV s mutovanou ribonukleoid reduktázou a mutantu G207 ribonukleoid reduktáza zcela chybí (25,26). Hladina ribonukleoid reduktázy je v nedělicích se buňkách poměrně nízká, zatímco nádorové buňky, včetně jaterních tumorů a metastáz kolorektálního karcinomu, mají vyso-

ké hodnoty tohoto enzymu. Protože HSV pro svou replikaci ribonukleoid reduktázu potřebuje, a mutanty hrR3, G207 a Rp450 ji nedovedou tvořit, metabolicky aktivní nádorové buňky s vysokou hladinou endogenní ribonukleotid reduktázy tak vytvářejí pro tyto mutované viry prostředí umožňující jejich replikaci. Všechny tyto viry in vitro vykazují výraznou onkolytickou aktivitu proti mnohým kolorektálním i hepatocelulárním buněčným liniím (23,24). Příznivé výsledky byly dosaženy také in vivo na zvířecích modelech s jaterními tumorů. Jediná nitronádorová injekce hrR3 výrazně omezila růst kolorektálních nádorů u laboratorních zvířat (23). Stejně povzbudivé výsledky byly dosaženy i s G207 na zvířecích modelech se subkutánně implantovanými či jaterními nádory (27). Virus G207 signifikantně snižoval růst těchto tumorů v porovnání s kontrolní skupinou zvířat. Na synergickém modelu jaterních nádorů pak portální infuze vedla k výrazné redukcí počtu vzniklých jaterních nádorů (27). Také bylo zjištěno, že po portální aplikaci mají tyto mutované herpesviry selektivní afinitu k jaterním tumorům s výrazným protinádorovým účinkem, zatímco žádná virová replikace v normálním jaterním parenchymu nebyla prokázána (24). Poslední studie prokázaly i na imuno-kompetentních myších s difúzními jaterními metastázami významnou redukcí nádorů po jedné nitrožilní aplikaci hrR3 (28). Zjištění, že onkolytické herpes viry působí stejně u imuno-deficientních i imuno-kompetentních zvířat naznačuje, že právě virem zprostředkovaná onkolyza je

hlavním mechanismem ničení nádorů, a nikoliv imunitní reakce organismu (28). Další studie zjistila, že tvorba virionů mutantu rRp450 je v buňkách hepatocelulárního karcinomu 103-104 větších než v infikovaných normálních hepatocytech. Tato efektivnější replikace je pak spojena s velkou redukcí hepatocelulárních tumorů laboratorních zvířat už i po jedné intravaskulární aplikaci (29).

### Adenoviry

Adenoviry jsou lidské patogeny s afinitou k epitelialním buňkám, ze kterých vzniká většina nádorů. Jsou to DNA viry s dvojitým řetězcem DNA, které se stejně jako herpes viry neintegrují do genomu hostitelské buňky, a proto exprese jejich genových produktů není trvalá. Vyjmutí některých časných genů v genomu adenoviru zabrání jejich replikaci v určitých, například nenádorových buňkách, jak již bylo uvedeno.

V roce 1996 Bischoff a kol. představili E1B-deficientní adenovirus (16,30). Protinádorový efekt tohoto E1B deficientního adenoviru byl *in vivo* zkoumán na subkutánně vytvořených nádorech u SCID myši. Bylo dosaženo signifikantního zpomalení růstu Hep3B xenograftů (Hep3B je buněčná linie hepatocelulárního karcinomu s chybějícím p53). Xenografty vytvořené z HepG2 (buněčná linie hepatocelulárního karcinomu s wild-type p53) potřebovaly ke své regresii větších dávek tohoto onkolytického adenoviru (31). To zapadá do teorie působení E1B mutovaného adenoviru, které je zprostředkováno nemožností vyvázat p53 v hostitelských buňkách.

### Klinické studie s E1B-deficientním adenovirem

Studie s E1B-deficientním rekombinovaným adenovirem (dl1520) byla provedena na 16 pacientech s cílem stanovení toxicity a efektivity (32,33). V klinické studii I. fáze byl adenovirus podán přímo intratumorálně u pacientů s hepatocelulárními nádory a pomocí arteriálního portu či intravenózně u pacientů s kolorektálními jaterními metastázami. Podaná dávka byla dobře tolerována až do dávků  $3 \times 10^{11}$  pfu. Elektronmikroskopické vyšetření nádorových tkání prokázalo pří-

tomnost adenoviru v buněčné cytoplazmě v okolí jádérka a také prokázalo buněčnou smrt způsobenou virovou infekcí. Klinická studie 2. fáze zjistila dobrou toleranci kombinace dl1520 s chemoterapeutikem 5-fluorouracilem. Oba preparáty byly podávány cestou hepatické artérie sedmi pacientům s kolorektálními jaterními metastázami. Po třech měsících měl jeden z těchto pacientů progresi jaterního onemocnění, u ostatních šesti pacientů byl CT a klinický nález neměnný. Zlepšení však nebylo prokázáno u žádného z těchto nemocných (32,33).

### Závěr

Geneticky upravené replikace neschopné viry jsou jako nosiče terapeutických genů v genové léčbě nádorů používány již delší dobu. Nově jsou dnes testovány replikace schopné viry, neboť jejich replikace uvnitř nádorových buněk může způsobovat zničení těchto napadených buněk. Tyto onkolytické viry jsou upravovány k selektivnímu napadení a efektivnějšímu ničení nádorových buněk. Po přímé aplikaci do nádoru byl preklinicky i klinicky zjištěn příznivý vliv na destrukci celé řady solidních nádorů, včetně jaterních. Jelikož je možné a již i ověřené i systémové podání onkolytických virů, například nitrožilně, může být jejich předností působení nejen na solidní nádory, ale i ničení nádorové diseminace. Pro dosažení větší efektivity a snížení celkové toxicity onkolytických virů jsou intenzivně zkoumány zejména oblasti jejich přežívání v krevním oběhu, cílené napadení jen nádorových buněk, selektivní množení v těchto buňkách, laterální šíření z jedné nádorové buňky na druhou a interakce s imunitním systémem, který pak může potencovat jejich účinnost. Klinicky bylo potvrzeno, že nízké dávky těchto virů jsou bezpečné a účinné. V současnosti probíhá několik klinických studií navržených k léčbě jaterních nádorů. V blízké budoucnosti budou pravděpodobně onkolytické viry nejdříve používány v kombinaci s chemoterapeutiky nebo k potencování jiných metod genové léčby.

**Tento článek byl částečně podporován výzkumným záměrem MSM 151100002.**

### Literatura

1. Woods C.M., Gillis C.R., Blumgart L.H.: A retrospective study of the natural history of patients with liver metastases from colorectal cancer. *Clin. Oncol.* 2, 1976, 285-288.
2. Solomon E., Borow J., Goddard A.D.: Chromosome aberrations and cancer. *Science* 254, 1991, 1153-1160.
3. Vile R.G., Russell S.J., Lemoine N.R.: Cancer gene therapy: hard lessons and new courses. *Gene Therapy* 7, 2000, 2-8.
4. Russell S.J.: Replicating vectors for cancer therapy: a question of strategy. *Semin Cancer Biol* 5, 1994, 437-443.
5. Smith R.R., Huebner R.J., Rowe W.P. et al.: Studies on the use of viruses in the treatment of carcinoma of the cervix. *Cancer* 9, 1956, 1211-1218.
6. Zemla J., Čiampor R., Leššo J.: Všeobecná virológia. Slovac Academic Press 1995, s. 27.
7. Tollefson A.E., Rverse J.S., Scaria A. et al.: The E3-11.6-kDa adenovirus death protein (ADP) is required for efficient cell death: characterization of cells infected with adp mutants. *Virology* 220, 1996, 152-162.
8. Branton P.: Early gene expression. In *Adenoviruses: basic biology to gene therapy*. P. Seth, editor. R.G. Landes, Austin, USA, 1999, 39-58.
9. Heise C., Williams A., Olesch J. et al.: Efficacy of a replication-competent adenovirus (ONYX-015) following intratumoral injection: intratumoral spread and distribution effects. *Cancer Gene Ther.* 6, 1999, 499-504.
10. Gooding L.R.: regulation of TNF-mediated cell death and inflammation by human adenoviruses. *Infect. Agents Dis.* 3, 1994, 106-115.
11. Shisler J., Duerksen H.P., Hermiston T.M. et al.: Induction of susceptibility to tumor necrosis factor by E1A is dependent on binding to either p300 or p105-Rb and induction of DNA synthesis. *J. Virol.* 70, 1996, 68-77.
12. Kim D.H., McCormick R.: Replicating viruses as selective cancer therapeutics. *Mol. Med.* Today 2, 1996, 519-527.
13. Whyte P., Ruley H., Harlow E.: Two regions of the adenovirus early region 1A proteins are required for transfection. *J. Virol.* 62, 1998, 257-265.
14. Huber BE, Richard CA, Krenitsky TA: Retroviral-mediated gene therapy for the treatment of hepatocellular carcinoma: an innovative approach for cancer therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 8039-8043.
15. Osaki T, Tamio Y, Tachibana I et al.: Gene therapy for carcinoma: onk antigen-producing human lung cancer cells by cell type-specific expression of herpes simplex virus thymidine kinase gene. *Cancer Res* 1993, 53, 5258-5261.
16. Barker D.D., Berk A.J.: Adenovirus proteins from both E1B reading frames are required for transformation of rodent cells by viral infection and DNA transfection. *Virology* 156, 1996, 107-121.
17. Sherr C.J.: Cancer cell cycles. *Science* 274, 1996, 1672-1677.
18. Honda K, Sbisá E, Tullo A et al.: P53 mutation is a poor prognostic indicator for survival in patients with hepatocellular carcinoma undergoing surgical tumour ablation. *Br J Cancer* 1998, 77, 776-782.
19. Havlík R., Sbisá E., Tullo A. et al.: Results of resection for hilar cholangiocarcinoma with analysis of prognostic factors. *Hepatogastroenterology* 2000, 47, 927-31.
20. Lane DP: P53, guardian of the genome. *Nature* 1992, 358, 15-16.
21. Heise C., Hermiston T., Johnson L. et al.: An adenovirus E1A mutant that demonstrates potent and selective systemic anti-tumoral efficacy. *Nat Med* 6, 2000, 1134-9.
22. Mineta T., Rabkin S.D., Yazaki T. et al.: Attenuated multimitated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. *Nat Med* 1, 1995, 938-943.
23. Yoon S.S., Carroll N.M., Chiocca E.A. et al.: Cancer gene therapy using a replication-competent herpes simplex virus type 1 vector. *Ann. Surg.* 228, 1998, 366-374.
24. Carroll N.M., Chiocca E.A., Takahashi K. et al.: Enhancement of gene therapy specificity for diffuse colon carcinoma liver metastases with recombinant herpes simplex virus. *Ann. Surg.* 224, 1996, 323-329.
25. Goldstein D.J., Weller S.K.: Herpes simplex virus type 1 induced ribonucleotide reductase activity is dispensable for virus growth and DNA synthesis: isolation and characterization of an ICP6 lacZ insertion mutant. *J. Virol.* 62, 1988, 196-205.
26. Yazaki T., Manz H.J., Rabkin S.D. et al.: Treatment of human malignant meningiomas by G207, a replication-competent multimitated herpes simplex virus 1. *Cancer Research* 55, 1995, 4752-4756.

27. Kooby D.A., Carew J.F., Halterman M.W. et al.: Oncolytic viral therapy for human colorectal cancer and liver metastases using a multi-mutated herpes simplex virus type-1 (G207). *FASEB J* 13, 1999, 1325-1334.
28. Yoon S.S., Nakamura H., Carroll N.M. et al.: An oncolytic herpes simplex virus type 1 selectively destroys diffuse liver metastases from colon carcinoma. *FASEB J* 14, 2000, 301-311.
29. Pawlik T.M., Nakamura H., Yoon S.S. et al.: Oncolysis of diffuse hepatocellular carcinoma by intravascular administration of a replication-competent, genetically engineered herpesvirus. *Cancer Res* 60, 2000, 2790-2795.
30. Bischoff J.R., Kim D.H., Williams A.: An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science* 274, 1996, 373-376.
31. Vollmer C.M., Ribas A., Butterfield L.H. et al.: p53 selective and nonselective replication of an E1B-deleted adenovirus in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 59, 1999, 4369-4374.
32. Habib N.A., Sarraf C.E., Mitry R.R., Havlik R. et al.: E1B deleted adenovirus (dl1520) gene therapy for patients with primary and secondary liver tumours. *Hum Gen Ther.* 2001, 12, 219-226.
33. Havlik R., Sarraf C.E., Mitry R.R. et al.: Gene therapy of primary and secondary liver tumors using E1B-deleted adenovirus: phase I/II clinical trial. *Proceedings of American Association for Cancer Research* 41, 2000, 505.

## informace

Vážení kolegové,

Klub mladých onkologů pořádá pod záštitou České onkologické společnosti ČLS JEP ve dnech 7–9. června 2002 **V. Dny mladých onkologů**. Setkání se již podruhé koná v hotelu Medlov, Fryšava pod Zákovou horou, 59231 Fryšava, okres Žďár nad Sázavou.

Pro letošní rok je základním tématem setkání problematika karcinomu prsu.

Příhlášky zasílejte poštou na adresu: MUDr. Jan Novotný, Onkologická klinika VFN a 1. LF UK, U nemocnice 2, Praha 2, 128 08 nebo e-mailem na [onkologie@seznam.cz](mailto:onkologie@seznam.cz). Ubytování i stravování bude účastníkům uhrazeno v plné výši. V přihlášce prosím uveďte, ve které dny si přejete ubytování zajistit či zda ubytování nepožadujete.

### Program setkání:

<b>Pátek</b> <b>7. června 2002</b>	
	<i>Večeře</i>
<b>Sobota</b> <b>8. června 2002</b>	
9 00– 9 30	Možnosti a limitace zobrazovacích metod v diagnostice prsních onemocnění
9 30– 9 45	Histopatologická klasifikace prsních onemocnění
9 45–10 15	Práce mamární poradny I: identifikace rizikových osob
10 15–10 45	Práce mamární poradny II: algoritmy péče o benigní a hraniční nosologické jednotky
10 45–11 00	<i>Přestávka</i>
11 00–11 30	LCIS / DCIS
11 30–12 00	Prognostické a prediktivní faktory u karcinomu prsu
12 00–12 30	<i>Prostor pro firemní prezentace</i>
12 30–13 30	<i>Oběd</i>
13 30–14 15	Chirurgická léčba karcinomu prsu – moderní trendy (sentinelová uzlina, videem asistovaná exenterace axily, minimální invazivní výkony, rekonstrukční výkony)
14 15–14 45	Adjuvantní léčba karcinomu prsu
14 45–15 15	Neoadjuvantní léčba karcinomu prsu
15 15–15 30	<i>Prostor pro firemní prezentace</i>
15 30–16 00	Novinky z ASCO meetingu
	<i>Večeře</i>
<b>Neděle</b> <b>9. června 2002</b>	
9 00– 9 30	Radioterapie v léčbě karcinomu prsu
9 30–10 15	Terapie metastatického karcinomu prsu
10 15–11 00	Protinádorové léky s novými mechanismy účinku
11 00–11 15	<i>Prostor pro firemní prezentace</i>
11 15–11 30	Návrhy výzkumné spolupráce

# ETICKÉ ASPEKTY STANOVOVÁNÍ GENETICKY PODMÍNĚNÉ VNÍMAVOSTI KE VZNIKU ZHOUBNÝCH NÁDORŮ

## ETHICAL ASPECTS OF THE MEASUREMENT OF GENETIC SUSCEPTIBILITY TO MALIGNANT TUMOURS

MUNZAROVÁ M.

ÚSTAV LÉKAŘSKÉ ETIKY LF MU, BRNO

**Souhrn:** Jsou představeny etické problémy související s genetickým testováním, mající za cíl zjištění vnímavosti nebo i výraznější predispozice ke vzniku zhoubných chorob (informovaný souhlas, důvěrnost, respekt k soukromí, právo vědět, právo nevědět, „informational self - determination“, screening, výzkum, vědecká validita projektů, zvážení relace benefitu k nákladům a pod.). Jsou citovány nejdůležitější zásady v tomto směru formulované v Úmluvě na ochranu lidských práv a důstojnosti lidské bytosti v souvislosti s aplikací biologie a medicíny Rady Evropy (Oviedo, 1997).

**Klíčová slova:** genetické testování, testování vnímavosti, predispozice, informovaný souhlas, důvěrnost, soukromí

**Summary:** Ethical problems connected with genetic testing with the intention of the measurement of the susceptibility or predisposition to malignant tumours are presented (informed consent, confidentiality, privacy, the right to know, the right not to know, informational self - determination, screening, research, scientific validity, cost/benefit analysis, etc.). The main guidelines proposed in the Convention for the protection of human rights and dignity of the human being with regard to the application of biology and medicine (Council of Europe, Oviedo 1997) dealing with this problem are quoted.

**Key words:** genetic testing, susceptibility testing, predisposition, informed consent, confidentiality, privacy

Hranice vědy, zabývající se genetikou, se den ode dne rozšiřují. *Genetické testování* (= detekování přítomnosti nebo absence anebo alterace v jednotlivém genu, chromosomu nebo genomu produktu ve vztahu ke genetickému postižení) se stalo skutečností. I mnoho „biochemických“ testů může dnes poukázat na osobu, která má pravděpodobně genetickou a/nebo familiární poruchu. A proto i s těmito testy by mělo být jednáno tak, jako s testy skutečně „genetickými“ (1).

Problém, který je předmětem tohoto sdělení, se týká *vnímavosti a predispozice* a proto od samého počátku si musíme být vědomi následujícího rozlišování. Presymptomatické genetické testování monogenních nemocí detekuje postižení dlouho předtím, než se objeví symptomy choroby, a to v určitých případech s pravděpodobností blížící se 100%. Např. odhalení přítomnosti genu Huntingtonovy choroby, autosomálního dominantního typu postižení, odhalí chorobu i desítky let předtím, než se skutečně projeví - a to téměř s jistotou. Průkaz predispozice anebo vnímavosti ke vzniku určité choroby pouze ukazuje na to, že je pravděpodobné, že u dané osoby dojde v průběhu života k určité chorobě, a že tato pravděpodobnost je větší než u ostatní populace (2).

V případě zhoubných novotvarů není konečný chorobný fenotyp jednoduše produktem genové mutace, je spíše výsledkem dlouhého řetězce faktorů genetických a faktorů prostředí. Jinými slovy genetické abnormality přispívají ke zvýšenému riziku vzniku zhoubného novotvaru, nikoliv k jistotě, že zhoubnost skutečně propukne. Příklad od případu pak záleží na tom, jaká je relativní proporce genetických faktorů vzhledem k faktorům ostatním. V případě určitých dědičných nádorových syndromů může být pravděpodobnost vzniku nádoru u člena postižené rodiny i mnohokrát vyšší než u ostatních.

Preventivní lékařství se snaží předpovídat projevení se choroby s cílem zabránit jejímu vypuknutí anebo alespoň oddálit její rozvoj. Cíl, zaměřený jak k dobru jedince tak i populace, je nepochybně chvályhodný. Předpovídání vzniku zhoubnosti

v důsledku genetického „postižení“ je nieměně provazeno mnohými etickými problémy. Jelikož četné studie v této oblasti jsou také dosud předmětem výzkumu a/nebo záležitosti screeningových programů, pokusím se v následujícím shrnout všechny tyto aspekty dohromady a zdůraznit nejpodstatnější etické otázky (1 - 6).

### Informovaný souhlas

Má-li se jedinec rozhodnout, zda se nechá vyšetřit, a má-li mít jeho rozhodnutí hodnotu, pak musí být o všem řádně informován. Je povinností a odpovědností lékaře vysvětlit každému účel a důsledky vyšetření pro něho samotného a pro jeho rodinu. Informace se musí týkat jak možného získaného dobra tak možných nevýhod, musí zahrnovat podrobně vysvětlení celé situace, možné výsledky, pravděpodobnost počátku zjevné choroby, možnosti prevence, léčby, atd. Informace má být pravdivá, přesná a úplná. Subjektům výzkumu musí být ponechán dostatečný čas, aby poskytnutou informací vstřebali předtím, než dají souhlas k testování nebo také ke sdělení výsledku. Čas k přemýšlení je nutný. Oblast genetického testování často zahrnuje celé komplexy citlivých problémů, které vyžadují diskusi spíše než jen poskytnutí informací. Až po tom všem lze uvažovat o získání souhlasu, nejlépe v písemné formě.

Lékař si však rovněž musí být vědom toho, že existuje nejenom *právo vědět* ale i *právo nevědět* a že rovněž každý má možnost sám určit, do jaké míry chce být informován („*informational - self determination*“), pokud jde o formu a rozsah poskytnutých informací.

### Kdo má mít přístup k výsledkům

Pochopitelně testovaná osoba poté, co získala již uvedené informace. V určitých případech však předpověď vzniku onemocnění může mít na osobu i škodlivé následky, spočívající v závažných emočních reakcích a/nebo v trvalém poškozením pohledu



na sebe sama. Je tomu právě v případech, kdy žádná jasná prevence anebo terapie není schopna na daném stavu nic změnit. Otázky, na které si každý badatel musí sám odpovědět dříve než započne s testováním, jsou evidentní: Jaké jsou možnosti zabránit rozvoji té které choroby? Je možnost pečlivě osobu sledovat a podchytit nemoc v časném stadiu? Je skutečně tato choroba v časném stadiu léčitelná? Jaký je vztah v každém jednotlivém případě mezi „dobřečinním“ (možná prevence rozvoje anebo účinná léčba v časném stadiu, poskytnutí informace, která přispěje k učinění závažného životního rozhodnutí a pod.) a „škoděním“ (úzkost, strach, psychologické rozklady a/nebo přinejmenším medicalizace zdravé osoby)?

Členové rodiny? Informace o pozitivitě výsledku jedince by mohla být cenná pro jiné členy rodiny. Pozitivita testu může znamenat, že zdraví sourozenci, děti anebo i rodiče mohou být ve zvýšeném riziku. Je nutné si uvědomovat, že tito lidé si možná vůbec nepřejí vědět něco o výzkumu, který odhalil nepříznivý výsledek u jejich příbuzného s implikací i pro ně samotné. Právo nevědět může být pro někoho zrovna tak významné jako pro jiného právo vědět. Otázka, zda je vhodné jiné členy rodiny informovat, musí vždy stát na delikátní rovnováze mezi výše zmíněnými konfliktními pohledy. První povinností lékaře je „primum non nocere“. Poskytnutí informace bez jasného benefitu může vést k emoční i k sociální škodě.

Je třeba vnímat rovněž otázku zachování *důvěrnosti* vůči prvnímu testovanému a respekt k *soukromí* všech účastných. Důvěrnost nabádá k tomu, aby výsledky nebyly nikomu sděleny bez souhlasu testovaného. A tak, jak patrně, může docházet i k těžce řešitelným etickým dilematům v rámci rodin, ke konfliktům mezi právy a zájmy jednotlivých členů.

Pro zaměstnavatele by znalost predispozice jedince ke zhoubnému onemocnění mohla mít svůj význam. Nicméně budoucí zaměstnanci mají výše zmíněné právo nevědět a i když už vědí, pak mají právo na důvěrnost a na zachování svého soukromí. Nemohou být pro tento svůj handicap nespravedlivým způsobem diskriminováni. Právo na práci jim nemůže být odnímáno jen na základě předpovědi rizika. Pokud by se genetické testování (vnímavosti vůči jakýmkoliv zhoubným chorobám, které jsou časté a jejichž léčení je mimořádně nákladné) stalo povinným a rozšířeným screeningovým vyšetřením, pak by to mohlo vést k tomu, že by se mnozí lidé stali nezaměstnatelnými.

Na druhé straně, pokud by jejich zdraví bylo ve speciálním riziku v určitém pracovním prostředí a pokud by testování mělo za cíl redukovat u nich pravděpodobnost propuknutí choroby a možnost časnější smrti, pak by to bylo k jejich dobru. Mnoho lidí by se rozhodlo raději pracovat jinde. V tomto případě by se téměř všechno mohlo vyřešit dobrovolnými screeningovými programy.

Totéž platí i pro pojišťovací společnosti. Ty argumentují, že slušnost a spravedlnost velí, aby každá osoba platila podle svého rizika vzniku onemocnění. Nicméně s ohledem na testování predispozice vůči chorobám zhoubným, možnost diskriminace je značná. Právo nepodstoupit testy nebo neodhalit výsledek by mělo i zde převážet nad zájmy pojišťovatelů.

Nejčastější formou **screeningových** programů u dospělých jsou v současnosti selektivní screeningy predispozice vůči určitému typu nádoru v určitých rodinách. Testování samotného genu je dnes možné např. u dědičné formy kolorektálních karcinomů. Je rovněž možné v určitých rodinách vytypovat ženy ve velkém riziku karcinomu prsu (nebo i vaječníku) zjištěním přesně definované mutace. Cílem je časná detekce nádoru a časná léčba. I v těchto případech si je však nutno uvědomit, že zdraví lidé by měli být testováni jedině tehdy, je-li to skutečně nutné pro jejich dobro. U mnohých odborníků je totiž tendence dívat se na „zdravé“ členy rodiny jako na nemocné a je zde potom velké riziko medicalizace těchto jedinců. Je-li zdravý člověk zahrnut do studie, pak musí být jasný plán předem, co se bude dít, nalezne-li se u něj daná abnormalita. Nutnost návaznosti na *genetické poradenství* by mělo být

samozeřejmostí. Lékaři (vědečtí pracovníci) musí rovněž dbát na to, aby rodiny se zvýšeným rizikem choroby nebyly příliš zatěžovány výzkumnými projekty.

Pokud jde o screeningové a poradenské programy samotné, pak je vhodné zamyslet se i nad jejich vědeckou hodnotou a nad rozbořením poměru výdajů k získanému dobru. Než se program zahájí je třeba zvážit

- častost a tíži sledované choroby
- dostupnost určité možnosti prevence anebo účinnost léčby
- rozsah, do jaké míry zjištění pomocí screeningu vede ke zlepšení průběhu choroby
- validitu a bezpečnost screeningových vyšetření
- přiměřenost nákladů k zajištění efektivity screeningu a následného sledování dotyčného
- náklady celého programu
- přijetí programu jak lékaři tak i veřejností.

Respekt k *autonomii* jedinců vyžaduje, aby jakékoliv programy byly dobrovolné a aby veškeré zásady, týkající se informovaného souhlasu (viz výše), byly dodrženy. Je nutno ověřit pochopení celé záležitosti. Je nutná i jasná domluva, co se bude dít s výsledkem vyšetření a i s odebraným vzorkem.

Je třeba dodržovat rovněž etické zásady *výzkumu* za použití lidských subjektů. Vše, co již bylo řečeno, zde samozřejmě platí rovněž (oblasti se vzájemně prolínají). Zde lze připomenout ještě i otázku, jak bude zajištěno, že *identita* těch, kteří se výzkumu účastní, bude zachována v důvěrnosti? Je možné, aby studie byla provedena na úplně anonymních vzorcích? V některých epidemiologických studiích by tomu tak být mohlo. Častěji však, obzvláště ve studiích prospektivních, by bylo vhodné určitou informaci o jedincích zachovat, ale tak, aby jejich identitu nebylo možno přímo přiřadit k určitému vzorku. To by bylo možné až po určitém dekodování.

V laboratorní praxi je vhodné všude, kde je to jen možné, oddělovat na jedné straně odebrané vzorky pro účely diagnózy, léčby a péče a na straně druhé vzorky pro výzkum.

Pokud jde o použití již uskladněných vzorků pro další výzkum, předchozí souhlas má být získán pro každé vyšetření.

Bylo by jistě žádoucí zamyslet se rovněž nad vytvořením jednotných zásad pro genetické testování v onkologii v celé České republice.

V současné době se řada celosvětových organizací snaží jasně formulovat zásady, týkající se uvedeného. Je třeba připomenout alespoň „*Úmluvu na ochranu lidských práv a důstojnosti lidské bytosti v souvislosti s aplikací biologie a medicíny*“ Rady Evropy (Oviedo, 1997), kterou Česká republika podepsala v r. 1998 a v současnosti ji připravuje k ratifikaci. Celá kapitola (IV) je věnována lidskému genomu a její článek 12 se týká prediktivního genetického vyšetření:

„Vyšetření, která předpovídají geneticky podmíněné nemoci, nebo která slouží k určení nositele genu způsobujícího nemoc, nebo k odhalení genetické predispozice nebo náchylnosti k nemoci, lze provést pouze pro zdravotní účely nebo pro vědecký výzkum spojený se zdravotními účely a v návaznosti na odpovídající genetické poradenství.“

V článku 11 téže kapitoly je řečeno, že „jakákoliv forma diskriminace osoby z důvodu jejího genetického dědictví je zakázána“.

V jiných kapitolách je prostor věnován obecným ustanovením souhlasu, ochraně soukromí a právu na informace, vědeckému výzkumu, atd. Úvahy a doporučení zmiňovaná výše, jsou v souladu s touto Úmluvou, v níž je mimo jiné i zakotveno (Kap. I, čl. 2): „Zájmy a blaho lidské bytosti budou nadřazeny zájmům společnosti nebo vědy“.

*Předneseno v angličtině („Ethical aspects of the measurement of genetic susceptibility to malignant tumours“)* 7. listopadu 2000 na konferenci MEFA 2000, v rámci satelitního sympozia „*Současná toxikologie a genetika v onkologické prevenci*“.

## Literatura

1. Advisory Committee on Genetic Testing: Genetic research and ethics. Bull. Med. Eth. (London), February 1999, s. 21 - 24.
2. Archer, L.: Predictive genetics and eugenics. EACME News, January 1998, s. 1 - 8.
3. Genetic testing (consent and confidentiality). Hansard, 23. 5. 00, cols 877 - 879 (záznam z diskusí v Parlamentu), Bull. Med. Eth. (London), June 2000, s. 2 - 2.
4. Munzarová, M.: Etická problematika screeningu. Prakt. Lek., 75, 1995 s. 437 - 439.
5. Muray, T. H., Botkin, J. R.: Genetic testing and screening: Ethical issues. In: Encyclopedia of bioethics, Ed. Warren T. Reich, Simon & Schuster Macmillan, New York, 1995, s. 1005 - 1011.
6. Nuffield Council on Bioethics: Genetic screening. Ethical issues, London, 1993.

# informace

## NÁDORY Z POHLEDU EKONOMICKÉ ZÁTĚŽE SPOLEČNOSTI

E. GERYK

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Pozornost světové ekonomiky se v rámci globalizačních záměrů upíná v poslední době také k otázkám vývoje nákladů u nejpčetnějších onemocnění ve vztahu k jejich výskytu a čekávaným trendům. V epidemiologii nádorů jsou nejčastěji porovnávány údaje ze Spojených Států a vybraných zemí západní Evropy. Úměrně rizikům a stylu života existují mezi obyvatelstvem jednotlivých zemí a dokonce regionů značné rozdíly ve výskytu nádorů a v úmrtnosti na jejich jednotlivé diagnózy. Zatímco přesné míry jejich výskytu se mohou z klinického pohledu lišit v řadě detailů, široký pohled na hodnocení nejčastějších nádorů je dost podobný jak ve Spojených Státech, tak v řadě zemí západní Evropy.

Malignity představují druhou nejčastější příčinu smrti po kardiovaskulárním onemocněním a týkají se 20-25% všech zemřelých za rok. V literatuře je uváděna 0,5% roční míra výskytu a 1% prevalence u obyvatel. Incidence ve věku 65 let a více je více než desetkrát vyšší než u mladších věkových skupin. U téměř 10% nemocných je uveden nádor při propuštění z nemocnice jako primární diagnóza. Z tohoto pohledu se přímé zdravotnické náklady na terapii nádorů a péči onkologicky nemocných jeví jako poměrně nízké. Dosavadní studie naznačují, že podíl zdravotnické péče související s novotvarů nepřekračuje v ročních přímých léčebných nákladech řady zemí hranici 5-7% (1).

Potvrzuje se, že pro pochopení velikosti ekonomické zátěže, vyplývající pro společnost z pokračujícího výskytu nových nádorových onemocnění a jejich prevalence, jsou rozhodující co nejdřívejší údaje, shromažďované ve většině zemí pomocí nádorových registrů. S výjimkou Lucemburska a Řecka mají všechny země Evropské unie na populaci založené nádorové registry, pokrývající zpravidla 10-20% populace, vzácněji pak obyvatelstvo celé. Kromě řady cílů těchto registrů se v poslední době ukazuje jejich nezastupitelný význam při poskytování vstupních údajů pro odhad dalšího výskytu malignit a trendů jejich prevalence jako významného kritéria stanovení ekonomické zátěže společnosti.

Z uvedeného pohledu má Národní onkologický registr ČR mimořádné postavení z řady důvodů. Svou celoplošnou působností od roku 1951 se řadí mezi evropské registry s nejdélsí tradicí s výpovědní hodnotou, srovnatelnou s prvním celonárodním registrem, působícím v Dánsku od roku 1942. Uprášení jeho statutu (2) a uchování integrity metodického řízení hlášení a zpracování novotvarů ve vertikální a horizontální úrovni podpořilo formulaci všech možností exploatace dat onkologické statistiky také ve vztahu k ekonomice nádorů (3). Kvalifikovaný odhad 65 tis. nových onemocnění tj. míra 0,65% a prevalence 340 tis. tj. míra 3,4% v roce 2001 je ve srovnání s ekonomicky a zdravotnickými vyspělými zeměmi podstatně vyšší (4).

V posledních letech jsme svědky rostoucího si uvědomování nákladů v systémech zdravotní péče v celém světě. Je to interpretováno jako důsledek rostoucích omezení rozpočtů. Ať už je exaktní struktura systému zdravotní péče a jeho finančních mechanismů jakákoliv, má se za to, že finanční restrikce jsou výsledkem odporu veřejnosti proti zvyšujícím se daním nebo výši pojistného. Podílí se na tom i objem nových a perspektivních, současně i finančně nákladnějších diagnostických a léčebných metod. Tento vývoj, spojený se všeobecným stárnutím populace, vede ke zvyšující se poptávce po nových nákladnějších postupech. Relevantnější interpretace zvyšujícího se uvědomování nákladů

a zájmu o zajištění „hodnoty za peníze“ je následující: Existence ekonomického problému není primárně určována tím, že jsou spotřebovávány samotné substanciální zdroje, ale spíše objevem nových alternativ (5). Náklady na léčbu určité nemoci nejsou samy o sobě příliš podstatou informací, pokud existuje jen jediná možnost terapie. Avšak v okamžiku objevu nových léčebných možností a potřeby volit mezi několika odlišnými modalitami nastává ekonomický problém. Pak je potřebné systematicky určit jejich relativní hodnotu ekonomickými ukazateli a výpočtem porovnat jejich náklady a přínosy.

Randomizované, kontrolované klinické studie, se zaměřují na hodnocení účinnosti porovnávaných léčebných postupů, zatímco jejich náklady zůstávají obecně bez povšimnutí. V klinických časopisech jsou současně stále častěji publikovány studie s výpočty nákladů na specifické léčebné postupy bez pokusu o formální hodnocení výsledků léčby. Takové studie nákladů obvykle zahrnují jen jeden specifický léčebný režim bez explicitního srovnání s jinou alternativní modalitou. Obě druhy studií mohou poskytovat cenné informace pro medicínské rozhodování. Jeho racionalita při alokaci skromných finančních zdrojů ale vyžaduje, aby byly k dispozici údaje reálných ekonomických analýz, posuzujících se stejnou důležitostí jak náklady tak přínos alternativ.

Uvedené důvody jsou příčinou zvýšeného zájmu o „ekonomiku nádorů“ (6), která může být přijímána jako vědecká volba, metodicky porovnávající dvě či více alternativ vzhledem k jejich pozitivnímu či negativnímu přínosu, tj. prospěchu a nákladům (7). Všeobecná definice uvádí, že ekonomická zátěž nemocí pro společnost jako celek by měla být stanovena hodnotou zboží, služeb a produktivních činností, kterých se nemocní musí vzdát včetně hodnoty poskytované zdravotnické péče a ztrát produktivní výroby, způsobené nemocí a předčasným úmrtím (1).

Převažující metoda ke stanovení ekonomické zátěže nemocí se nazývá „cost-of-illness“ (COI) tj. analýza nákladů na onemocnění. Jejím cílem je stanovit finanční prostředky, které společnost musí vynaložit ze svých celkových zdrojů. Jejich čerpání zahrnuje přímé léčebné náklady na léčebné zdroje (personál, přístroje, materiál) k zajištění diagnostiky a terapie. Dále zahrnuje ztrátu času a produkce nemocných, jejich příbuzných, přátel a společnosti jako celku v důsledku nádorové morbidity a předčasné mortality. V rámci studií COI se rozlišují náklady přímé, nepřímé a psychosociální. Zůstává otázkou, jestli studie COI jsou skutečnými ekonomickými analýzami, pokud se zdrazňuje, že v ekonomickém zájmu o nemoc není určující absolutní množství finančních zdrojů nebo zahrnutých nákladů, ale především výběr z existujících alternativních metod diagnostiky a terapie. V kontextu odborného rozhodování mají výsledné údaje studií COI s typicky velmi vysokými finančními částkami jen dílčí výpovědní hodnotu.

## Literatura

1. Neymark N.: Assessing the economic value of anticancer therapies. Springer-Verlag Berlin, 1998, 285 p.
2. MZ: Statut Národního onkologického registru ČR. MZ ČR
3. Geryk, E., kol.: Možnosti využití Národního onkologického registru ve zdravotnictví. Klin. onkol. 1997, 10, 5, s. 158-159
4. Geryk, E., kol.: Trendy počtu onkologicky nemocných v ČR. Masarykův onkol. ústav Brno, 2000, 64 s.
5. Jönsson, B. et al.: Economic evaluation of cancer treatments. In: Williams C.: Introducing new treatments for cancer: practical, ethical and legal problems. Wiley, Chichester, 1992
6. Goddard, M. et al.: The economic evaluation of cancer treatments and programmes. Eur. J. Canc. 1991, 27, p. 1191-1196
7. Yarbrow, J.: Changing cancer care in the 1990s and the cost. Cancer 67 (suppl) 1991, p. 1718-1727

## MUTACE PODMIŇUJÍCÍ VZNIK KOLOREKTÁLNÍCH KARCINOMŮ (DIAGNOSTIKA, PREVENCE)

## MUTATIONS INVOLVED IN COLORECTAL CARCINOMA DEVELOPMENT (DIAGNOSIS, PREVENTION)

KAPRAS J., KOHOUTOVÁ M., KOTLAS J., KŘEPELOVÁ A., ŠTEKROVÁ J.

ÚSTAV BIOLOGIE A LÉKAŘSKÉ GENETIKY I.L.F UK A VFN

**Souhrn:** Karcinomy vznikají důsledkem mutací mnoha genů vedoucích k poruše nitrobuňkové regulace. V posledních letech rychle přibývá informací o mutacích protoonkogenů, tumor supresorových genů a mutatorových genů, které jsou významné pro prevenci, diagnostiku i léčbu karcinomů. Kolorektální karcinomy (CRC) jsou druhou nejčastější příčinou úmrtí na maligní onemocnění a patří mezi nejlépe probádané typy nádorů. Nejčastěji jsou sporadické, ale okolo 10% je hereditárních, podmíněných dominantně dědičnými syndromy, familiární adenomatosní polyposou (FAP) a Lynchovým syndromem (nepolyposní hereditární kolorektální karcinom, HNPCC). V těchto rodinách metody molekulární diagnostiky umožňují efektivní prevenci CRC i v ČR. V rozvoji CRC se uplatňují mutace onkogenu ras, ztráty heterozygosity (LOH) genů DCC (18q) a p53 (17q). Prokázán je i podíl mutací mutatorových genů a genů pro E-kadherin (CDH1), beta-katenin (CTNNB1) a exprese genu pro telomerasu (TER). Studium jejich mutací v CRC může mít význam pro zpřesnění prognózy a volbu terapie. Soustavný screening (FOBT) v populaci seniorů a genetické vyšetření rodin s familiárním výskytem CRC jsou předpokladem účinné časné diagnostiky CRC.

**Klíčová slova:** FAP, HNPCC, APC gen, MMR geny, TP53, DCC, CDH1, CTNNB1, TER, CRC prevence.

**Summary:** Cancer is caused by many gene mutations leading to intracellular regulation disorder. There are many new bits of informations about protooncogene, tumour suppressor gene and mutator gene mutations which are important for prevention, diagnosis and therapy. Colorectal cancers (CRC) are the second leading cause of cancer death and they are one of the best understood tumours. They are mostly sporadic, but about 10% of CRC are hereditary due to autosomal dominant syndromes: familial adenomatous polyposis coli (FAP) and Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC). Molecular diagnostic methods allow effective prevention in these families in CR. The most frequent mutations involved in CRC development are K-ras mutations, DCC mutations (18q), TP53 mutations (17p) and MMR genes mutations. There is some new information about the role of CDH1, CTNNB1, and TER genes mutations. These mutations are studied to obtain new prognostic markers and they improve therapeutic measures. Population screening focused to seniors and genetic examination in risk families are substantial for CRC effective early diagnosis.

**Key words:** FAP, HNPCC, APC gene, MMR genes, TP53, DCC, CDH1, CTNNB1, TER, CRC prevention.

Poznatky molekulární biologie a genetiky významně přispěly k pochopení mechanismu kancerogeneze. Různými metodami byly objeveny onkogeny, tumor supresorové geny a mutatorové geny. Onkogeny jsou mutované protoonkogeny, které se za fyziologických podmínek podílejí na regulaci buněčné diferenciaci a buněčného dělení (např. kódují růstové faktory, receptory, kinasy, transkripční faktory). Jejich somatické mutace (onkogeny) zvýší expresivitu těchto genů nebo změni funkci proteinu, takže zesílí prorůstové signály a vedou k buněčné transformaci. Tumor supresorové geny mají v buňkách kontrolní funkci. Zastavují např. dělení buněk s poškozenou DNA až do její opravy nebo v poškozených buňkách spouštějí apoptózu (programovanou smrt). Ztráta jejich funkce vede k nekontrolovanému buněčnému dělení. Mutatorové geny (MMR, mismatch repair geny) jsou odpovědné za postreplikační opravy DNA a ztráta jejich funkce zvyšuje pravděpodobnost vzniku mutací v genomu. Nádorová transformace buněk je mnohastupňový proces, při kterém každá další mutace urychluje proliferaci dečnínných buněk a v takto vzniklém buněčném klonu mohou vzniknout další mutace. Postupná kumulace mutací je jeden z důvodů, proč nádory postihují především starší osoby. V mladším a středním věku se nádory objevují zejména u osob postižených dědičnými syndromy s rizikem vzniku nádorů, podmíněnými zárodečnými mutacemi tumor supresorových genů. Prevenci nádorů proto nutno zaměřit na snížení expozice mutagenům, presymptomatic-

kou diagnostiku v rodinách s hereditárními a familiárními typy nádorů a skriningová vyšetření zejména seniorů.

Karcinomy zažívacího traktu patří k nejčastějším nádorům. V průběhu života postihnou až 5% populace a jsou druhou nejčastější příčinou úmrtí na nádorová onemocnění. Jejich četnost vzrůstá, ale v řadě zemí úmrtnost na tuto diagnózu klesá, neboť při včasné diagnóze genetické dispozice nebo nádoru jsou prevence a léčba efektivní. (1) Kolorektální karcinomy (CRC – colorectal cancer) patří k nejlépe probádaným nádorům z hlediska sledu mutací, které podmiňují transformaci buněk. Již za fyziologických podmínek jeví epitelální buňky tlustého střeva vysokou mitotickou aktivitu. Od jejich vzniku ve slizničních kryptách do jejich odloučení z povrchu střeva uplyne méně než týden. Pokud v této citlivé rovnováze mezi vznikem a zánikem převáží buněčné dělení, vzniká masa buněk – nádor (adenom). V milionové populaci jeho buněk se pak mohou hromadit další mutace, adenom roste, transformuje se v karcinom.

Přibližně 10% kolorektálních karcinomů je hereditárních. Zárodečné mutace mohou být v genech APC (adenomatous polyposis coli), vyvolávající familiární adenomatosní polyposu tlustého střeva (FAP) a v několika mutatorových genech (MMR – mismatch repair), vyvolávající Lynchův syndrom (hereditary nonpolyposis colorectal cancer - HNPCC). U těchto dominantně dědičných syndromů je zvýšená pravděpodobnost vzniku CRC již v dospívání a do konce života dosahuje

80% -100%. Postiženo je zpravidla více členů rodiny a riziko pro děti postižených je až 50%. Dalších asi 30% CRC je familiárních, v jejich vzniku se mohou uplatňovat mutace dalších genů, společné stravovací návyky, defekty imunity a p. Riziko opakování je zvýšené, věk v době vzniku CRC nižší, než u sporadických.

### Familiární adenomatosní polyposa (FAP)

Familiární adenomatosní polyposa je dominantně dědičné onemocnění, které se projevuje vznikem stovek až tisíců polypů tlustého střeva ve druhém a třetím decenniu. V každém z polypů se kumulují další mutace, což vede až k malignímu zvratu. FAP je postižen 1 člověk z 5000 – 10000. FAP se mimo tlusté střevo projevuje kongenitální hypertrofií pigmentového epitelu retiny (CHRPE), osteomy, desmoidními tumory a nádory měkkých tkání (tzv. Gardnerův syndrom) a zvýšeným rizikem nádorů štítné žlázy, žaludku a tenkého střeva. Kromě klasické formy je známa i mírnější forma, atenuovaná FAP (AFAP) s menším počtem polypů a vznikem CRC ve vyšším věku.

Gen APC (adenomatous polyposis coli) pro FAP byl mapován v r. 1987 na chromosom 5p21(2). Patří mezi tumor supresorové geny. V rodinách s FAP se dědí jedna mutovaná alela. Mutace nebo ztráta druhé alely (LOH – loss of heterozygosity) nebo represe její funkce podmiňuje vznik adenomu. Gen APC se skládá z 15 exonů, kódující část obsahuje 8538 bp a kóduje protein s 2843 aminokyselinami (3). Dosud bylo popsáno více než 300 různých germinálních a více než 400 somatických mutací. 99% těchto mutací podmiňuje předčasně ukončení translace a vznik zkráceného proteinu. APC protein má několik základních domén, které jsou rozhodující pro jeho funkci: pro vytváření funkčních homodimerů, organizaci cytoskeletu, regulaci koncentrace b-cateninu a interakci s dalšími proteiny.

Mutace APC genu se významně uplatňují i při vzniku sporadických CRC, ve kterých byly prokázány až v 60%. Stejně často byly mutace APC prokázány i v benigních tumorech tlustého střeva a mutace APC proto patří k prvním stupňům transformace.

Klinická diagnóza FAP je jednoznačná na základě koloskopického nálezu stovek až tisíců polypů. Molekulárně genetickými metodami lze prokázat mutace APC genu ještě v presymptomatickém období, již od časných stádií embryonálního vývoje, pokud klinik genetické vyšetření v rodině vyžádá. Stanovení genotypu u osob v riziku postižení FAP provádíme metodami přímé nebo nepřímé DNA diagnostiky. Dosud jsme vyšetřili 77 rodin a dle nálezu bylo možné diferencovat klinickou preventivní péči o jejich členy (4).

Nepřímá DNA diagnostika v rodinách s FAP využívá jako markery přenosu polymorfismy DNA, které jsou součástí APC genu nebo v jeho těsné blízkosti. Na základě srovnání DNA polymorfismů u několika příbuzných s FAP a dalších nepostižených členů rodiny lze riziko postižení FAP potvrdit nebo vyloučit téměř s jistotou. Metoda je relativně rychlá, vyžaduje však vzorky krve pro DNA analýzu (cca 10 ml) od 5-6 členů rodiny (5,6). Přímá DNA diagnostika umožňuje stanovení mutace již z jediného vzorku DNA. Je však pracná a nákladná vzhledem k velikosti genu a velkému počtu různých mutací. Mimoto v některých rodinách s FAP se mutace APC genu nedaří prokázat, takže je předpoklad, že FAP může být vyvolána i mutacemi jiných genů (např. pro b-katenin). Nedílnou součástí každé molekulární diagnostiky má být neindikativně vedená genetická konzultace (7).

Stanovení genotypu členů rodiny v riziku FAP umožňuje výrazně omezit počet preventivních vyšetření u osob z rizika vyloučených a provádět koloskopické vyšetření v intervalech 1/2 – 1 rok u osob s rizikem FAP. Preventivní totální kolektomie je jedinou účinnou prevencí CRC. Molekulární diagnostika umožňuje i prenatalní diagnostiku FAP s možností ukončení těhotenství s postiženým plodem, pokud o to rodiče požádají. V naší praxi jsme se s touto žádostí dosud nesetkali.

### Hereditární nepolyposní kolorektální karcinom (HNPPC, Lynchův syndrom I. a II.)

Lynchův syndrom (LS) I a II jsou dominantně dědičné syndromy s vysokým rizikem vzniku CRC bez předchozího rozvoje mnohačetných polypů. Jsou častější než FAP, ale klinicky obtížněji diagnostikovatelné. Lynchův syndrom I je charakterizován vznikem CRC do 50 let a postižením více členů rodiny. U Lynchova syndromu II jsou kromě CRC karcinomy endometria a ovarii, dále karcinomy žaludku, tenkého střeva a močového ústrojí. Oba syndromy jsou podmíněny mutacemi stejných MMR genů, proto je nyní užíváno jednotné označení hereditární nepolyposní kolorektální karcinomy (HNPPC) (8).

Klinická diagnostika HNPPC není tak jednoznačná, jako FAP. Pro diagnózu svědčí konsenzuální kritéria. Původní Amsterodamská kritéria (9) jsou velmi přísná:

1. tři a více členů rodiny postižených CRC
3. postižen jeden a více příbuzných prvého stupně
4. postižení ve dvou a více generacích
5. nejmeně jeden z postižených s manifestací CRC do 50 let věku.

Na základě těchto kritérií diagnostikované případy HNPPC byly sice většinou potvrzeny molekulárně genetickým vyšetřením, současně ale většina případů HNPPC unikala záchytu. Proto v r. 1997 byla doporučena méně přísná kritéria pro vyšetření mikrosatelitní instability v nádoru (tzv. Bethesdaův 10)

1. osoby splňující Amsterodamská kritéria a dále
2. osoby se dvěma primárními karcinomy odpovídajícími LS
3. osoby s CRC, které mají příbuzného prvého stupně s CRC
4. osoby s CRC (nebo ca endometria) zjištěným do 45 let věku
5. osoby s kolorektálním adenomem, diagnostikovaným do 40 let věku

Spolehlivou diagnostickou metodou je jen molekulárně genetické vyšetření. Lynchův syndrom je podmíněn germinální mutací v některém z genů odpovědných za postreplicační opravy chybného párování bazí v původních a nově polymerizovaných řetězcích DNA ( mismatch repair). Některé tyto geny byly mapovány a sekvenovány: MLH1 (chromosom 3p21), MSH2 (2p16), PMS1 (2q31), PMS2 (7q11), MSH6 (2p16). Jejich počet stále není považován za úplný. Nejčastěji prokazujeme mutace v genech MLH1 a MSH2. V CRC u Lynchova syndromu lze prokázat nestabilitu délky mikrosatelitních sekvencí DNA někdy v kombinaci s LOH tumor supresorových genů. (11)

U osob s molekulárně prokázaným Lynchovým syndromem je v prvé řadě indikováno molekulárně genetické vyšetření všech příbuzných v riziku LS. Prevence u osob s Lynchovým syndromem je zaměřena na časnou diagnostiku CRC (koloskopie 1-2 ročně od 20 let) a karcinomu endometria a ovaria (především UZ vyšetření 1x ročně). Je třeba zvážit preventivní kolektomii a u žen preventivní hysterektomii po skončení reprodukčního záměru (v 35-40 letech).

Srovnání některých klinických a genetických nálezů u FAP, HNPPC a sporadických CRC je v tabulce:

	FAP	HNPPC	sporadické CRC
podíl v CRC	>1%	5-10%	90%
věk v době vzniku	20-40	35-55	65-75
Počet adenomu	>100	0-5	0-10
Lokalizace nádoru	ruzná	proximální 70%	rektální 10%
Mikrosatelitní instabilita	0%	>90%	15%
Mutace genu	APC	MSH2 MLH1 a d.	multi-faktorální

### Hodnocení stupně transformace – stádia vývoje CRC

Vznik každého CRC je výsledkem sledu několika mutací (genových i chromosomálních) v střevních buňkách. Jedina buňka s mutací může dát vznik buněčnému klonu (buněčné

subpopulaci), v jehož buňce může vzniknout mutace dalšího genu urychlující její proliferaci buněk. Transformace je stupňovitý proces který v průběhu desítek let vede od vzniku benigních forem tumoru k maligním a posléze ke generalizaci nádoru. Při vzniku CRC nejen u FAP, ale i u sporadických se předpokládá sled mutací v těchto genech (13):

**APC (tumor supresorový gen)** – mutace APC genu patří k prvním mutacím v procesu transformace, neboť byly prokázány stejně často u malých adenomů jako u CRC. Zárodečné mutace podmiňují FAP. FAP se rozvíjí v dospívání po inaktivaci druhé alely APC mutací, delecí (LOH) nebo hypermethylovaním. Vzniká hyperplazie sliznice tlustého střeva a drobné polypy (adenomy). Jeho mutace byly prokázány i ve více než 60% všech solitárních kolorektálních tumorů.

**K-ras (rat sarcoma, protoonkogen)** – kóduje protein zčásti homologní s G proteinem. Patří do skupiny ras genů (K-ras, H-ras, N-ras). Jako G protein má GTP-asovou aktivitu a podílí se na přenosu intracelulární signalizace. Mutace ras genu zvyšuje poměr ras-GTP/ras-GDP a zesiluje tak přenos prorůstových signálů k jádru buňky. Tyto mutace patří k častým v mnoha typech nádorů. V tumorech kolorekta podmiňují rozvoj adenomů větších než 1 cm. U malých adenomů jsou jeho mutace prokázány jen v 10%, u větších adenomů i karcinomů ve více než 50%. (12) Gen je mapován na chromosom 12p12.

**DCC (deleted in colorectal cancer, tumor supresorový gen)** – kóduje transmembránový protein, který se podílí na ukotvení buněk a na mezibuněčném kontaktu. Mimobuněčná část je homologní k jiným adhezním molekulám, intracelulární je zcela specifická. Gen je lokalizován na 18q21. Ztráta jeho funkce (mutace, častěji delece) podmiňuje ztrátu kontaktní inhibice a in vitro se tyto buňky dělí i bez ukotvení (přichycení na podložku). Mutace (delece) DCC jsou prokázány u méně než 10% časných adenomů, ale v 43% pozdních adenomů a více než 75% karcinomů. Ztráta inhibiční funkce DCC je stupněm k invazivnímu růstu nádoru. Z hlediska prognózy je nález delece DCC diskutován (13). Mutace v zárodečných buňkách nebyly popsány.

**TP53 (tumor supresorový gen)** – kóduje protein p53, který má funkci transkripčního faktoru a podílí se na regulaci buněčného dělení v kontrolním bodu G1. Při poškození DNA buňky může pozastavit replikaci DNA, aktivovat reparační enzymy a pokud je poškození neopravitelné, indukovat transkripci genů (bax, bik, bad a d.), které spouštějí apoptózu (programovanou smrt buňky). Zvýšenou produkci proteinu p53 nacházíme v buňkách vystavených stresu (hypoxie, záření, chemické mutageny) Pro tuto svoji funkci je označován jako „strážce genomu“. Protein p53 je aktivní jako tetramér. Proto stačí již jedna mutace genu TP53 produkující zkrácený protein, aby se vytvářely nefunkční tetraméry. Gen TP53 byl mapován na chromosom 17p13.

Mutace v zárodečných buňkách podmiňují velmi vzácný dominantně dědičný Li-Fraumeniův syndrom. Tento syndrom nemá specifické symptomy, je však spojen s vysokým rizikem vzniku leukemie, nádorů prsu, sarkomy měkkých tkání, osteosarkomy a nádory CNS (nikoliv však CRC).

Somatické mutace (zejména delece 17p) jsou časté ve všech typech maligních nádorů. Ve vývoji CRC se uplatní ve 30% při rozvoji pozdních adenomů a podílí se v 75% na vzniku karcinomů. Buňky s neaktivním proteinem p53 mohou proliferovat i když jejich DNA je poškozena. Proces transformace, kumulace mutací onkogenů a tumor supresorových genů, se tak urychluje (13).

Popsaný sled mutací onkogenů a tumor supresorových genů není jediný, který vede k CRC. Z uvedených údajů vyplývá, že ne ve všech CRC prokazujeme mutace těchto genů. Současné poznatky ukazují, že existují i další cesty transformace, na kterých se podílejí další geny. Některé známe, jiné budou teprve objeveny.

**MMR geny (mismatch repair geny, mutatorové geny)** - MLH1, MSH2, PMS1, PMS2, MSH6. Jejich germinální mutace pod-

miňují výše popsaný Lynchův syndrom. Somatické mutace podmiňují mikrosatelitní instabilitu (MSI+) v nádorové tkáni. MSI+ byly prokázána až u 40% CRC. Většinou je tato instabilita mírnější v kombinaci s LOH tumor supresorových genů, méně často vysoká instabilita bez LOH. V této poslední skupině vykazovali pacienti lepší prognózu pro přežití, než pacienti s LOH (14).

**E-kadherin gen (CDH1, tumor supresorový gen)** – determinuje molekuly E-kadherinu, které zajišťují adhezi buněk v epitelu. Somatické nonsense mutace CDH1 nebo jeho LOH vyvolávají invazivní růst buněk a vznik metastáz. Mutace CDH1 byly prokázány u sporadických CRC i CRC asociovaných s ulcerativní kolitidou, nejčastěji však u karcinomů žaludku. CDH1 gen je mapován na chromosom 16p22. (15) Germinální mutace tohoto genu v homozygotním stavu vyvolávají u myši preimplantační poruchy vývoje neslučitelné se životem. Germinální mutace u člověka byly prokázány v rodinách s familiárním postižením karcinomy žaludku (16).

**Beta-katenin (CTNNB1)** – je protein důležitý pro vytváření a udržení vrstev epitelu. Zajišťuje mezibuněčný kontakt a fixuje cytoskelet. Podílí se i na regulaci přestavby epitelu např. při hojení. Zprostředkuje tzv. kontaktní inhibici buněčného dělení. Jeho hladina je regulována APC proteinem. Mutace CTNNB1 genu byly prokázány u sporadických CRC se standardními alelami APC genu. (17). Beta-katenin rovněž aktivuje T buněčný transkripční faktor (Tcf), jehož nadprodukce může vyvolat vznik nádoru. Mutace CTNNB1 mohou mít i dominantní efekt a iniciovat vývoj tumorů stejně jako mutace APC. Byly mimo CRC prokázány i v melanomech a hepatokarcinomech. CTNNB1 gen byl lokalizován na chromosom 3p21 (18).

**Telomerasa – telomerasová reversní transkriptasa** - je enzym schopný prodlužovat telomery, repetitivní úseky na koncích chromosomů, které se při každém buněčném dělení zkracují. V somatických buňkách je neaktivní. Zkracování telomer s destrukcí chromosomů po zkrácení telomer pod kritickou hranici je považováno za jednu z příčin stárnutí a zvýšené incidence karcinomů ve vyšším věku. (19). V časných adenomech je aktivita telomerasy nízká a telomery zkrácené, což přispívá k chromosomální instabilitě nádoru. V pozdních adenomech a karcinomech kolorekta je telomerasa aktivována, telomery jsou prodloužené. Nádorové buňky jsou proto schopné se „neomezit“ dělit a jsou odolnější vůči indukci apoptózy („jsou nesmrtné“) (20,21). Aktivace telomerasy je závažný stupeň rozvoje malignity – invazivita, progresse, metastázy. Gen TER byl lokalizován na chromosom 5p15.

### Prevence, diagnostika a terapie.

CRC jsou podmíněny sledem mutací v buňkách sliznice tlustého střeva a rekta. Základní prevencí vzniku CRC je proto omezení vlivu mutagenů. Malým dávkám mutagenů z prostředí jsme trvale vystaveni a jen málo je můžeme ovlivnit (kosmické záření, exhalace). Zásadním způsobem však můžeme ovlivnit složení stravy a životní styl. Epidemiologické studie prokázaly, že karcinomy tlustého střeva (CC) jsou v USA až 7x častější než v Číně. Po dlouhodobém pobytu čínských imigrantů v USA se i u nich incidence CC přiblíží incidenci u rodilých Američanů. Jako významné rizikové faktory byla prokázána dieta a sedavé zaměstnání s nedostatkem pohybu (22). Podrobné studie prokázaly, že strava s vysokým obsahem tuků a bílkovin a zejména s nízkým obsahem vlákniny (zejména obilnin), kalcia, fosforu a riboflavinu prokazatelně zvyšuje riziko CRC. Rovněž velká konzumace alkoholu riziko zvyšuje (23). Mechanismus působení těchto faktorů však není objasněn.

Většina CRC je sporadických. Pro jejich časnou diagnostiku je proto důležitý populační screening okultního krvácení, zejména u osob vyššího věku a rektoskopie. Výrazné snížení rizika CRC u takto dispensarizovaných skupin obyvatel je spojeno i s uvědoměním rizika CRC a úpravou diety a životního stylu (24).

Neméně důležitá je však pečlivá rodinná anamnéza, která může pomoci vyčlenit osoby, které vyžadují zvýšenou preventivní péči a genetické (molekulárně genetické) vyšetření. Empirické riziko postižení CRC v závislosti na rodinné anamnéze je v tabulce (25):

Populační riziko CRC	1 : 50
CRC postižen příbuzný prvního stupně	1 : 17
CRC postižen příbuzný prvního stupně a další příbuzný	1 : 12
CRC postižen příbuzný do 45 let věku	1 : 10
CRC postižení dva příbuzní prvního stupně	1 : 6
CRC postižení tři a více příbuzných prvního stupně	1 : 2

V rodinách s opakovaným výskytem CRC je nezbytné pátrat po příčině. Naše pracoviště je schopno provádět molekulárně genetická vyšetření v rodinách jak s FAP tak i HNPCC. Podrobnější metodický popis diagnostických postupů a výsledků jsme publikovali (4,5,6,7,11) Toto vyšetření umožňuje rozlišit v rizikových rodinách osoby, které nezdědily zárodečnou mutaci v APC genu nebo MMR genech. U těchto osob se doporučuje koloskopická kontrola jen v delších časových intervalech jako prevence CRC v důsledku jen somatických mutací. U osob s prokázanou zárodečnou mutací je indikováno koloskopické vyšetření od dospělosti. U rozvinuté FAP je jedinou spolehlivou prevencí CRC totální kolektomie. Tu je třeba zvážit i u rizika HNPCC. Svě místo má i UZ vyšetření např. ovarii a endometria). V budoucnu lze však očekávat i další možnosti, např. DNA vyšetření buněk epitelu ve stolici.

Prvým poznatkem o možnosti lékové ovlivnění rizika vzniku CRC byla zkušenost, že dlouhodobé užívání aspirinu snižuje riziko úmrtí na CRC (26). Kontrolované studie prokázaly,

že nesteroidní antiflogistika (např. sulindac) mohou vyvolat regresí adenomů u FAP (27). Další léky s tímto účinkem jsou testovány na myším modelu FAP (Min myši).

S rozvojem molekulární genetiky bylo publikováno mnoho prací zaměřených na studium molekulárního profilu CRC. Jejich závěry pro hodnocení prognózy a volbu terapie však nejsou zcela jednoznačné. Hlavní význam molekulárně genetického vyšetření je, že může prokázat přítomnost mutací a LOH i v minoritní části vyšetřovaných buněk a tím významně doplnit rutinní morfoloogické hodnocení nádorů (14).

Prognosticky nejzávažnějším nálezem je delece chromosomu 18 (18q, DCC), jejíž průkaz je spojen s horší prognózou, která odpovídá vyššímu stádiu vývoje CRC. Průkaz zachování DCC naopak znamená prognózu lepší (28). Jiné studie tuto závislost neprokázaly (14). Průkaz ztráty APC u rozvinutých sporadických CRC je spojen paradoxně s delším přežitím pacientů (14), ale i tento nález nebyl vždy potvrzen. Nádory s mikrosatelitní instabilitou většinou nevykazují LOH tumor supresorových genů a jsou zpravidla diploidní. HNPCC mají proto příznivější prognózu než jiné sporadické CRC s rozsáhlými aneuploidii. (14) O významu průkazu mutací v dalších genech pro prognózu a terapii zatím není dost informací.

Předpokládáme, že mapování lidského genomu přinese nové poznatky o genech, které se na CRC podílejí i nové přístupy k jejich prevenci a terapii včetně terapie genové. Nikdy se však neobejdeme bez uvědomělé péče každého o své zdraví a bez soustavné a cílevědomé práce obvodních lékařů, gastroenterologů a onkologů.

*Poděkování: Podporováno grantem IGA MZ ČR NC/6009-3 GA UK 29/00 a výzkumným záměrem MS České republiky. CEZ:J13/98:11110004*

## Literatura

- Bohring C.C., Squires T.S., Tong T.: Cancer statistics, CA 42, 1992: 19.
- Bodmer W.F., Bailey C.R., Bodmer J., Bussey H.J., Ellis A., Gorman P., Lucibello F.C., Murday V.A., Reder S.H., Scambler P. et al: Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5. Nature 328, 1987: 614-616.
- Groden J., Carlson M., Thliveris A., Samowitz W., Gelbert L., Albertsen H., Joslyn G., Jass J.R., Stewart S.M.: Evolution of hereditary non-polyposis colorectal cancer. Gut 33, 1992, 783-787.
- Kohoutová M., Štekrová J., Hořínek A., Jirásek V., Kapras J., Kotlas J.: Presymptomatická diagnostika familiární adenomatózní polypózy tlustého střeva metodou analýzy DNA. Čes. a Slov. Gastroent., 49, 1997, 3: 24-26.
- Kohoutová M., Štekrová J., Hořínek A., Jirásek V., Kapras J., Kotlas J.: Familiární adenomatózní polypóza I. Nepřímá DNA diagnostika pomocí RFLP a PCR. Čes. a Slov. Gastroent., 51, 1997, 3: 67-74.
- Štekrová J., Kohoutová M., Kapras J., Kotlas J., Kouřák O., Jirásek V., Stibor V.: Familiární adenomatózní polypóza II. Nepřímá DNA diagnostika pomocí mikrosatelitních markerů. Čes. a Slov. Gastroent., 51, 1997, 4: 103-109.
- Kohoutová M., Štekrová J., Jirásek V., Kotlas J., Kapras J., Kouřák O., Stibor V.: Familiární adenomatózní polypóza III. Přímá DNA diagnostika. Čes. a Slov. Gastroent., 51, 1997, 5: 149-155.
- Lynch H.T., Watson P., Smyrk T.C., Lanspa S.J., Boman B.M., Boland C.R., Lynch J.F., Cavalieri R.J., Leppert M., White R. et al: Colonic cancer genetics. Cancer 70, 1992: 1300-1312.
- Vasen H.F., Mecklin J.P., Khan P.M., Lynch H.T.: The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). Dis Colon Rectum 34, 1991: 424-425.
- Vasen H.F.A., Watson P., Mecklin J.P., Lynch H.T.: New clinical criteria for hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch Syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. Gastroenterology 116, 1999: 1453-1456.
- Boand C.R., Thibodeau S.N., Hamilton S.R., Sidransky D., Eshleman J.R., Burt R.W., Meltzer S.J., Rodriguez-Bigas M.A., Fodde R., Ranzani G.N., Srivastava S.: A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familia predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. Cancer Res 58, 1998: 5248-5257.
- Bos J.L., Fearon E.R., Hamilton S.R., Verlaan-De Vries M., Van Boom J.H., Van Der Eb A.J., Vogelstein B.: Prevalence of ras gene mutations in human colorectal cancers. Nature 327, 1987: 293-297.
- Vogelstein B., Fearon E.R., Hamilton S.R., Kern S.E., Preisinger A.C., Leppert M., Nakamura Y., White R., Smits A.M.M., Bos J.L.: Genetic alterations during colorectal cancer development. A Engl J Med 319, 1988: 525-532.
- Gebert J., Sun M., Ridder R., Hinze U., Lehner T., Moller P., Schackert H.K., Herfarth C., von Knebel Doeberitz M.: Molecular profiling of sporadic tumors by microsatellite analysis. Int J Oncol 16, 2000: 169-179.
- Berx G., Staes K., van Hengel J., Molemans F., Bussemakers M.J.G., van Bokhoven A., van Roy F.: Cloning and characterisation of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1). Genomics 26, 1995: 281-289.
- Guilford P., Hopkins J., Harraway J., McLeod H., McLeod N., Harawira P., Taite H., Scouler R., Millar A., Reeve A.F.: E-cadherin germline mutation in familial gastric cancer. Nature 392, 1998: 402-405.
- Korinek V., Barker N., Morin P.J., van Wichen D., de Weger R., Kim J.K., Vogelstein B., Clevers H.: Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tef complex in APC-/- colon carcinoma. Science 275, 1997: 1784-1787.
- Kraus C., Liehr T., Hulsken J., Behrens J., Birchmeier W., Grzeschik K.H., Ballhausen W.G.: Localization of the human beta-catenin gene (CTNNB1) to 3p21: a region implicated in tumor development. Genomics 23, 1994: 272-274.
- Greider C.W.: Telomerase activity, cell proliferation, and cancer. Proc Natl Acad Sci USA, 95, 1998: 90-92.
- Tang R., Cheng A.J., Wang J.Y., Wang T.C.: Close correlations between telomerase expression and adenomatous polyp progression in multistep colorectal carcinogenesis. Cancer Res 58, 1998: 4052-4054.
- Engelhardt M., Drüllinsky P., Guillem J., Moor M.A.: Telomerase and telomere length in the development and progression of premalignant lesions to colorectal cancer. Clin Canc Res 3, 1997: 1931-1941.
- Whittemore A.S., Wu-Williams A.H., Lee M., Zheng S., Gallagher R.P., Jiao D.A., Zhou L., Wang X.H., Chen K., Jung D. et al.: Diet, physical activity, and colorectal cancer among Chinese in North America and China. J Nat Cancer Inst 82, 1990: 915-926.
- Arbman G., Axelsson O., Eriksen-Begodki A.B., Fredriksson M., Nilsson F., Sjodahl R.: Cereal fiber, calcium, and colorectal cancer. Cancer 69, 1992: 2017-2048.
- Slattery M.L., Edwards S.L., Ma K.M., Friedman G.D.: Colon cancer screening and risk of colon cancer. Cancer Causes Control 11, 2000: 555-563.
- Houlston R.S., Murday V., Harocopus C., Williams C.B., Slack J.: Screening and genetic counselling for relatives of patients with colorectal cancer in family screening clinic. Br Med J 301, 1990, 366-368.
- Marnett L.J.: Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon cancer. Cancer Res 52, 1992: 5575-5589.
- Labayle D., Fischer D., Vielh P., Drouhin F., Pariente A., Bories C., Dunamel O., Troussot M., Attali P.: Sulindac causes regression of rectal polyps in familial adenomatous polypos. Gastroenterology, 101, 1991: 635-639.
- Martinez-Lopez E., Abad A., Font A., Morzo M., Ojanguren I., Pifarce A., Sanchez J.J., Martin C., Rassel R.: Allelic loss on chromosome 18q as a pathognomic marker in stage II colorectal cancer. Gastroenterology 111, 1998: 1180-1187.
- Thibodeau S.N., Bren G., Schaid D.: Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. Science 260, 1992: 816-819.

# ÚLOHA POLYMORFISMU GENOTYPU A FENOTYPU P450 2E1 A P450 2D6 V METABOLISMU A ÚČINCÍCH LÉČIV A KARCINOGENŮ

## THE ROLE OF P450 2E1 AND P450 2D6 GENOTYPE AND PHENOTYPE POLYMORPHISM IN METABOLISM AND ACTION OF DRUGS AND CARCINOGENS

GUT I., MILFAJTOVÁ J., PATZELOVÁ V., FRANTIČEK E., ŠARMANOVÁ J., SOUČEK P., VODIČKA P.

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV, CENTRUM PRACOVNÍHO LÉKAŘSTVÍ, SKUPINA BIOTRANSFORMACE, PRAHA

**Souhrn:** Mnoho (pro)karcinogenů je metabolizováno cytochromy P450 na vlastní účinné produkty. Genetický polymorfismus P450 2D6 výrazně ovlivňuje vlastnosti tohoto enzymu (fenotyp) a může se u jedinců s defektním enzymem projevit při běžných dávkách některých léků těžkým předávkováním. Neovlivňuje ale zřejmě individuální vnímavost k chemické karcinogenezi. Naproti tomu známé polymorfismy genu P450 2E1 neovlivňují aktivitu tohoto enzymu, která je zvýšena např. alkoholem a některými léky a snížena disulfiramem, fenolickými látkami v některé zelenině a ovoci. Vysoká exprese tohoto enzymu zvyšuje riziko genotoxických účinků benzenu, styrenu a asi 80 dalších významných xenobiotik a vysvětluje mechanismus, kterým alkohol může zvýšit jejich účinky. Proto je individuální odpovědností každého jedince, který je vystaven expozici látkám, jež P450 2E1 aktivuje, aby maximálně omezil příjem alkoholu. Aktivitu P450 2E1 lze snadno stanovit pomocí metabolismu chlorzoxazonu a tak vytipovat jedince se zvýšeným rizikem při expozici jeho substrátům. Preventivně účinnějším a obecně platným zásahem je však snížení profesionální expozice.

**Klíčová slova:** P450 2E1, P450 2D6, polymorfismus genotypu a fenotypu, karcinogeneza

**Summary:** Many (pro)carcinogens are metabolized by cytochromes P450 to actual active products. Genetic polymorphism of P450 2D6 markedly influences properties of this enzyme (phenotype) and individuals with defective enzyme may be subject to severe overdose at regular doses of some of about 40 drugs it primarily metabolizes. However, it apparently does not influence the individual sensitivity to chemical carcinogenesis. In contrast, known genetic polymorphisms of P450 2E1 do not influence the activity of this enzyme, which may be increased by alcohol and some drugs and decreased by disulfiram, phenolic compounds in some vegetables and fruit. High expression of P450 2E1 increases genotoxic effect of benzene, styrene and about 80 other important chemicals and explains mechanism by which alcohol enhances their effects. Therefore, each individual person may be responsible for decreasing the risk of exposure to chemicals known to be activated by P450 2E1 by limiting the intake of alcohol. P450 2E1 activity may be conveniently assessed by metabolism of chlorzoxazone to estimate individual risk of exposure to its procarcinogenic substrates. The decrease of occupational exposure to these chemicals is a more effective preventive measure, though.

**Key words:** P450 2E1, P450 2D6, polymorphism of genotype and phenotype, carcinogenesis

Velká část chemických (pro)karcinogenů je cytochromy P450 metabolizována na vlastní aktivní produkty (10). Proto nepřekvapuje, že u různých typů rakoviny a dalších nemocí jsou nacházeny odlišné frekvence polymorfismů genotypu a/nebo fenotypu P450 a soudí se, že v některých případech lze předem odhadnout vyšší individuální riziko expozice chemickým látkám. Tyto polymorfismy mohou také významně ovlivnit účinky léků. Rovněž vysoce polymorfní glutathion S-transferázy, N-acetyltransferázy, epoxid hydroláza, DT-diaforáza atd. zřejmě hrají významnou roli v chemické karcinogenezi.

K průkazu příčinné souvislosti mezi polymorfismem genotypu či fenotypu určitého enzymu biotransformace a individuálně zvýšeným rizikem chemické karcinogenezy je obecně třeba zodpovědět řadu otázek (Tabulka 1).

Naše pozornost se zaměřila na cytochrom P450 2D6 a P450 2E1, jejichž polymorfismy se charakteristicky liší.

### Cytochrom P450 2D6

U P450 2D6 jsou známy odpovědi za řadu výše uvedených otázek. Frekvence polymorfismu genotypu (bod 1) hlavních alel je daná zárodečnými mutacemi, uvedenými v Tabulce 2. Tyto mutace významně ovlivňují fenotyp (aktivitu enzymu) celý život jedinců (Tab.1, bod 2), kteří jsou v populaci charakterizováni podle rychlosti metabolismu jako pomalí meta-

bolizátoři (poor metabolizers, PM, u nás 3-5%), rychlí metabolizátoři (extensive, EM, většina populace) a velmi rychlí metabolizátoři (ultrarapid, URM, 1-5% populace). P450 2D6 v podstatě nelze indukovat, ale lze ho inhibovat (bod 2). Polymorfismus genotypu i fenotypu P450 2D6 se signifikantně projevuje v metabolismu a účincích asi 40 významných léků (bod 3a) Tab. 2 a Tab. 3) a v incidenci některých typů rakoviny ale ne v metabolismu řady známých karcinogenů, takže příčinná souvislost s karcinogenezou není jasná (Tab. 2, bod 3). Navíc meta-analýza třinácti epidemiologických studií ukázala, že u největších studií nebyl vztah mezi polymorfismem P450 2D6 a rakovinou plic významný (6).

Polymorfismus fenotypu P450 2D6 byl v řadě studií sledován pomocí metabolismu sparteinu, který ale již není k dispozici. Jiný specifický substrát debrisoquin vyvolal v běžných dávkách u řady pomalých metabolizátorů těžké stavy. V poslední době je používán metabolismus dextrometorfanu, což je antitusikum, v cizině prodávané bez předpisu.

Naše studie se týkala několika aspektů P450 2D6:

1. Možnost použití různých substrátů: ve výběru ze skupiny 100 dobrovolníků, jejichž polymorfismus fenotypu P450 2D6 byl před čtyřmi lety stanoven pomocí metabolismu sparteinu, jsme zjišťovali přesnost a citlivost stanovení PM a EM fenotypu pomocí metabolismu dextrometorfanu (odpovídá bodu 2)

**Tabulka 1: Podmínky průkazu souvislosti polymorfismu biotransformačních enzymů a chemické karcinogeny**

1. Jaká je frekvence polymorfismů v populaci? Nacházený rozptyl je 1- 50% populace
2. Ovlivňuje polymorfismus genotypu fenotyp (aktivitu a afinitu enzymu, tj.  $K_m$ ,  $V_{max}$ )? Pokud ne, je odlišný fenotyp stabilní a čím je ovlivněn?
3. Souvisí polymorfismus genotypu či fenotypu s rakovinou, jinými chorobami, účinky a metabolismem léku jen statisticky nebo kauzálně (ve studiích in vitro a in vivo)?
  - a) enzym aktivuje či inaktivuje karcinogen, lék?
  - b) je jediným či hlavním enzymem?
  - c) jsou rozdíly in vitro tak významné, že ovlivní metabolismus in vivo (vliv transportu, koncentrací in vivo)
  - d) jsou data ze zvířat validní pro lidi? Některé P450 enzymy zvířat nejsou v játrech lidí exprimovány či mají jiné vlastnosti. Jsou údaje z experimentů in vivo relevantní?
  - e) je expozice významná, nejsou jiné složky expozice významnější?
4. Je stanovení polymorfismu fenotypu specifické a spolehlivé?
5. Je u jedince karcinogenní proces zásadně ovlivňován jinými faktory a geny (např. geny BRCA1 a BRCA2 u hereditární rakoviny prsu)?
6. jakou má polymorfismus závažnost a je žádoucí intervence? Je odlišný význam pro zaměstnance a zaměstnavatele?

**Tabulka 2: Polymorfismy genu P450 2D6**

Variantní alely	Mutace	Funkce enzymu	Frekvence alel (%)			
			Běloši (Kaukasoídi)	Asiaté	Černí Afričané	Ethiopiáni, Saud-Arabové
2D6*2xN	Duplikace nebo multiplikace genu	Vyšší aktivita	1 - 5	0 - 2	2	10 - 16
2D6*3	Delece genu	Žádný enzym	<1	-	-	-
2D6*4	Defektní sestřih RNA	Inaktivní enzym	12 - 21	1	2	1 - 4
2D6*5	Delece genu	Žádný enzym	2 - 7	6	4	1 - 3
2D6*10	Pro23Ser, Ser486Thr	Nestabilní enzym	1 - 2	51	6	3 - 9
2D6*17	Thr107Ile, Arg296Cys, Ser486Thr	Vyšší $K_m$	0	-	34	3 - 9

**Tabulka 3: Důsledky fenotypu PM a URM u P450 2D6 pro účinky některých léků a riziko rakoviny**

Léčivo nebo nemoc	Příklad	Důsledek	Nepříznivý efekt
<b>POMALÍ METABOLIZÁTOŘI</b>			
Tricyklické antidepresanty	desipramin, fluvoxamin, fluoxetin, mexiletin, citalopram	snížená klírens	předávkování kardiotoxicita
neuroleptika	haloperidol	snížená klírens	zvýšený účinek
anti-anginózní	perhexilin	snížená klírens	neuropatie
anti-arrhythmika	propafenon, mexiletin	snížená klírens	nausea, zvracení
snížení chuti k jídlu	dexfenfluramin	snížená klírens	nausea, zvracení
analgetika	tramadol	snížená klírens	snížený účinek
antitusika	kodein	snížená klírens	snížený účinek
opioidy	oxydecon, hypercodon	snížená klírens	snížená závislost!!!
rakovina	rakovina plic	nižší riziko rakoviny plic není spolehlivě prokázáno	
<b>ULTRARYCHLÍ METABOLIZÁTOŘI</b>			
antitusika	kodein	zvýšená aktivace	bolesti břicha

**Tabulka 4: Analýza polymorfismu genotypu P450 2D6**

Č.vz.	Osoba	Metabolismu sparteinu v r.1995	Metabolismu dextrometorfanu v r.1999	alela 2D6*3 del2637A (HpaII.MspI)	alela 2D6*4 G1934A (BstNI)	alela 2D6*5 (gen chybi)
G-1	MRe	PM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
G-2	JŠ	PM	PM	w/w	w/m	nepřítomna
G-3	MR	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
G-4	HJ	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
G-5	TM	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
G-6	NB	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
G-7	LŠ	PM	PM	w/w	w/m	nepřítomna
G-8	PK	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
G-9	NŘ	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
G-10	JM	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
IHE-38	RF	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
IHE-40	PR	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna
IHE-41	IG	EM	EM	w/w	w/w	nepřítomna

**Tabulka 5: Důsledky fenotypu P450 2E1 pro riziko rakoviny**

1. Gen P450 2E1 je v populaci polymorf. polymorfismus c1/c2 (v 5'-přilehlající oblasti) se vyskytuje asi ve 2% populace a polymorfismus C/D (v intronu 6) v asi 5-10% populace
2. Polymorfismus genotypu P450 2E1 neovlivňuje významně fenotyp ( $V_{max}$  a  $K_m$  ani inducibilitu enzymu. Velké inter- i intraindividuelní rozdíly fenotypu jsou dány vlivy prostředí (indukce alkoholem i léky, inhibice Antabusem i látkami z potravy)
3. Vliv odlišné frekvence polymorfismu genotypu u Japonců s rakovinou plic nelze vysvětlit aktivitou P450 2E1. Naproti tomu zvýšené riziko genotoxických účinků benzenu u Číňanů souviselo s vyšší aktivitou P450 2E1, tj. odlišným fenotypem
  - a) enzym aktivuje benzen a dalších asi 80 pro karcinogenů na genotoxické metabolity. Ne metabolizuje významně léky vyjma paracetamolů.
  - b) je jediným či hlavním enzymem xenobiotik ad 3.a.
  - c) nalezené rozdíly  $K_m$  a  $V_{max}$  u lidí in vitro a ex vivo jsou tak významné, že mohou ovlivnit metabolismus in vivo
  - d) vlastnosti P450 2E1 ( $V_{max}/K_m$ ) u zvířat a lidí jsou podobné - řada prokarcinogenů je metabolizována podobnou rychlostí a na stejné metabolity. Zvýšení genotoxicity benzenem alkoholem u zvířat lze vysvětlit indukcí P450 2E1
  - e) expozice různým substrátům P450 2E1 v některých zemích je dosud významná a často vysvětluje převyšuje expozici dalším látkám
4. Stanovení polymorfismu genotypu pomocí PCR-REPL je spolehlivé a určení fenotypu pomocí metabolismu chlorzoxazonu je specifické a spolehlivé
5. Nelze vyloučit, že karcinogenní proces je u exponovaných lidí ovlivňován dalšími faktory a geny
6. Známé polymorfismy genotypu P450 2E1 u těchto zatím nemají prokázanou souvislost s různými typy rakoviny. Indukci P450 2E1 například alkoholem lze považovat za spolehlivě prokázanou souvislost s rizikem při expozici prokarcinogenem, které P450 2E1 oxiduje. Intervence je větší každého jedince ale není informací pro zaměstnavatele

Citace k tabulce: 4, 5, 9, 11, 13, 14, 15



a 4 Tabulky 1). U výběru 8 osob, z toho 5 EM a 3 PM odpovídaly všechny osoby dříve stanovenému fenotypu vyjma jedné osoby původně určené jako PM, jejíž metabolismus dextrometorfanu odpovídal fenotypu EM.

2. Korelace genotypu a fenotypu: kvůli uvedené diskrepanci stanovení fenotypu jsme u těchto osmi a dalších pěti osob v genomové DNA určili inaktivující mutace P450 2D6 (Tab. 1, bod 2 a Tab. 4), jež dle literatury zodpovídají za status PM, tj. G1934A (alela 2D6\*4, restriktaza BstNI) a del2637 (alela 2D6\*3, restriktaza HpaII, MspI) (Tab.4). Inaktivující mutace G1934A byla zjištěna jen ve dvou ze tří osob PM a žádné EM, mutace del2637 nebyla u žádné osoby. Analýza genotypu tedy potvrdila, že předchozí stanovení fenotypu sparteinem nebylo u jedné osoby PM přesné, zřejmě pro krátký odběr moči ke stanovení metabolitů, doporučený v literatuře, který je zatížen rizikem zpožděného vylučování. Metabolismus dextrometorfanu se ukázal vhodným testem určení fenotypu P450 2D6. Polymorfismus genu P450 2D6 však poskytuje podrobnější analýzu povahy defektu genu, jehož důsledky pro fenotyp jsou dobře prostudovány.

3. Stabilita fenotypu: ukázali jsme, že fenotyp PM i EM je v ontogeneze jednotlivce zachován (Tab. 1, bod 2), což odpovídá zárodečným mutacím. Tento fakt zjednodušuje sledování významu P450 2D6 pro metabolismus a účinky chemických látek.

4. Úloha polymorfismu genotypu/fenotypu P450 2D6 v karcinogeneze: i když významně ovlivňuje metabolismus i účinky řady léků, ani poslední léta neukázala jeho účast v metabolismu známých karcinogenů nebo antikarcinogenů (cytostatik). To zpochybňuje kauzální souvislost mezi odlišnou frekvencí polymorfismu genotypu i fenotypu P450 2D6 a chemickou karcinogenezou, nalezenou v některých epidemiologických studiích. I naše studie metabolismu důležitých cytostatik ukázala malý význam tohoto enzymu pro jejich účinky (1, 12).

### Cytochrom P450 2E1

Pro význam polymorfismu fenotypu, ne však genotypu P450 2E1 v metabolismu, toxicitě a chemické karcinogenitě svědčí řada skutečností uvedených v Tabulce 5, která vychází z obecných zásad uvedených v Tabulce 1.

Chtěli jsme přispět k řešení otázky, zda se polymorfismus fenotypu P450 2E1 významně uplatňuje i v riziku expozice styrenu (IARC klasifikace 2A = pravděpodobný karcinogen) a chlorovaným derivátům benzenu, podezřelým z karcinogenity. Studovali jsme již dříve vliv P450 2E1 a dalších P450 enzymů na metabolismus benzenu (4, 5, 9), styrenu (7), chlorbenzenu, 1,2- a 1,4-dichlorbenzenu u potkana, myši a člověka in vitro (11), jejich aktivaci na genotoxické produkty alkylující DNA a vztah mezi aktivitou P450 2E1 a oxidací styrenu u dobrovolníků in vivo.

Naše výsledky ukázaly, že styren byl in vitro významně metabolizován mikrosomálním P450 2E1 potkana i člověka. Úlohu dalších enzymů P450 3A1/2 potkana i P450 3A4 člověka jsme prokázali indukci nebo inhibicí těchto dvou enzymů. Rychlost metabolismu styrenu u potkana, myši a člověka byla srovnatelná. P450 2E1 aktivoval styren in vitro účinněji než P450 3A na genotoxický metabolit styren oxid a účinněji tvořil DNA adukty.

Sledováním inhibice metabolismu chlorzoxazonu disulfirame (Antabusem) u dobrovolníků jsme zjistili, že rozdílnou aktivitu P450 2E1 lze snadno určit vylučováním jeho metabolitu močí (2). Na druhé straně dvojnásobné zrychlení metabolismu chlorzoxazonu po předchozím podání alkoholu zdravým, mladým dobrovolníkům prokázalo, že lze dobře sledovat

zvýšení aktivity P450 2E1 a zároveň to, že mírné dávky alkoholu tuto aktivitu výrazně zvyší.

Významný podíl P450 2E1 v metabolismu styrenu na styren oxid byl prokázán u lidí pomocí vylučování jeho metabolitu kyseliny mandlové a kyseliny fenylglyoxylové močí, které bylo výrazně sníženo inhibitorem P450 2E1 disulfirame (3). Tyto studie tedy přispěly k průkazu, že 1) P450 2E1 je nejvýznamnějším enzymem aktivace styrenu na genotoxické metabolity u člověka i potkana, 2) metabolismus styrenu u lidí je významně ovlivněn aktivitou P450 2E1 také in vivo, 3) polymorfismus fenotypu (ne však genotypu) P450 2E1 je významným faktorem individuální vnímavosti ke genotoxickým účinkům styrenu a 4) tento polymorfismus je významně ovlivněn alkoholem. Tyto faktory se přirozeně mohou uplatnit jen při významných opakovaných expozicích styrenu v pracovním prostředí, které u nás existovaly ještě před několika lety. Z preventivního hlediska je tedy snížení expozice zaměstnavatelem zřejmě významnějším faktorem než zjištění polymorfismu fenotypu P450 2E1. Na druhé straně je individuální zodpovědností každého zaměstnance exponovaného styrenu, aby konzumací alkoholu nezvyšoval genotoxické riziko, které expozice styrenu přináší.

Analogicky jsme ukázali, že polymorfismus fenotypu P450 2E1 by mohl přispět k individuálně odlišným účinkům dalších genotoxických látek anilinu, chlorbenzenu, 1,2-dichlorbenzenu (8), ale pravděpodobně má malý vliv na účinky potenciálního karcinogenu 1,4-dichlorbenzenu, který je převážně metabolizován poměrně málo polymorfním lidským P450 3A4.

### Závěry

1. Genetický polymorfismus P450 2D6 dány inaktivujícími mutacemi celoživotně snižuje aktivitu (mění fenotyp) tohoto enzymu a může se u daných osob projevit při běžných dávkách některých léků těžkým předávkováním. Literární údaje o odlišné frekvenci genetického polymorfismu u pacientů s některými nádory však dosud nelze kauzálně spojit s chemickou expozicí či karcinogenezou, protože prokázané karcinogeny nepatří ke známým substrátům tohoto enzymu a meta-analýza 13 studií nepotvrdila souvislost uváděnou některými předchozími studiemi. Polymorfismus fenotypu lze snadno stanovit u lidí pomocí metabolismu dextrometorfanu, ale analýza polymorfismu genotypu z DNA bílých krvinek poskytuje podrobnější informace o povaze defektu, jejichž důsledky pro fenotyp jsou dobře známy.

2. Známé genetické polymorfismy P450 2E1 neovlivňují aktivitu tohoto enzymu. Polymorfismus jeho fenotypu je ovlivněn vlivy prostředí: aktivita je zvýšena např. alkoholem a některými léky, snížena disulfirame, fenolickými látkami v některé zelenině a ovoci a lze ji tedy do určité míry ovlivnit vlastním jednáním. Vysoká exprese tohoto enzymu zvyšuje riziko genotoxických účinků benzenu, styrenu a řady dalších významných substrátů tohoto enzymu a vysvětluje mechanismus, kterým alkohol může ovlivňovat jejich účinky. Naše studie ukazují, že polymorfismus fenotypu P450 2E1 by mohl být významným faktorem individuální vnímavosti k rakovině vyvolané substráty tohoto enzymu. Aktivitu P450 2E1 lze poměrně snadno stanovit pomocí metabolismu chlorzoxazonu. Nejlepší prevencí je samozřejmě snížení profesionální expozice, ale je obtížné vyhnout se expozici z prostředí, například ve formě některých benzinu obsahujících aromátů.

*Oznámení: studie byla podporována grantem reg.c. 6715-3 Interní grantové agentury MZ ČR.*

## Literatura:

1. Gut I, Danielová V, Holubová J, Souček P, Klučková H: Cytotoxicity of cyclophosphamide, paclitaxel and docetaxel for tumor cell lines in vitro: effects of concentration, time and CYP-catalyzed metabolism. *Arch Toxicol* 74, 2000 s. 437-46.
2. Gut I, Hiršl A, Linhart I a Hurychová D: Rychlost vylučování 6-hydroxychlorzoxazonu močí jako neinvazivní test aktivity cytochromu CYP2E1 a jeho vztah k riziku genotoxicity. *Pracov Lék* 49, 1997, s. 113-120.
3. Gut I, Milfajtová J, Mráz J, Frantík E, Gilar M: Inhibice metabolismu styrenu Antabusem u lidí. *České pracovní lékařství* 2000, Supplementum 1, s. 12-18.
4. Gut I, Nedelcheva V, Souček P, Stopka P and Tichavská B: Cytochrome P450 in benzene metabolism and involvement of its metabolites and reactive oxygen species in toxicity. *Environm. Health Perspect.* 104, 1996, Suppl.6, s. 1211-1218.
5. Gut I, Nedelcheva V, Souček P, Vodička P, Gelboin HV, Ingelman-Sundberg M: The role of CYP2E1 and 2B1 in metabolic activation of benzene derivatives. *Arch. Toxicol* 71, 1996, s. 45-56.
6. Christensen PM, Gotsche PC, Brosen K: The spartein/debrisoquine (CYP2D6) oxidation polymorphism and the risk of lung cancer: a meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol* 51, 1997, s. 389-393.
7. Linhart I, Gut I, Šmejkal J., Novák Jan: Biotransformation of styrene in mice. Stereochemical aspects. *Chem. Res. Toxicol.* 13, 2000, s. 36-44.
8. Nedelcheva V, Gut I: Lidské a potkaní formy cytochromu P450: význam jejich srovnání pro toxikologii a metody jejich studia. *Pracov Lék* 46, 1994, s. 58-67.
9. Nedelcheva V, Gut I, Souček P, Tichavská B, Mráz J, Guengerich FP and Ingelman-Sundberg M: Metabolism of benzene in human liver microsomes. Interindividual variations in relation to CYP2E1 expression. *Arch. Toxicol* 73, 1999, s. 33-40.
10. Nedelcheva V, Gut I: Cytochromes P450 in rats and humans: Methods of investigation, substrate specificities and relevance to cancer. *Xenobiotica* 24, 1994, s. 1151-1175.
11. Nedelcheva V., Gut I, Souček P., Frantík E. Oxidation of monochlorobenzene, 1,2-dichlorobenzene and 1,4-dichlorobenzene by CYP2E1 in rats, mice and humans. *Chem-Biol. Interactions* 115, 1998, s.53-70.
12. Pospišilová L, Gut I, Souček P, Hodek P: Cytochromes P450 involved in cyclophosphamide, paclitaxel and docetaxel metabolism in rats. *Collect Czech Chem Com* 65, 2000, s. 1183-1190.
13. Rothman N, Smith MT, Hayes RB, Traver RD, Hoener B-A, Campelman S, Li G-L, Dosemeci M, Linet M a spol.: Benzene poisoning, a risk factor for hematological malignancy, is associated with the NQO1 609C>T mutation and rapid fractional excretion of chlorzoxazone. *Cancer Res* 57, 1997, s. 2839-2842.
14. Souček P, Šarmanová J, Gut I: Geno- a fenotypování biotransformačních enzymů. *Zdravotnické noviny* 1999, č. 27, s. 8.
30. Šarmanová J, Týnková L, Šusová S, Gut I, and Souček P: Genetic polymorphisms of biotransformation enzymes: allele frequencies in the population of the Czech Republic. *Pharmacogenetics* 10, 2000, s. 781-788

# informace

## ZÁVAŽNÉ OZNÁMENÍ OBČI ČESKÝCH ONKOLOGŮ

Na mimořádném jednání Rady Národního onkologického registru na MZ ČR v Praze dne 13. 11. 2001 v dopoledních hodinách byli zúčastnění členové Rady NOR informováni ředitelem odboru informatiky MZ ČR ing. Pappem a zástupcem firmy AMIS ing. I. Schmidtem o následujících skutečnostech, které se významně dotýkají dalšího fungování Národního onkologického registru:

1. Na MZ ČR bylo ustaveno Koordinační středisko resortních zdravotnických informačních systémů pro podporu rozvoje národních zdravotních registrů.
2. NOR má být registrem vedeným podle ustanovení Zákona 260/2001 Sb. a zůstává jednou z priorit programu Zdravotnictví on-line formulovaného v roce 2000.
3. Formální hlavou NOR zůstává Ústav zdravotních informací a statistiky (ÚZIS), primárně odpovědným za NOR zůstává odbor zdravotní péče.
4. Dosavadní dodavatel správy databáze firma AMIS v krátké době zanikne a její závazky přebírá firma ICZ.
5. Tuto změnu provází návrh nového technologického řešení NOR sestávající z vytvoření centrální databáze ve správě Koordinačního střediska a firmy ICZ a ze zrušení lokálních databází.
6. Koordinační středisko a odbor informatiky oznamuje tuto skutečnost jako řešení již rozhodnuté stejně jako i termín přechodu na centrální databázi od 15. 12. 2001
7. S tímto technologickým řešením mají souviset také inovace napojení na zdrojové nemocniční databáze a vytvoření sekundární databáze pro vytěžování dat, které však nebyly konkrétněji specifikovány. Jak sběr a validace dat NOR, tak způsoby jejich vytěžování jsou nesporně v centru pozornosti odborné onkologické veřejnosti, stejně tak i dostupnost dat a možnosti jejich analýzy pro odborná onkologická rozhodování

Uvedené skutečnosti byly vnímány zástupci Masarykova onkologického ústavu v Brně jako velmi významné a byly proto ve stejný den 13. 11. 2001 v odpoledních hodinách podrobně projednány Vědeckou radou Masarykova onkologického ústavu s následujícím stanoviskem, které je předkládáno k diskusi a podpoře onkologickým společenstvem, regionálním onkologickým pracovištím a odborné onkologické veřejnosti.

Vědecká rada Masarykova onkologického ústavu v Brně, jako specializovaného resortního pracoviště MZ ČR pro onkologii se statutárními povinnostmi v oblasti epidemiologie nádorů, jako regionálního správce NOR koordinujícího sběr onkologických dat ve třech krajích a jako aktivního účastníka řady projektů analyzujících onkologická data v minulosti i v současnosti, zaujala následující jednomyslné stanovisko:

1. Lze pouze vzít na vědomí oznámení o převodu databáze NOR z ÚZIS do jiného databázového systému realizovaného subdodavatelem firmou ICZ pod garancí nově vzniklého Koordinačního střediska pro resortních zdravotnických informačních systémů pro podporu rozvoje národních zdravotních registrů i oznámení o zániku lokálních databází a vzniku jediné centrální databáze. Šlo o rozhodnutí učiněná mimo Radu NOR a mimo obec českých onkologů.
2. Lze obecně přivítat úsilí o technologické inovace NOR, které přinášejí prospěch producentům i uživatelům onkologických dat, jimiž jsou především onkologové a onkologicky profilovaní specialisté řady oborů, ovšem i široká lékařská veřejnost, včetně manažerů zdravotní péče.
3. Lze přivítat úsilí o legislativní zakotvení NOR v zákoně normě.
4. Je nutno striktně požadovat, aby na všech rozhodovacích o technologických inovacích NOR, především pokud jde o sběr a validaci dat na straně jedné a způsoby jejich využití a analýz na straně druhé, se přímo účastnili onkologičtí odborníci, zástupci odborných společností i klinických onkologických pracovišť regionálního a celostátního významu.
5. Je nutno striktně dbát na to, aby koncepce fungování a využívání NOR zůstávala při všech technologických inovacích otevřenou pro všechny iniciativy onkologů směřující k provázanosti NOR a odborné onkologické činnosti a aby účast subdodavatelů či správců centrální databáze NOR tyto iniciativy nikterak nelimitovala

Doc. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.,  
zástupce ředitele a předseda Vědecké rady MOU, člen Rady NOR a člen výboru Onkologické společnosti

MUDr. Edvard Geryk,  
předseda Rady NOR a vedoucí Regionální správy v NOR v MOU

## VLIV PŘEDOZÁŘENÍ NA NĚKTERÉ BIOCHEMICKÉ PARAMETRY MALIGNÍCH NÁDORŮ MLÉČNÉ ŽLÁZY: RECEPTORY STEROIDNÍCH HORMONŮ

### INFLUENCE OF PRE-IRRADIATION ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BREAST MALIGNANT TUMORS: STEROID HORMONE RECEPTORS

LANG B.A.<sup>1</sup>, ČERNOCH M.<sup>1</sup>, ŠIMÍČKOVÁ M.<sup>1</sup>, NEKULOVÁ M.<sup>1</sup>, FORBELSKÁ M.<sup>2</sup>, PECEN L.<sup>3</sup>, EBEN K.<sup>3</sup>,  
VONDRÁČEK J.<sup>3</sup>, PAČOVSKÝ Z.<sup>1</sup>, VERMOUSEK I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

<sup>2</sup> PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA MU BRNO

<sup>3</sup> ÚSTAV INFORMATIKY A VÝPOČETNÍ TECHNIKY PRAHA

**Souhrn:** *Východiska:* Otázka, zda ionizační ozáření nádoru ovlivňuje u rakoviny prsu stanovení receptoru steroidních hormonů ve tkáni, získané při následném operativním zákroku, nebyla dosud klinicky jednoznačně zodpovězena. *Materiál, metody:* U peroperačně získaných vzorků primárních nádorů rakoviny mléčné žlázy (pT 1-3, pN 0-2, M 0) u nemocných z let 1980 až 1990, které zahrnovaly skupinu 90 nádorů před operací frakcionovaně ozářených dávkou 20 Gy a skupinu 52 nádorů neo-zářených, byly stanoveny cytozolové receptory estradiolu (cER) a progesteronu (cPgR) i nukleární receptory estradiolu (nER) metodou saturační analýzy s aktivním uhlím a s použitím ligandů značených <sup>3</sup>H. *Výsledky:* Výrazně nižší hodnoty ER u předozářených nádorů (skupina A) jsme zaznamenali pouze u jaderné frakce, zatím co nižší hodnoty zjištěné u frakce cytozolové nebyly statisticky významné. Nižší hodnota mediánu cPgR u skupiny předozářených nádorů prsu je statisticky významná. S velkou pravděpodobností se zde projevuje i vliv stupně diferenciace. Při klinickém posouzení hormonální pozitivivity nádorů je u skupiny A výrazně nižší procento nádorů, u nichž oba testované cytoplazmatické receptory jsou označeny jako pozitivní (cER+/cPgR+) a významně nižší je i procento nádorů s kombinací nER-/cPgR+. Procento předozářených nádorů s kombinací nER-/cPgR- je však podstatně vyšší. *Závěr:* Naše výsledky dokumentují rozdíly v expresi steroidních receptorů v maligních nádorech prsu po předozáření ve srovnání s nádory bez předozáření. Tyto výsledky podporují představu, že předozáření nádoru prsu narušuje stav signálních cest estrogenů a progesteronu v nádorové tkáni. Pochopit správně důsledky záření na zdravou i onkologicky postiženou tkáň mléčné žlázy je podle našeho soudu i klinicky stále aktuální.

**Klíčová slova:** rakovina prsu; receptor estrogenu; receptor progesteronu; radioterapie; nádorová buňka; ionizační záření

**Summary:** *Background:* The question of the ionising irradiation influence on steroid hormone receptor quantification in a subsequent breast carcinoma surgery remains clinically unanswered. *Material and Methods:* The saturation analysis technique with activated charcoal and <sup>3</sup>H labelled ligands was used to assay cytosol estradiol receptors (cER), cytosol progesterone receptors (cPgR) and nuclear estradiol receptors (nER) in two sets of primary breast carcinoma specimens (pT 1-3, pN 0-2, M0) collected during surgeries between 1980 and 1990. One group (Group A, N=90) consisted of specimens from tumours preoperatively fractionally irradiated with a total of 20 Gy, the specimens of the other group (Group B, N=52) were not subject to radiation therapy prior to surgery. *Results:* Markedly lower ER values in pre-irradiated tumours were found in the nuclear fraction only, while the ER level decrease in the cytosol fraction was not statistically significant. The statistically significantly lower cPgR median in pre-irradiated specimens was very probably partly due to the grade of differentiation. Compared with Group B, Group A had a significantly smaller number of tumours in which both cytoplasmic receptors of steroid hormones clinically tested as positive (cER+/cPgR+), significantly smaller number of nER-/cPgR+ tumours, but a substantially higher number of tumours with the nER-/cPgR- combination. *Conclusions:* Our results confirm the differences in the expression of steroid hormones in malignant breast tumours with and without pre-irradiation. The results seem to support the assumption that preoperative irradiation of breast tumours may impair the function of estrogen and progesterone signalling pathways in the tumour tissue. The authors believe that a thorough understanding of the consequences irradiation may produce in both healthy and oncologically affected tissue of the mammary gland remains a clinically topical issue even today.

**Key words:** breast cancer; estrogen-receptor; progesterone-receptor; radiotherapy; cancer cell; ionizing radiation

#### Úvodní část

Po překonání nejradikálnějších chirurgických léčebných postupů u rakoviny prsu, ovlivněných Halstedovou představou pouze lokálního onemocnění, formovala se v padesátých až sedmdesátých letech dvacátého století nová představa léčebného postupu u maligních nádorů této lokalizace založená na rozšiřujících se vědomostech o kinetice a heterogenitě nádorových buněk mléčné žlázy. Velký vliv na další vývoj v této oblasti měly hlubší poznatky hormonální závislosti tkání prsu, mole-

kulární biologie estrogenů a ve spojitosti s receptory estrogenu pak dramatický účinek objevu tamoxifenu. Klinický přístup byl poznamenán technickým pokrokem mamografie a radiační terapie. V důsledku toho všeho se měnily také chirurgické postupy ve smyslu menší radikality se snahou maximálně možného uchování integrity postiženého prsu. Do tohoto trendu se zapojilo v jisté fázi vývoje nových představ kombinovaných postupů i užití preoperativní radioterapie. Z klinického hlediska je spojen s radioterapií jeden závažný

problém při volbě následné vhodné terapie: Ovlivňuje předozáření u rakoviny prsu správné stanovení ER a PgR ve tkáni získané při následném operativním zákroku? Jak ovlivňuje záření koncentraci receptorů v buňce mléčné žlázy vůbec? V letech 1976 až 1981 bylo publikováno několik klinických pozorování, která naznačila možnost, že ionizační záření snižuje koncentrace cytoplasmatických forem jak ER tak PgR<sup>1,2,3,4</sup>. Jedná práce, jejíž výsledky tomuto zjištění odporují, byla studována na vzorcích metastáz z kůže, podkoží a z lymfatických uzlin ozářených bezprostředně před excizí<sup>5</sup>. Studie uveřejněné v letech osmdesátých a devadesátých, ať už byly metodicky provedeny v experimentech na kulturách buněčných linií lidské rakoviny prsu<sup>6,7,8,9,10</sup> nebo na maligních nádorech mléčných žláz zvířat<sup>11</sup>, potvrdily sice představu dřívějších klinických studií, ale nevyjasnily důsledky z toho plynoucí pro klinické rozvahy o dalším průběhu a prognóze onemocnění, ani molekulárně biologické mechanismy působení ionizačního záření na signalizační cesty hormonálního řízení.

Při biochemickém sledování klinického průběhu nemocných s rakovinou prsu u tří postupně studovaných souborů jsme v letech 1980 až 1990 vyšetřili i řadu biochemických parametrů primárních nádorů po ablaci prsu. V rozmezí těchto let se ale v terapii tohoto onemocnění měnily názory na léčebné postupy, zvláště na výhody a nevýhody předoperačního ozáření nádoru. Získali jsme tak nechtěně u sledovaných žen dva soubory nádorů, které se lišily v předoperační fázi: Jednu skupinu tvořily nádory, které byly před ablaci prsu nebo extirpací nádoru ozářeny, druhou skupinu představovaly nádory bez radiační terapie před základní léčbou chirurgickou.

Srovnání výsledků vyšetření ER a PgR u taktó vzniklých souborů může přispět, podle našeho názoru, k další objektivizaci představy o vlivu ozáření na následné stanovení receptorů steroidních hormonů, když přesně experimentálně postihnou biochemické změny v lidských nádorech ozářených in situ je z etických důvodů nepřipustné.

#### Výběr nemocných a metody stanovení

**Výběr nemocných:** Byly analyzovány vzorky tkáně z operabilních primárních karcinomů prsu 142 nemocných léčených v Masarykově onkologickém ústavu v Brně v letech 1980-1990. Bližší charakteristika souboru je patrná z tab. 1: Skupina A – nemocné s předoperační radioterapií rakoviny prsu (N=90). Skupina B – nemocné bez této předoperační terapie (N=52).

**Metody stanovení**<sup>12,13</sup>. Vzorky tkáně byly odebírány patologem z nádorů v těsném sousedství vzorku pro histopatologické vyšetření. Ihned po odebrání zmrazeny a uchovávány při -70 °C. Před analýzou byly - po zchlazení tekutým dusíkem - homogenizovány rozpraškováním v mikrodismembrátoru (Braun-Melsungen, SRN). Cytosoly byly připraveny suspendováním prášku tkáně v pufru Tris-HCl 10 mmol/l, EDTA 0,5 mmol/l, monoethioglycerol 12 mmol/l, glycerol 10%, pH 7,4, a centrifugací při 105 000x g, při 20 °C po 1 h.

**Stanovení cER a cPgR.** Receptory steroidních hormonů byly stanovovány metodou saturační analýzy s aktivním uhlím a s použitím ligandů značených <sup>3</sup>H podle doporučení E.O.R.T.C.. Pro měření cER byl použit (2,4,6,7-<sup>3</sup>H)estradiol (Amersham Int. plc, Anglie). Nespecifická vazba byla měřena za přítomnosti 200-násobného přebytku diethylstilbestrolu jako neradioaktivního ligandu. Stanovení cPgR bylo provedeno principiálně stejnou metodou s použitím ligandu (<sup>3</sup>H)ORG.2058 (Amersham Int. plc, Anglie). Nespecifická vazba byla měřena za přítomnosti 200-násobného přebytku ORG.2058.

Výsledky měření obou steroidních receptorů byly zpracovány metodou Scatchardovy analýzy s korekcí podle Chamnesse a McGuire.

**Celková bílkovina v cytosolech** byla určena metodou Lowryho a spol. v modifikaci Petersonově<sup>14</sup> a na ni vztážen obsah měřených látek.

**Tab. 1: Charakteristika souborů**

A = nádory předozářené, B = nádory nepředozářené

		A		B		P
Počet		90		52		
Věk		53,86±9,79		52,25±11,44		NS
		N	%	N	%	
Meno-pauzální stav	pre-	30	33	20	38	NS
	peri-	16	18	7	14	NS
	post-	44	49	25	48	NS
pT	1	28	35	8	17	0,032
	2	49	62	32	70	NS
	3	2	3	6	13	
pN	0	41	47	21	49	NS
	1	43	49	18	42	NS
	2	4	4	4	9	
Histologický typ	Dukt.	52	59	33	63	NS
	Lob.	5	6	5	10	
	Jiný	31	35	14	27	NS
Stupeň diference	1-2	21	27	15	29	NS
	3-4	58	73	37	71	NS

**Stanovení nER** jsme provedli modifikovanou metodou podle Clarka<sup>15</sup>. Sediment po ultracentrifugaci cytosolu pro stanovení cER byl suspendován pomocí pístového homogenisátoru v pufru Tris-HCl 10 mmol/l, obsahujícím EDTA 1 mmol/l, dithiothreitol 1 mmol/l a azid sodný 3 mmol/l, pH 7,4 (TED pufr). Po centrifugaci při 800x g a teplotě 4°C byl sediment promyt ještě 2x TED pufrém a sediment získán centrifugací. Po opětovném suspendování sedimentu byly alikvoty suspence inkubovány 1h při laboratorní teplotě za třepání se šesti koncentracemi radioaktivního (2,4,6,7-<sup>3</sup>H)estradiolu při stanovení cER. Po následné centrifugaci při 800x g byly sedimenty opět 3x promyty TED pufrém. Měření radioaktivity se provádělo v alkoholických extraktech sedimentů.

**Koncentrace DNA** byla určena Burtonovou metodou a na ni vztážen obsah nER.

**Hodnocení klinické pozitivitu.** Za cER pozitivní byly považovány nádory o vazebné kapacitě vyšší než 5 fmol/mg bílkoviny v cytosolu, pro cPgR o kapacitě vyšší než 10 fmol/mg. U nER byly výsledky hodnoceny jako pozitivní nad 100 fmol/mg DNA ve vzorku.

**Statistická analýza** zahrnovala průzkumovou analýzu dat a výpočet základní deskriptivní statistiky. Vzhledem k charakteru rozložení byly pro významnost rozdílů mezi soubory a podskupinami použity neparametrické testy (Mann-Whitney a Kolmogorov-Smirnov). V kontingenčních tabulkách byl počítán Chi-kvadrát test a Fischerův exaktní test. Krivky přežití byly sestaveny metodou Kaplan-Meira. Přežívání v obou souborech bylo porovnáno Wilcoxonovým a LOG-RANK testem. Ke statistickým analýzám byly použity programy SPSS, Matlab a S.A.S.

#### VÝSLEDKY A DISKuze

##### Hodnoty receptorů steroidních hormonů

**cER a nER.** Výrazně nižší hodnoty ER u předozářených nádorů (skupina A) jsme zaznamenali pouze u jaderné frakce, zatímco nižší hodnoty zjištěné u frakce cytozolové nebyly statisticky významné (tab.2). Stupeň diference nádoru neměl podstatný vliv na hodnoty ER v obou buněčných kompartementech (tab. 3 a 4).

Tab. 2: Rreceptory ER a cPgR – přehled

		N	M	IQR (interquartile)	p*	
					KS	MW
cER (fmol/mg protein)	A	89	12,0	32	NS	NS
	B	52	17,01	46,2		
nER (fmol/mg DNA)	A	72	23	360	0,010	NS
	B	43	88	233		
cPgR (fmol/mg protein)	A	87	5,0	20	0,068	0,045
	B	50	9,85	82,95		

\* neparametrické testy rozdílu (KS = test podle Kolmogorova – Smirnova, MW = test podle Mann-whitney)

Tab. 3: Vliv ozáření na hodnoty ER a cPgR v nádorech převážně diferencovaných

		N	M	IQR (interquartile)	p*	
					KS	MW
cER (fmol/mg protein)	A	21	16,8	28,5	NS	NS
	B	13	14,6	52,2		
nER (fmol/mg DNA)	A	17	34,0	286,2	NS	NS
	B	12	153,5	592,5		
cPgR (fmol/mg protein)	A	21	9	32,8	NS	NS
	B	12	44,0	181,5		

\* neparametrické testy rozdílu viz tab. 2

Tab. 4: Vliv ozáření na hodnoty ER a cPgR v nádorech převážně nediferencovaných

		N	M	IQR (interquartile)	p*	
					KS	MW
cER (fmol/mg protein)	A	52	11,9	28,6	NS	NS
	B	34	14,4	33,5		
nER (fmol/mg DNA)	A	42	25,0	440,0	NS	NS
	B	27	81,0	177,9		
cPgR (fmol/mg protein)	A	52	0	3,5	NS	0,06
	B	33	3,7	48,8		

\* neparametrické testy rozdílu viz tab. 2

**PgR.** Nižší hodnota mediánu cPgR u skupiny předozářených nádorů prsu ve srovnání s kontrolním souborem nádorů neozařených je statisticky významná (tab.2). S velkou pravděpodobností se zde projevuje i vliv stupně diferenciace (tab. 3 a 4). Nádory převážně nediferencované asi exprimují cPgR v menším množství.

Výsledky nedávno publikované práce<sup>16</sup> o obrazu distribuce buněk exprimujících ER i PgR ve vztahu k proliferujícím buňkám v normální mléčné žláze žen vedou k závěru, že ER a PgR pozitivní buňky se vyskytují výlučně v epitelu a jsou pro Ki67 negativní. Tato skutečnost byla potvrzena experimentálně autoradiograficky na mléčných žlázách mladých panenských krys po inokulaci <sup>3</sup>H-tymidinu. Zmíněný buněčný typ s přítomností receptorů estrogenu a progesteronu tedy neproliferuje. Buňky, které inkorporovaly <sup>3</sup>H-tymidin, byly negativní jak pro ER tak i pro PgR.

Metodicky nejjednodušším prověřením vlivu záření na nádorovou buňku maligního onemocnění prsu jsou pokusy na příslušných buněčných liniích. MCF-7 je nejužívanější linií kontinuální kultury lidských nádorových buněk rakoviny mléčné žlázy exprimující ER i PgR. Na ni bylo potvrzeno, že ionizující záření snižuje koncentrace jak ER tak i PgR – vztaheno na buňku. Snižování je závislé na dávce, účinky na cytoplazmatické a jaderné frakce receptorů nejsou však stejné. Změny po záření postihují především jadernou frakci receptorů. Při prověřování funkce receptorů v ozářených buňkách MCF-7 belgičtí autoři nepozorovali významné účinky záření na počáteční fázi působení steroidních hormonů. Autoři vysvětlují výsledky svých pozorování snížením „jaderných vazebných míst“<sup>17</sup>.

V pokusech na nádorech mléčné žlázy krys, vyvolaných pomocí dimetylbenz(a)antracenu, nedošlo po aplikaci 7 Gy ke změně v hladině ER a PgR. Dávka 20 Gy ale vyvolala jejich statisticky významný pokles, který byl progresivní a dosáhl

maxima 20 až 30 dnů po expozici. Janssens a spolupracovníci se domnívají, že ztráta naměřených vazebných míst je důsledkem specifického účinku ionizačního záření a není způsobena možným vzestupem lytických enzymů v regredujících nádorech<sup>18</sup>.

### Výskyt kombinací ER/PgR podle klinických kritérií

Z tabulky 5 je zřejmé, že u skupiny nemocných s frakcionovaným předozářením nádoru v celkové dávce 20 Gy je při srovnání s nádory nepředozářenými výrazně nižší procento nálezu posouzených podle rutinně používaných kritérií klinické biokemie (cER+=>5 fmol/mg bílk.; cPgR+=>10 fmol/mg bílk.), u nichž oba testované cytoplazmatické receptory steroidních hormonů jsou pozitivní (cER+/cPgR+).

Pracovní skupina McGuire-a vyslovila v roce 1975 hypotézu<sup>19</sup>, která se opírala o skutečnost, že v normální reprodukční tkáni je syntéza PgR přísně závislá na estrogenu. Uvažovali takto: Vazba estradiolu na ER, která je podkladem metody stanovení ER, je pouze prvním stupněm v kaskádě děju působení estradiolu na molekulární úrovni. Stanovíme-li k tomu i hladinu receptorů Pg, zjistíme funkčnost dalšího úseku této kaskády, a to úseku velmi podstatného. Znalost hladin receptorů obou steroidních hormonů nám podstatně zvýší jistotu předpovědi. Jejich hypotéza byla velmi logická a není tedy divu, že stanovení estrogenových a progesteronových receptorů se do dnes užívá celosvětově k vyřídění těch nemocných s rakovinou prsu, které mohou mít prospěch z léčby hormonální<sup>20</sup>.

Tab. 5: Kombinace cER a cPgR dle klinického hodnocení – vliv předozáření

	A	cER+ cPgR+	cER+ cPgR-	cER- cPgR+	cER- cPgR-
A	86	24,4 %	37,2 %	8,1 %	30,2 %
B	49	40,8 %	28,6 %	8,2 %	22,4 %
Chi-square		0,046	NS	NS	NS
Fischer		0,054	NS	NS	NS

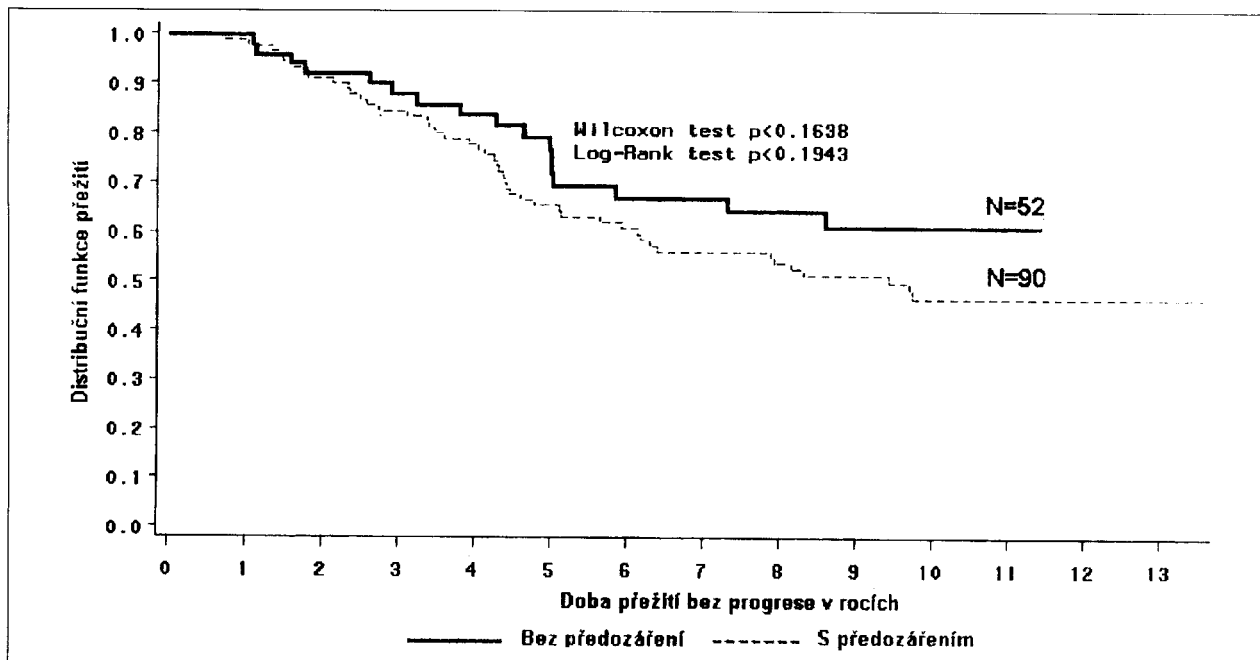
Poslední léta však ukázala, že hypotéza postihuje jen část, a dokonce asi tu menší část skutečnosti. Situace hormonální regulace je totiž mnohem složitější. Řada laboratoří popsala výskyt přirozeně se objevujících variant ER<sup>21,22</sup> nebo mutantů, byly popsány i polymorfní formy ER genu<sup>23,24</sup>. Od roku 1996 víme, že existují dvě základní izoformy ER s vysokou homologií na úrovni DNA – označujeme je dnes ERa. Jejich koexprese v maligních nádorech prsu může mít klinicky prognostický význam. Mnohé z genetických změn v *er* byly zjištěny také v intronech, tedy v oblastech genu, které přímo nezdají primární strukturu bílkoviny.

Nižší procento skupiny s kombinací cER+/cPgR+ u předozářených nádorů v naší studii by mohlo podle dosud uznávaných představ znamenat nevýhodnější stav hormonální situace v důsledku snížené exprese receptorů steroidních hormonů u předozářených nádorů s příslušnými důsledky při výběru dalšího léčebného postupu. Pro tuto skutečnost by svědčilo i významně vyšší procento (tab.6) předozářených nádorů s kombinací nER-/cPgR- (p=0,04) a snížení počtu nádorů s kombinací nER-/cPgR+ (p=0,06).

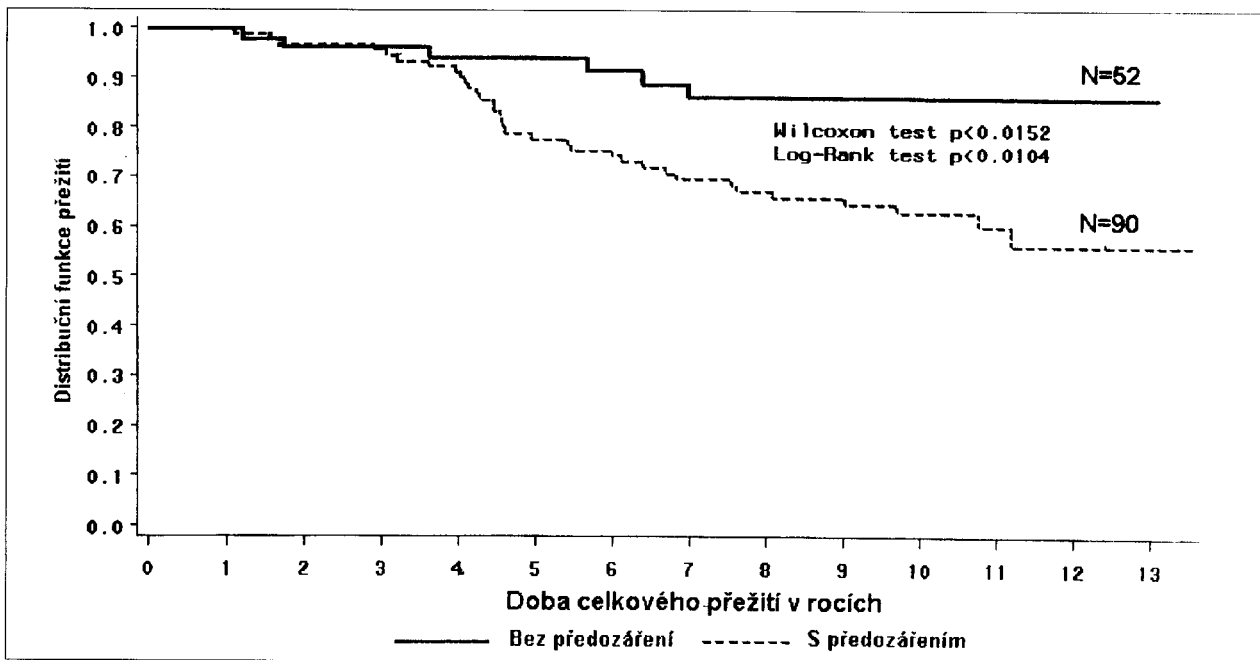
Tab. 6: Kombinace nER a cPgR dle klinického hodnocení – vliv předozáření

	A	nER+ cPgR+	nER+ cPgR-	nER- cPgR+	nER- cPgR-
A	72	20,8 %	23,6 %	18,1 %	37,5 %
B	42	26,2 %	21,4 %	33,3 %	19,0 %
Chi-square		NS	NS	0,064	0,039
Fischer		NS	NS	0,072	0,057

**Graf 1: Doba bez návratu choroby.** Stejný trend je zřetelný i při hodnocení stadia přežívání nemocných bez příznaků choroby u obou sledovaných souborů. Rozdíl však není významný na úrovni 95%.



**Graf 2: Doba přežití nemocných.** Odhad skutečného přežití po deseti letech podle Kaplan-Meiera v souboru nemocných bez předozáření byl signifikantně vyšší než u souboru předozářených.



### Vliv předozáření na pooperační vývoj choroby

**Doba přežití nemocných.** Odhad skutečného přežití po deseti letech dle Kaplan-Meiera v souboru nemocných bez předozáření byl signifikantně vyšší než u souboru předozářených (test Log-Rank  $p < 0,0104$ ; Wilcoxon  $p < 0,0152$ ) (graf 2).

**Období bez návratu choroby.** Stejný trend je zřetelný i při hodnocení bezprogresového přežívání nemocných (ve stadiu bez příznaků choroby) u obou deset let sledovaných souborů. Rozdíl však není významný na úrovni 95% (graf 1).

**Souhrn výsledků** naší studie svědčí nejen pro to, že předozáření narušuje stav hormonálních signálních cest estrogenu a progesteronu v nádorové tkáni, ale připouští i možnost, že jeho vliv nepřispívá k léčebným záměrům klinika. I když pře-

dozařování maligních nádorů prsu se již prakticky neuzivá, doporučuje se často pooperační radioterapie a to dokonce i u nádorů fyloidních<sup>26</sup>. Posoudit příčiny horšího odhadu přežití u nemocných s předozářením je možno teprve hlubší analýzou i s ohledem na uplatněnou terapii u nemocných, které již sledujeme déle než deset let. Pochopit správně důsledky záření na zdravou i onkologicky postiženou tkáň mléčné žlázy je podle našeho soudu i klinicky stále aktuální.

*Poděkování.* Autoři by rádi poděkovali paní H. Kvapilové a M. Pavlovské za výbornou technickou spolupráci při stanovování receptorů a kolegům z oddělení chirurgie a patologie za poskytnutí definovaného klinického materiálu.

## Literatura

1. Walt, A. J., Singhakowinta, A., Brooks, S. C., Cortez, A.: The surgical implications of estrophile protein estimation in carcinoma of the breast. *Surgery (St.Louis)* 80, 506-512 (1976).
2. Bressot, M., Veith, F., Saussol, J., Pujol, H., Lavie, M., Granier, M., Gary-Bobo J., Rochefort, H.: Presurgical radiotherapy decreases the concentrations of estrogen and progesterone receptors in human breast cancer: a 200-patient study. *Breast Cancer Res.Treat.* 2, 177-183 (1981).
3. Janssens, J. P., Bonte, J., Drochmans, A., Mulier, J., Rutten, J., Wittevrongel, C., De Loecker, W.: Effect of presurgical radiotherapy on the steroid receptor concentrations in primary breast carcinoma. *Europ. J.Cancer* 17, 659-664 (1981).
4. Noel, G., Becquart, D., Maisin, H.: Les récepteurs d'estrogènes dans le cancer du sein: effet de la radiothérapie pré-opérative. *Senologia* 6, 315-323 (1981).
5. Valenstein, S. L., Voigt, W., Vogel, Ch. L., Thomsen, S., Sugarbaker, E. V., Castro, A., Gupta, V., Charyulu, K.: Reliability of clinical estrogen receptor assays performed on tumor tissue biopsied from sites previously treated with radiotherapy. *Surgery* 85, 617-623 (1979).
6. Janssens, J. P., Wittevrongel, Christine, De Loecker, W.: Interaction of ionizing irradiation with steroid receptors in human breast cancer cells. *Cancer Res.* 44, 5650-5656 (1984).
7. Toulas, C., Beauregard, G., Delassus, F., Thauvette, I., Potier, M., Bayard, F., Faye, J.-C.: Radiation inactivation of estrogen receptor in intact human breast cancer cells (MCF-7). *FEBS Lett.* 285, 28-30 (1991).
8. Schmidt-Ullrich, R. K., Valerie, K. C., Chan, W., McWilliams, D.: Altered expression of epidermal growth factor receptor and oestrogen receptor in MCF-7 cells after single and repeated radiation exposures. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.* 29, 813-819 (1994).
9. Whelan, R. D., Hill, B. T.: Differential expression of steroid receptors, hsp27, and p52 in a series of drug resistant human breast tumor cell lines derived following exposure to antitumor drugs or to fractionated X-irradiation. *Breast Cancer Res.Treat.* 26, 23-39 (1993).
10. Paulsen, G. H., Strickert, T., Marthinsen, A. B., Lundgren, S.: Changes in radiation sensitivity and steroid receptor content induced by hormonal agents and ionizing radiation in breast cancer cells in vitro. *Acta Oncol.* 35, 1011-1019 (1996).
11. Janssens, J. P., Wittevrongel, C., Van Dam, J., Goddeeris, P., Lauwerijns, J. M., DeLoecker, W.: Effects of ionizing irradiation on the estradiol and progesterone receptors in rat mammary tumors. *Cancer Res.* 41, 703-707 (1981).
12. Lang, B. A., Černoch, M., Vermousek, I., Šimířková, M., Stratil, P., Rejthar, A., Hlávková, J., Sakalová, J., Celý, J.: Complex biochemical analysis of human breast tumor tissue. *Neoplasma* 36, 61-69 (1989).
13. Vermousek, I., Szamel, Irene, Goerlich, M., Brdar, B., Cvrtila, D., Graf, D., Padovan, R., Paszko, Z., Šafarčík, K.: Quality control of steroid receptor assays: An international study. *Neoplasma* 39, 65-69 (1992).
14. Peterson, G. L.: A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generable applicable. *Anal.Biochem.* 83, 346-350 (1977).
15. Clark J. H., Peck J. R., Schrader W. T., O'Malley B. W.: Estrogen and progesterone receptors: Methods for characterization, quantification, and purification. v knize Busch H., *Methods in cancer research.* Vol. XII. Academic Press, New York, 1976.
16. Russo, J., Ao, X., Grill, C., Russo, I. H.: Pattern of distribution of cells positive for estrogen receptor a and progesterone receptor in relation to proliferating cells in the mammary gland. *Breast Cancer Res Treat.* 53, 217-227 (1999).
17. Janssens, J. P., Wittevrongel, Christine, De Loecker, W.: Interaction of ionizing irradiation with steroid receptors in human breast cancer cells. *Cancer Res.* 44, 5650-5656 (1984).
18. Janssens, J. P., Wittevrongel, C., Van Dam, J., Goddeeris, P., Lauwerijns, J. M., DeLoecker, W.: Effects of ionizing irradiation on the estradiol and progesterone receptors in rat mammary tumors. *Cancer Res.* 41, 703-707 (1981).
19. Horwitz, K. B., McGuire, W. L., Pearson, O. H., Segaloff, A.: Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer: a hypothesis. *Science* 29, 726-727 (1975).
20. Kolář, Z.: Estrogenové receptory a karcinomy mléčné žlázy. *Čs.Patol.* 29, 85-92 (1993).
21. Fuqua, S. A. W., Fitzgerald, S. D., Chamness, G. C., Tandon, A. K., McDonnell, D. P., Nawaz, Z., O'Malley, B. W., McGuire, W. L.: Variant human breast tumor estrogen receptor with constitutive transcriptional activity. *Cancer Res* 51, 105-109 (1991).
22. Fuqua, S. A., Fitzgerald, S. D., Allred, D. C., Elledge, R. M., Navaz, Z., McDonnell, D. P., O'Malley, B. W., Greene, G. L., McGuire, W. L.: Inhibition of estrogen receptor action by a naturally occurring variant in human breast tumors. *Cancer Res* 52, 483-486 (1992).
23. Fuqua, S. A. W., Chamness, G. C., McGuire, W. L.: Estrogen receptor mutations in breast cancer. *J.Cell Biochem.* 51, 135-139 (1993).
24. Baker, V. A., Puddefoot, J. R., Marsigliante, S., Baker, S., Goode, A. W., Vinson, G. P.: Oestrogen receptor isoforms, their distribution and relation to progesterone receptor levels in breast cancer samples. *Br.J.Cancer* 66, 1083-1087 (1992).
25. Speirs, Valerie, Parkes, A. T., Kerin, M. J., Walton, D. S., Carleton, P. J., Fox, J. N., Atkin, S.L.: Coexpression of estrogen receptor a and b: Poor prognostic factor in human breast cancer? *Cancer Res.* 59, 525-528 (1999).
26. Dietz, R.: Das cystosarcoma phylloides malignum. *Strahlenther. Onkol* 167, 292-294 (1991).

# informace

## PROGRAM XXVI. BRNĚNSKÝCH ONKOLOGICKÝCH DNŮ

Termín: 29. - 31. 5. 2002

Místo konání: Hotel Voroněž, Brno

### Středa 29.5.2002:

dopoledne: Využití NOR pro management onkologické péče  
odpoledne A: Molekulární diagnostika onkologických onemocnění  
odpoledne B: Preventivní onkologická vyšetření a jejich výsledky

### Čtvrtek 30.5.2002 (hlavní celodenní témata):

A (lékaři): Kvalita a ekonomika onkologické péče  
B (SZP): Kvalita a efektivita ošetrovatelské péče v onkologii.

### Pátek 31.5.2002:

dopoledne A (lékaři): Onkochirurgie pánevních orgánů – interdisciplinární přístup  
dopoledne B (SZP): Kvalita života onkologicky nemocných  
odpoledne: Invazivní radiologie v onkologii (kurz IDVPZ)

Kontaktní adresa: Organizační výbor BOD2002, MOÚ, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno  
tel:05-43134102, fax: 05-4321 1169, e-mail: direct@mou.cz

První informace o XXVI.BOD s požadavky na abstrakta a vyžádané texty do sborníku bude distribuována začátkem ledna 2002.

# NAŠE ZKUŠENOSTI S KOMBINACÍ MINI ICE (IFOSFAMID, ETOPOSID, KARBOPLATINA) PO SELHÁNÍ ANTRACYKLÍNŮ A TAXÁNŮ U PACIENTEK S METASTAZUJÍCÍM KARCINOMEM PRSU

## MINI ICE (IFOSFAMIDE, ETOPOSID, CARBOPLATINUM) AFTER THE FAILURE OF ANTHRACYCLINES AND TAXANES IN METASTATIC BREAST CANCER PATIENTS: SINGLE INSTITUTION EXPERIENCE

JANKŮ F., PETRUŽELKA L., NOVOTNÝ J., ŠAFANDA M., JUDAS L.

ONKOLOGICKÁ KLINIKA I.LF UK A VFN, PRAHA

**Souhrn:** Na Onkologické klinice I. LF UK a VFN bylo od února 1996 do dubna 2001 léčeno 27 pacientů (26 žen a 1 muž) s metastazujícím karcinodem prsu po selhání antracyklínů (4) nebo antracyklínů a taxánů (23) kombinací miniICE (den 1 a 2: ifosfamid 1g/m<sup>2</sup>, karboplatina 200mg/m<sup>2</sup>, etoposid 300mg/m<sup>2</sup>), která byla podávána jednou za 28 dní do progresse onemocnění nebo projevů nepřijatelné toxicity. Všichni pacienti měli histologicky prokázaný karcinom prsu, stav výkonnosti dle ECOG 0 až 2. V době léčby bylo pacientům 33 až 71 let (medián: 47 let). Dvanáct pacientů dostalo více než 2 řady chemoterapie před tímto režimem. V tomto souboru jsme hodnotili počet léčebných odpovědí, dobu do progresse, přežití a nežádoucí účinky. **Výsledky:** Doposud bylo hodnoceno 27 pacientů na toxicitu a účinnost. Nebylo pozorováno žádné úmrtí v souvislosti s léčbou. Toxicita byla hodnocena dle CTC NCI. Hlavní a dávku limitující byla hematotoxicita. Během celkově podaných 106 cyklů léčby se objevilo 15 epizod febrilní neutropenie, 50 epizod hematologické toxicity stupně 3 a 4. Skupině pacientů mladších 50 let (15) bylo podáno celkem 66 cyklů léčby. Ve skupině pacientů starších 50 let (12) to bylo 40 cyklů léčby. Rustové faktory byly použity u 12 pacientů při léčbě protražované neutropenie. U 2 cyklů se objevily průjemné stupně 3. Alopecie byla pozorována u všech pacientů. Jiná nehematologická toxicita stupně 3 a 4 nebyla zaznamenána. Léčebná odpověď byla pozorována u 41% pacientů. V 9 případech (33%) se jednalo o parciální odpověď (PR) a ve 2 případech (8%) o kompletní odpověď (CR). Medián doby do progresse byl 22 týdnů (4-117) s 5 pacienty (19%) bez známek progresse déle než 12 měsíců. Medián celkového přežití byl 47 týdnů (4-256) s 12 pacienty (44%) žijícími déle než 1 rok a 3 pacienty (11%) žijícími déle než 2 roky od zahájení léčby. **Závěr:** Režim miniICE je efektivní u metastazujícího karcinomu prsu po selhání antracyklínů a taxánů, ale vskazuje výraznou hematotoxicitu. Tato kombinace je vhodná především pro mladší pacienty v dobrém stavu výkonnosti.

**Clíčová slova:** metastazující karcinom prsu, chemoterapie, přežití, odpověď, toxicita.

**Summary:** Since February 1996 till April 2001, 27 patients with advanced breast cancer (26 women and 1 man) either after the anthracyclines (4) or anthracyclines and taxanes failure (23) were treated with combination mini ICE (day 1 and 2: ifosfamide 1g/m<sup>2</sup> 1-hour i.v. infusion, carboplatinum 200mg/m<sup>2</sup> 1-hour i.v. infusion, etoposid 300mg/m<sup>2</sup> 22-hour i.v. infusion) administered every 4 weeks until unacceptable toxicity or disease progression. All patients had histologically proven breast cancer, ECOG performance status 0 - 2, age 33-71 (median 47). 12 patients received more than 2 lines of chemotherapy prior this regimen. We assessed the response rate (RR), the time to progression (TTP), the survival (OS), the safety and toxicity. **Results:** Now 27 patients are evaluable for the toxicity and response. No treatment related death occurred. Toxicity was assessed according to CTC NCI. The major dose limiting toxicity was hematologic. There were 15 episodes of febrile neutropenia observed, 50 grade 3 or 4 hematologic toxicity in 106 administered cycles. There were administered 66 cycles in the subset of 15 younger patients (under the age of 50) and 40 cycles in the subset of 12 older patients respectively. Growth factors were used in 12 patients. Grade 3 diarrhea occurred in 2 cycles. All patients had alopecia. Other grade 3 or 4 nonhematologic toxicity has not been observed. The overall response rate is 41% including 9 PR (33%) and 2 CR (8%). Median TTP is 22 weeks [4-117] with 5 patients (19%) remaining progression free more than 12 month. Median survival is 47 weeks [4-256] with 12 patients (44%) living more then 1 year and 3 (11%) living more then 2 years since the treatment had been started. **Conclusion:** This regimen has shown good activity but significant hematologic toxicity in advanced breast cancer patients pretreated with anthracyclines and taxanes. This combination is suitable for younger patients with good performance status.

**Key Words:** metastatic breast cancer, chemotherapy, survival, response, toxicity

### Úvod

Během 90. letech došlo k dalšímu pokroku v léčbě metastazujícího karcinomu prsu. Po antracyklínech, které se staly součástí léčebných schémat v 80. letech, se objevilo několik nových účinných cytostatik, z nichž především taxány získaly nezastupitelné místo v léčbě tohoto onemocnění (1,6-9, 11). Na základě výsledků kontrolovaných klinických studií se kombinace antracyklínů a taxánů staly režimy používanými v 1. linii léčby (2-5,10, 13, 14). Po selhání těchto cytostatik není jednoznačně určené agens či režim, který by byl prokazatelně dostatečně účinný a tedy jasně indikován. Je možné použít

některá nová cytostatika jako vinorelbin (25- 27), gemcitabin (23, 24) či kapecitabin (20-22). Pro nemocné se zvýšenou expresí HER2/neu onkogenu je možné zvažovat kombinace cytostatik s antiHER protilátkou (trastuzumab) (17-19). Dalším z možných režimů je kombinace miniICE (28-30).

### Pacienti a metody

Na Onkologické klinice I. LF UK a VFN byl podáván režim miniICE od února 1996 do dubna 2001 27 pacientům (26 žen a 1 muž) s metastazujícím karcinodem prsu po selhání antracyklínů (4 pacienti) nebo antracyklínů a taxánů (23 pacienti)



Všichni hodnocení pacienti měli histologicky potvrzený karcinom prsu, stav výkonnosti dle ECOG 0 až 2. Léčebná odpověď byla hodnocena podle WHO kritérií.

Chemoterapie byla podána v následujícím dávkovacím schématu: ifosfamid (Holoxan<sup>®</sup>, ASTA Medica) 1g/m<sup>2</sup> v hodinové infúzi, karboplatina (Cycloplatin<sup>®</sup>, Lachema) 200mg/m<sup>2</sup> v hodinové infúzi, etoposid (Vepesid<sup>®</sup>, Bristol-Myers Squibb) 300mg/m<sup>2</sup> v kontinuální infúzi trvající 22 hodin; vše podávané v den 1 a 2 každých 28 dní. Léčba byla podána během krátkodobé 48 hodinové hospitalizace. K prevenci nevolnosti a zvracení byly podány 5-hydroxytryptamine-3 antagonisté (Kytril<sup>®</sup>, SmithKline Beecham nebo Navoban<sup>®</sup> Novartis nebo Zofran<sup>®</sup>, Glaxo Wellcome) v den 1 a 2 před zahájením chemoterapie. Rekombinantní hemopoetické růstové faktory (Neupogen<sup>®</sup>, Amgen nebo Leucomax<sup>®</sup> Novartis nebo Granocyte<sup>®</sup>, Aventis) byly použity při léčbě febrilních neutropenií a profylakticky u pacientů, kde byla zaznamenána febrilní neutropenie nebo neutropenie stupně 4 a nebyla redukována dávka v následujících cyklech.

Krevní obraz s diferencálním rozpočtem byl kontrolován před každým cyklem a týden po podání chemoterapie. Toxicita byla hodnocena podle Common Toxicity Criteria National Cancer Institute (CTC NCI). Pro posouzení léčebné odpovědi byla použita WHO kritéria. Léčba byla podávána do známek progresu onemocnění nebo nepřijatelných projevů toxicity.

### Statistika

Přežití bylo počítáno ode dne zahájení chemoterapie do dne úmrtí. Doba do progresu byla definována jako čas od zahájení léčby do progresu onemocnění.

### Výsledky

Od února 1996 do dubna 2001 bylo touto kombinací léčeno 27 pacientů. Podrobná charakteristika souboru je popsána v tabulce 1. Jednalo se o 26 žen a 1 muže s mediánem věku 47 let (rozpětí 33 – 71 let). Velká většina pacientů byla v dobrém stavu výkonnosti dle ECOG (PS 0 - 10 pacientů, PS 1- 9 pacientů, PS 2 - 8 pacientů). Histologicky se jednalo o ductální infiltrující karcinom v 17 případech, lobulární infiltrující karcinom ve 3, atypický medulární ve 2 a trabekulární ve 2 případech. Infiltrativní, medulární a anaplastický karcinom se vyskytl po jednom případě. Třetina pacientů měla pozitivní hormonální receptory, 6 negativní. U 12 pacientů nebyly hormonální receptory vyšetřeny. Zvýšená exprese HER2/neu onkogenu byla vyšetřena ve 14 případech, z nichž 5 bylo pozitivních. Téměř polovina (12) pacientů měla postiženy dva orgánové systémy nádorem, postižení pouze jednoho systému jsme zjistili u 8 pacientů a třech a více systémů u 7 pacientů. Nejčastěji, ve 23 případech, se jednalo o postižení měkkých tkání jako jsou lymfatické uzliny, kůže, podkoží nebo druhostranný prs. Postižení skeletu bylo u 14, plíc u 13 a jater u 4 pacientů. Všichni pacienti v tomto souboru byli hodně předlечeni. Po selhání antracyklinů a taxánů jich bylo 23. Čtyři pacientky nebyly předlечeny taxány. Jednalo se o nemocné léčené touto kombinací v době, kdy ještě nebylo použití taxánů v této indikaci u nás tak rozšířené. Devět pacientek bylo navíc předlечeno vinorelbinem v monoterapii nebo kombinacích. Hormonální léčba pro generalizované onemocnění byla podána celkem 17 pacientům. Čtyři z nich dostali tři řady, 8 dvě řady a 5 jednu řadu hormonálních léků (tamoxifen, inhibitory aromatázy a progestiny).

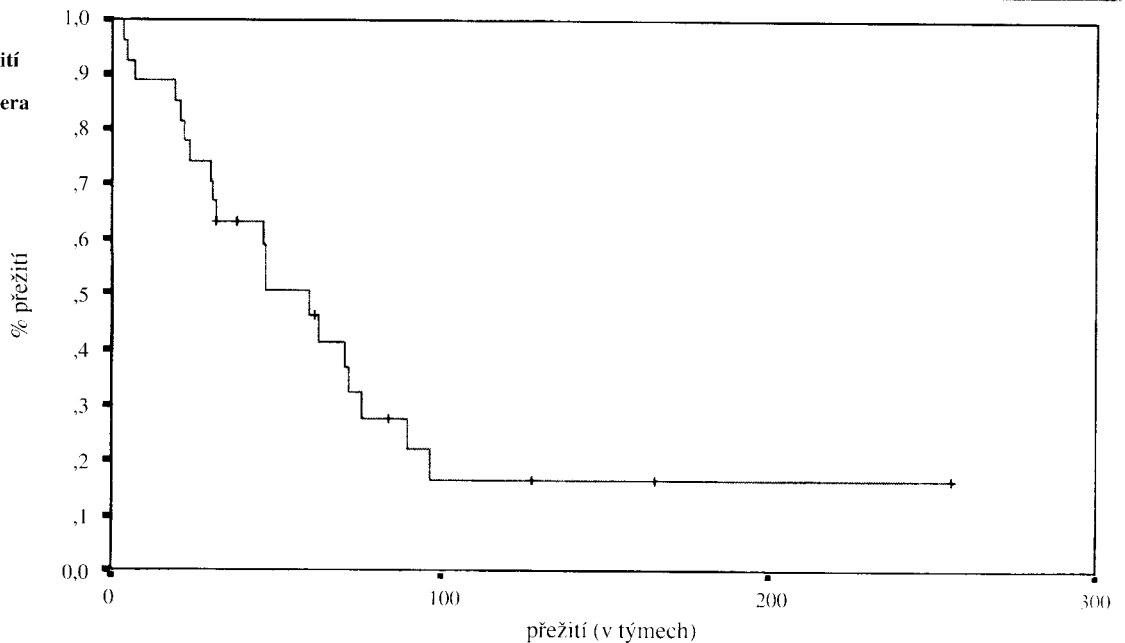
Na léčebnou odpověď bylo v dubnu 2001 hodnotitelných 27 pacientů. Dvě (8%) pacientky dosáhly kompletní odpovědi (CR), 9 (33%) pacientek parciální odpovědi (PR) s celkovým procentem léčebných odpovědí (RR) 41%. Stabilizace (SD), která byla definována jako regrese menší než o 50% nebo progresse menší než o 25% výchozího stavu během alespoň 12 týdnů, byla zaznamenána u 10 pacientek. Progrese při dané léčbě byla pozorována u 6 pacientů. U pacientek, kde bylo docíleno CR se jednalo v jednom případě o izolované postižení měkkých tkání a v druhém případě o izolované postiže-

Tabulka 1. Charakteristika souboru pacientů

Charakteristika souboru	Pacienti	
	Počet	%
Celkem	27	
Pohlaví		
Muži	1	3,7
Ženy	26	96,3
Věk		
Medián	47	
Rozpětí	33-71	
< 50 let	15	56
> 50 let	12	44
ECOG performance status		
0	10	37
1	9	33
2	8	30
Receptory		
ER +	9	33
ER -	12	45
Neznámé	6	22
HER2/neu		
Pozitivní	5	19
Negativní	9	33
Neznámý	13	48
Počet a charakter postižených systémů		
1	8	29
2	12	44
3 a více	7	27
játra	4	15
plíce	13	48
skelet	14	52
měkké tkáně	23	85
Předchozí chemoterapie		
1 řada	8	30
2 řady	8	30
3 řady	3	10
4 a více	8	30
Předlечení antracykliny	4	15
Předlечení antracykliny a taxány	23	85
Předchozí hormonoterapie		
1 řada	5	19
2 řady	8	30
3 řady	4	15

ní plíc. Při hodnocení odpovědi dle počtu postižených orgánových systémů bylo u 8 hodnotitelných pacientek s postižením jednoho systému dosaženo 4 (50%) léčebných odpovědí včetně 2 CR. U 12 pacientů s postižením 2 systémů bylo dosaženo 4 (33%) léčebných odpovědí a u 7 pacientů se 3 a více postiženými systémy 2 (29%) odpovědi. Mezi 9 pacienty s pozitivními hormonálními receptory byly zjištěny 3 (33%) léčebné odpovědi včetně jedné CR. U 12 pacientek s negativitou hormonálních receptorů bylo zaznamenáno 5 (42%) odpovědi včetně jedné CR. Tři (50%) léčebné odpovědi byly zjištěny u 6 pacientek s neznámými hormonálními receptory. Čtrnáct hodnotitelných pacientek, které byly léčeny především v posledních 2 letech, bylo vyšetřeno na zvýšenou expresi HER2/neu onkogenu. Pět (36%) z nich bylo HER2/neu pozitivních (DAKO). Mezi těmito pacientkami byly popsány 2 (40%) léčebné odpovědi. U 9 HER2/neu negativních pacientů jsme zjistili 4 (44%) léčebné odpovědi včetně jedné CR. V poslední analýze týkající se účinnosti podávané kombinace byla hodnocena efektivita ve dvou skupinách stratifikovaných podle věku. U 15 pacientů mladších 50 let jsme zaznamenali 7 (47%) léčebných odpovědí včetně dvou CR. U 12 pacientů starších 50 let byly pozorovány 4 (33%) léčebné odpovědi. Medián času do progresu byl 22 týdnů (rozpětí 4 - 117 týdnů) se 5 (19%) pacienty bez známek progresu po 12 měsících od zahájení léčby. Medián celkového přežití byl 47 týdnů (4-256) s 12 pacienty (44%) žijícími déle než 1 rok a 3 pacienty (11%) žijícími déle než 2 roky od zahájení léčby. Medián doby do progresu u pacientů s prokázanou léčebnou

**Graf 1:**  
Křivka přežití  
podle  
Kaplan-Meiera  
(32)



odpovědi byl 34 týdnů (rozpětí 18 – 117 týdnů) a u pacientů bez odpovědi 16 týdnů (rozpětí 4 – 62 týdnů). Medián celkového přežití u pacientů s prokázanou léčebnou odpovědí byl 60 týdnů (rozpětí 21 – 256 týdnů) a u pacientů bez odpovědi 42 týdnů (4 – 166 týdnů).

Toxicita léčby je shrnuta v tabulce 2. Celkem bylo podáno 106 cyklů. V souvislosti s léčbou nebylo zaznamenáno žádné úmrtí. Medián počtu podaných cyklů jednomu pacientovi byl 3 (rozpětí 1 – 11 cyklů). Deseti pacientům byla redukována dávka. Jediná dávku limitující toxicita byla hematotoxicita. Ve sledovaném souboru jsme během 106 cyklů zaznamenali 15 (14%) epizod febrilní neutropenie, z nichž bylo 9 (14%) během 66 cyklů u pacientů mladších 50 let a 6 (15%) epizod během 40 cyklů podaných pacientům starším 50 let. Všichni pacienti byli úspěšně léčeni širokospektrými antibiotiky. Neutropenie stupně 4 byla pozorována ve 29 (27%) cyklech, stupně 3 v 10 (10%) cyklech. Pokud stratifikujeme všechny epizody neutropenie stupně 3 a 4 podle věku, pak u pacientů do 50 let jsme zaznamenali 25 (38%) v 66 cyklech a u pacientů starších 50 let 14 (35%) v 40 cyklech. Anémie stupně 4 byla zjištěna v 8 (8%) cyklech a stupně 3 v 17 (16%) cyklech. Ve skupině mladší 50 let bylo 18 (27%) epizod anémie stupně 3 a 4, ve skupině starší 50 let 7 (17%) takových epizod. Trombocyto-

penie stupně 4 byla pozorována ve 14 (13%) cyklech a stupně 3 v 19 (18%) cyklech. Ve skupině mladší 50 let jsme pozorovali 18 (27%) epizod trombocytopenie stupně 3 a 4, ve skupině starší 50 let 15 (37%) těchto epizod. Rekombinantní hematopoetické růstové faktory byly podány 12 (44%) pacientům, a to buď při léčbě febrilní či protražované neutropenie, nebo profylakticky po epizodách febrilní nebo protražované neutropenie, pokud byla zachována dávková intenzita. Nehematologická toxicita se vyskytla pouze ojediněle. Mezi závažné lze řadit především 2 (2%) epizody průjmu stupně 2. Dále se vyskytla mukozitida ve 3 (3%) cyklech, nevolnost ve 4 (4%), zvracení ve 3 (3%) a renální insuficience v 1 (1%) cyklu. Ve všech případech se jednalo o stupeň 2. Reversibilní alopecie se objevila u všech pacientů.

## Diskuse

Možnosti chemoterapie metastazujícího karcinomu prsu se neustále rozšiřují. Od 70. let, kdy byla používána především kombinace CMF (cyclofosfamid, metotrexát, 5-fluorouracil), přes 80. léta, kdy byly do léčebných schémat zařazeny antracyklíny a vysokodávkovaná chemoterapie, přineslo poslední desetiletí další nová cytostatika s vysokou účinností jako jsou taxány, gemcitabin, kapecitabin nebo vinorelbin. Na sklonku století se objevily i jiné modalitě léčby, jako je bioterapie pomocí monoklonálních protilátek (trastuzumab). Za neúčinnější cytostatika, na základě výsledků klinických studií fáze III, jsou dnes považovány antracyklíny (doxorubicin), taxány (paklitaxel, docetaxel) nebo jejich kombinace. U ostatních nových výše zmíněných cytostatik se jedná o zkušenosti získané převážně na bázi studií fáze II.

Především docetaxel byl široce testován v kontrolovaných randomizovaných studiích v monoterapii i kombinacích. Ve studii TAX 303 (9) byl porovnáván docetaxel s doxorubicinem v I. linii léčby metastazujícího onemocnění. V rámci s docetaxelem bylo dosaženo signifikantně vyššího procenta odpovědi, delší doby do progresu při přibližně srovnatelném přežití. Podobné výsledky přinesly studie porovnávající docetaxel/doxorubicin s kombinací doxorubicin/cyclofosfamid (10) nebo kombinací TAC (docetaxel, doxorubicin, cyclofosfamid) s režimem FAC (5-fluorouracil, doxorubicin, cyclofosfamid) (34). Klinické studie s paklitaxelem již tak přesvědčivé výsledky nepřinesly. Kromě polské studie srovnávající ATax (doxorubicin/paklitaxel) s FAC (33), neby-

**Tabulka 2: Toxicita léčby**

Toxicita	stupně toxicity dle CTC NCI					
	2		3		4	
	Počet cyklů	%	Počet cyklů	%	Počet cyklů	%
Celkem	106 cyklů					
Neutropenie	4	4	10	9	29	27
Leukopenie	8	8	18	17	23	22
Anémie	25	24	17	16	8	8
Trombocytopenie	4	4	19	19	14	13
Febrilní neutropenie	14					
Infekce	21					
Mucositida	3	3				
Nevolnost	4	4				
Zvracení	3	3				
Průjem	2	2	2	2		
Renální insuficience	1	1				

la prokázána výhodnost podání paklitaxelu s antracyklíny oproti kombinacím AC nebo EC (doxorubicin nebo epirubicin s cyclofosfamidem) (35,36). Na základě těchto údajů by tedy v I. linii měli být indikovány kombinace s antracyklíny a/nebo taxány, s výjimkou kontrolovaných klinických studií. Po selhání těchto režimů již není situace tak jednoznačná. V těchto indikacích bylo testováno několik cytostatik či jejich kombinací.

Vinorelbin byl u předlčených pacientů zkoumán v několika studiích fáze II, kde bylo dosaženo celkového procenta odpovědí mezi 15-25% (37-39). U HER2/neu pozitivních pacientů v kombinaci s Herceptinem byl dosaženo procenta odpovědí okolo 70%! Gemcitabin v monoterapii u pacientů předlčených antracyklíny dosahoval objektivní odpovědi v 29-46% (23, 24). Nejnovějšímu cytostatiku, perorálnímu kapecitabinu, byla udělena registrace FDA (Food and Drug Administration, USA) na základě několika studií fáze II, kde bylo u pacientek po selhání antracyklínů nebo taxánů a antracyklínů dosaženo objektivní odpovědi u 36% a 20% pacientů (20, 22).

První zkušenosti s kombinací ifosfamidů, karboplatiny a etoposidu (ICE) byly publikovány v roce 1994. Tehdy bylo ICE zkoušeno u různých malignit (karcinom prsu, NHL, melanom, maligní lymfogranulom atd.). U 93 pacientek s refrakterním metastazujícím karcinomem prsu bylo dosaženo 20% celkových odpovědí. Hlavní dávku limitující toxicita byla myelosuprese (30). ICE bylo dále zkoumáno v různých dávkových intenzitách i jako součást submyeloablačních režimů. Ve studii, která byla publikována v roce 1995, byla zkoumána závislost účinnosti na dávkové intenzitě u karcinomu prsu refrakterního na antracyklíny. U pacientů léčených vysokodávkovaným ICE s následnou podporou hematopoetických kmenových buněk nebyla zjištěna tendence k lepším výsledkům léčby oproti skupině léčené „nízkodávkovaným“ ICE (miniICE) (31). V roce 1997 byla na výročním zasedání ASCO zveřejněna studie fáze II, kde byla použita kombinace miniICE u předlčených pacientek s karcinomem prsu s poměrně rozsáhlým postižením (29). Z 23 pacientek bylo

21 hodnotitelných, kde u 9 byla zjištěna progresse, u 2 stabilizace a u 10 (50%) parciální odpověď. Medián trvání odpovědi byl 4,5 měsíce s mediánem přežití okolo 10 měsíců. Poměrně závažným problémem byla hematologická toxicita, která dosáhla stupně 4 u 47% pacientek. Oproti našim výsledkům byla poměrně běžná i gastrointestinální toxicita (17%). Výsledky této studie byly aktualizovány v roce 1999 (28). Nedávno byla též prezentována italská studie, ve které bylo ICE zkoušeno ve své vysokodávkované formě v adjuvantním podání (40). Zde se vycházelo z předpokladu, že ICE není zkríženě rezistentní s antracyklíny a bylo indikováno u pacientek, kde nebylo dosaženo patologické kompletní odpovědi na neoadjuvantní léčbu. Výsledky je zatím vzhledem ke krátké době sledování předčasné hodnotit, ale na stejném pracovišti je již plánována studie fáze III, která porovná vysokodávkované ICE s konvenční adjuvantní chemoterapií.

## Závěr

Výsledky studie prokazují, že režim miniICE je efektivní u pacientů s metastazujícím karcinomem prsu po selhání antracyklínů a/nebo taxánů. Účinnost podávané kombinace klesala s větším rozsahem onemocnění. Více odpovědí bylo zaznamenáno u pacientek s negativitou HER2/neu onkogenu a negativitou hormonálních receptorů, ale výsledky nebyly statisticky signifikantní.

Lepší efektivita byla pozorována ve skupině pacientek mladších 50 let, kterým se též podařilo podat více cyklů chemoterapie. Z toxicity byla nejzávažnější myelosuprese, která byla zvládnutelná za pomoci rekombinantních hemopoetických růstových faktorů a jiné podpůrné léčby. Nepozorovali jsme žádné toxické úmrtí.

Tato kombinace je při vysoké účinnosti, ale vyšší toxicitě, volbou především pro mladší pacientky v dobrém stavu výkonosti.

*Poděkování: Podpořeno Výzkumným záměrem Ministerstva školství České republiky, CEZ.J13/98/111/00004.*

## Literatura

1. Bishop JF, Dewar J, Toner G, et al. Initial paclitaxel improves outcome compared with CMFP combination chemotherapy as front-line therapy in untreated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 1999;17:2355-2364.
2. Stockler M, Wilcken NR, Ghersi D, Simes RJ. Systematic reviews of chemotherapy and endocrine therapy in metastatic breast cancer. *Cancer Treat Rev*. 2000;26:151-168.
3. Sledge GW Jr. Role of paclitaxel in the treatment of breast cancer: the American Cooperative Group Experience. *Semin Oncol*. 1996;23(Suppl 1):10-12.
4. Gianni L, Munzone E, Capri G, et al. Paclitaxel by 3-hour infusion in combination with bolus doxorubicin in women with untreated metastatic breast cancer: high antitumor efficacy and cardiac effects in a dose-finding and sequence-finding study. *J Clin Oncol*. 1995;13:2688-2699.
5. Sparano JA. Compilation of phase I and II trial data of docetaxel and doxorubicin in the treatment of advanced breast cancer and other malignancies. *Semin Oncol*. 1998;25(Suppl 13):10-15.
6. Amadori D, Frassinetti GL, Zoli W, et al. A phase I/II study of sequential doxorubicin and paclitaxel in the treatment of advanced breast cancer. *Semin Oncol*. 1996;23(Suppl 11):16-22.
7. Luck HJ, Thomssen C, du Bois A, et al. Phase II study of paclitaxel and epirubicin as first-line therapy in patients with metastatic breast cancer. *Semin Oncol*. 1997;24(Suppl 17):S17-35-S17-39.
8. Crown J. Docetaxel monotherapy. Program and abstracts of the 2nd International Breast Cancer International Research Group (BCIRG) Conference, June 26-28, 2000; Toronto, Ontario, Canada.
9. Chan S, Friedrichs K, Noel D, et al. Prospective randomized trial of docetaxel versus doxorubicin in patients with metastatic breast cancer. The 303 Study Group. *J Clin Oncol*. 1999;17:2341-2354.
10. Nabholz JM, Falkson G, Campos D, et al. A phase III trial comparing doxorubicin (A) and docetaxel (T) (AT) to doxorubicin and cyclophosphamide (AC) as first-line chemotherapy for MBC. *Proc Amer Soc Clin Oncol*. 1999;18:485.
11. Holmes FA, Walters R, Thierault RL, et al. Phase II trial of paclitaxel, an active agent in the treatment of metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1991;83:1797-1805.
12. Trudeau ME, Eisenhauer EA, Higgins PB, et al. Docetaxel in patients with metastatic breast cancer: A phase II study of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol*. 1996;14:422-482.
13. Sledge GW, Neuberg D, Ingle J, et al. Phase III trial of doxorubicin (A) vs paclitaxel (T) vs doxorubicin + paclitaxel (A + T) as first-line therapy for metastatic breast cancer (MBC): An Intergroup trial. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 1997;16:1a.
14. Paridaens R, Bruening P, Klijn JCM, et al. Paclitaxel (T) versus doxorubicin (D) as first-line chemotherapy (CT) in advanced breast cancer (ABC): an EORTC randomized study with crossover. *Eur J Cancer*. 1997;33:145.
15. Paridaens R, Biganzoli L, Bruening P, et al. Paclitaxel versus doxorubicin as first-line single-agent chemotherapy for metastatic breast cancer: a European Organization for Research and Treatment of Cancer randomized study with cross-over. *J Clin Oncol*. 2000;18:724-733.
16. Seidman AD. Single-agent paclitaxel in the treatment of breast cancer: phase I and II development. *Semin Oncol*. 1999;26(Suppl 8):14-20.
17. Shak S. Overview of the trastuzumab (Herceptin) anti-HER2 monoclonal antibody clinical program in HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Herceptin Multinational Investigator Study Group*. *Semin Oncol*. 1999;26(Suppl 12):71-77.
18. Slamon D, Leyland-Jones B, Shak S. Addition of Herceptin® (humanized anti-HER2 antibody) to first line chemotherapy for HER2 overexpressing metastatic breast cancer (HER2+/MBC) markedly increases anticancer activity: a randomized, multinational, controlled phase III trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; 17:98A.
19. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 1999; 17:2639-48.
20. Blum JL, Jones SE, Buzdar AU. Multicentre phase II study of capecitabine in paclitaxel-refractory metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 1999; 17(2):485-493.
21. O'Shaughnessy J, Moiseyenko V, Bell D. A randomized phase II study of Xeloda® (capecitabine) vs CMF as first line chemotherapy of breast cancer in women aged 55 years. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 1998; 17: 398.

22. O'Reilly SM, Moiseyenko V, Talbot DC. A Randomized phase II study of Xeloda® vs paclitaxel in breast cancer patients failing previous anthracycline therapy. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 1998;17:627.
23. Blackstein M. A phase II study of gemcitabine in patients with metastatic breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 1996; #135.
24. Spielmann M. Activity of gemcitabine in metastatic breast cancer patients previously treated with anthracycline-containing regimens. *Ann Oncol* 1996; Vol. 7, Suppl. 5; abstract 99P.
25. Terenziani M, Demicheli R, Brambilla C. Vinorelbine: an active, non cross-resistant drug in advanced breast cancer. Results from a phase II study. *Breast Cancer Res Treat* 1996; 39(3): 285-91.
26. Gasparini G, Caffo O, Barni S. Vinorelbine is an active antiproliferative agent in pretreated advanced breast cancer patients: a phase II study. *J Clin Oncol* 1994 Oct; 12(10):2094-101.
27. Nistico C, Garufi C, Milella M. Weekly schedule of vinorelbine in pretreated breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2000 Feb; 59(3):223-9.
28. Chang AY, Hui L, Asbury R. Ifosfamide, carboplatin and etoposid (ICE) in metastatic and refractory breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999; 44 Suppl: S 26-8
29. Hui LF, Asbury RF, Boros L. Phase II trial of ifosfamide, carboplatin and etoposid (ICE) in metastatic and refractory breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1997; #607.
30. Fields KK, Zorsky PE, Hiemenz JW. Ifosfamide, carboplatin and etoposid: a new regimen with broad spectrum of activity. *J Clin Oncol* 1994, Mar; 12(3):544-52.
31. Perkins JB, Fields KK, Elfenbein GJ. Ifosfamide/carboplatin/etoposide chemotherapy for metastatic breast cancer with or without autologous hematopoietic stem cell transplantation: evaluation of dose-response relationships. *Semin Oncol* 1995 Jun;22(3 Suppl 7):5-8
32. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457-81.
33. Pluzanska A, Pienkowski T, Jelic SI. Phase III multicenter trial comparing Taxol® Doxorubicin (AT vs. 5-Fluorouracil/doxorubicin and cyclophosphamide (FAC) as a first line treatment for patients with metastatic breast cancer. Program and abstracts of the 22nd Annual San Antonio Breast Cancer Symposium; December 8-11, 1999; San Antonio, Texas. Abstract 21
34. Nabholz JM. Docetaxel polychemotherapy. Program and abstracts of the 2nd International Breast Cancer International Research Group (BCIRG) Conference. June 26-28, 2000; Toronto, Ontario, Canada.
35. Luck HJ, Thomssen C, Untch M. Multicentric Phase III Study in First Line Treatment of Advanced Metastatic Breast Cancer. Epirubicin/Paclitaxel Vs Epirubicin/Cyclophosphamide. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; #280.
36. Biganzoli L, Cufer T, Bruning P. Doxorubicin/Taxol Versus Doxorubicin/Cyclophosphamide as First Line Chemotherapy in Metastatic Breast Cancer: A Phase III Study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; #280.
37. Jones S, Winer E, Vogel C. Randomized comparison of vinorelbine and melphalan in anthracycline-refractory advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1995 Oct; 13(10):2567-74.
38. Degardin M, Bonnetterre, Hecquet B. Vinorelbine (navelbine) as salvage treatment for advanced breast cancer. *Ann Oncol* 1994 May; 5(5): 423-6.
39. Livingston RB, Ellis GK, Gralow JR. Dose-intensive vinorelbine with concurrent granulocyte colony-stimulating factor support in paclitaxel-refractory metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1997 Apr; 15(4):1395-400.
40. Cocorocchio E, Cinieri S, Ferrucci PF. Non-Cross Resistant Regimen Using High-Dose (HD) Ifosfamide, Carboplatin and Etoposide (ICE) in Adjuvant Setting for Anthracycline Resistant Patients with High-Risk Breast Cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999; #498.

---

## informace

---

### KOMPLEXNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM PRAHA 1. LF UK

si Vás dovoluje co nejsrdečněji pozvat na **VII. Staškův den**, který se koná dne 26. března 2002 v budově společnosti PriceWaterHouse Coopers, Kateřinská 40, Praha 2 od 9 00 hodin.

#### Téma: KARCINOM PRSU

- I. Současné indikace radioterapie v komplexní léčbě karcinomu prsu
  - Radioterapie po konzervativním výkonu.
  - Úloha brachyterapie.
- II. Kombinovaná pooperační léčba:
  - Sekvence modalit, techniky, režimy.
- III. Minisymposium: Biologická léčba karcinomu prsu
- IV. Dědičně podmíněná nádorová onemocnění prsu
  - Konsensus léčebně preventivní péče.

Kongresový poplatek 100 Kč bude vybírán na místě.

Přihlášky k aktivní i pasivní účasti zasílejte nejpozději do 31.12.2001 emailem na adresu onkologieS@seznam.cz nebo poštou na adresu: As. MUDr. Olga Příbylová, Onkologická klinika VFN a 1. LF UK, U nemocnice 2, Praha 2, 128 08. V případě zájmu o aktivní účast, zasílejte prosím abstrakta s výše uvedenou tematikou.

-----  
Odpovědní útržek:

Mám zájem o aktivní – pasivní účast na VII. Staškově dni.  
V případě aktivní účasti mám zájem o sdělení formou přednášky – posteru.

Autoři: .....

Pracoviště: .....

Název práce: .....

## CO MÁ SPOLEČNÉHO PROTINÁDOROVÁ A PROTIBAKTERIÁLNÍ CHEMOTERAPIE?

### WHAT DO THE ANTITUMORAL AND ANTIBACTERIAL CHEMOTHERAPIES HAVE IN COMMON?

MECHL Z., VORLÍČEK J.

ODD RADIČNÍ ONKOLOGIE FN U SV. ANNY, BRNO  
INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FN BRNO, PRACOVÍŠTĚ BOHUNICE  
UNIVERZITNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM

**Souhrn:** V roce 1912 zařadil Paul Ehrlich nádorové onemocnění do účinného spektra chemoterapie. V dalším vývoji bylo zjištěno, že je mnohem těžší odlišit chemicky normální buňku od nádorové, než selektivně z organismu odstranit určité mikroorganismy. Dnes jsou považovány protinádorová a antibakteriální chemoterapie za dvě rozdílné entity. Vznikly ale obě ze stejných principů a dodnes nacházíme řadu situací vzájemného ovlivnění, například při výzkumu rezistence nebo objevech nových antibiotik s protinádorovým účinkem.

**Klíčová slova:** protinádorová chemoterapie, protibakteriální chemoterapie, vývoj chemoterapie

**Summary:** In 1912 Paul Ehrlich included malignant diseases in the spectrum of effectivity for chemotherapy as well. But it has been found during the following development, that to differentiate normal cells from tumor ones, is chemically much more uneasy, comparing to the selective elimination of a microorganism from the body. Today, we understand antitumor and antibacterial chemotherapy as two different entities. But both originated from the same principles and even nowadays we are detecting situations of common influence, as in the reasearch of resistance, or discoveries of new antibiotics with antitumor activity.

**Key words:** antitumor chemotherapy, antibacterial chemotherapy, development of chemotherapy

Chemoterapii chápeme v současné době jako léčebnou disciplinu používající k léčbě infekčních onemocnění nebo maligních nádorů antibiotika nebo cytostatika. Ve svých počátcích byla ovšem chemoterapie koncipována, dle tehdejších teoretických a metodologických znalostí, poněkud jinak. Dle oblasť použití dnes hovoříme o chemoterapii antibakteriální, antimykotické, protinádorové a antivirové. Je dobré stále si uvědomovat, že chemoterapie protinádorová vyšla z principů chemoterapie antibakteriální, a mnohdy i dnes se k nim vrací, například při řešení problému buněčné rezistence.

Vzájemný vztah lze dobře ozřejmit sledováním vývoje chemoterapie. PAUL EHRLICH byl první, kdo použil termín chemoterapie k označení metody eliminace příčiny chorob pomocí systémově podaného léku (1).

EHRLICH považoval za příčinu některých onemocnění parazity, bakterie, houby, viry ale i nádorové buňky. Specifické postavení nádorových buněk předpokládal v jejich charakteristice. Na rozdíl od bakterií a parazitů neinfiltroují do organismu zvenku, také nejsou životními formami, klasifikovatelnými ve smyslu botanickém nebo zoologickém. PAUL EHRLICH nazýval nádorové buňky „nepřátelští bratři“ (feindliche Bruder). Podobně jako původci infekcí se nádorové buňky vymkly regulaci makroorganismu, žijí na jeho účet a nakonec ho zničí. Pro tyto paralely zastával EHRLICH názor, že principy chemoterapie mohou být použitelné nejen pro léčbu infekcí, ale i pro léčbu protinádorovou.

Jen málo autorů se zabývalo sledováním vývoje chemoterapie. Asi nejzasvěcenější analýzu najdeme v publikacích GREENSPAN (2), DREWSE (3) a ISSEKUTZE (4).

Historie začíná v dávných dobách, kdy na základě empirie,

náhody nebo instinktu vznikaly prvé znalosti o použití extraktů z určitých rostlin k léčbě některých infekčních onemocnění nebo infikovaných ran. Zprávy ze staré Číny doporučují použití některých plísni k léčbě povrchových infikovaných ran. Velmi často citovaná je znalost léčby malarie extraktem z kury chinovníku peruánských Indiánů nebo použití kořenu z ipeky k léčbě amébové dyzenterie. Rostlinné extrakty byly dobře známy a používány ve starém Egyptě k léčbě povrchových infekcí a nádorů, jak je dokumentováno v Ebersově papyru.

Základy moderní antimikrobiální chemoterapie byly položeny mnohem později. Někteří autoři uvádějí PARACELSA jako jednoho z prvních, který formuloval názor o systémovém léčení některých chorob, (from inward outward). Názor fyziologa Ferdinanda COHNA, že infekční choroby jsou způsobovány některými druhy bakterií, potvrdil Robert KOCH a publikoval je v pracích „O etiologii antraxu“ (1876) a „O etiologii infekcí z ran“ (1878). Tyto a další práce KOCHA a jeho spolupracovníků o etiologii a epidemiologii bakteriálních a parazitárních infekcí byly základem moderní bakteriologie a nauky o infekčních chorobách (5).

Jiným významným milníkem pro vznik a formulaci chemoterapie byla práce EHRLICHA z r. 1873. Na základě HEUBELOVY práce o otravě olovem studoval EHRLICH problem specifčnosti distribuce cizích látek v organismu. HEUBEL zjistil, že obsah olova v různých tkáních otrávených osob se výrazně liší. Ježto na konci 19. století nebyly k dispozici účinné analytické metody k průkazu farmak v jednotlivých orgánech, napadlo ho, zda by nebylo účelné použít k těmto studiím barvíva, jejichž distribuce v organismu jsou přístupné mikroskopickému pozorování. Barvení některých tkání bylo



Paul Ehrlich



Robert Koch



Larry Norton

již z mikroskopické anatomie známo. Rozšíření barviv v organismu živého tvora, tak zvané vitální barvení, se stalo dalším předpokladem pro rozvoj chemoterapie.

V roce 1880 EHRLICH vyjádřil domněnku, že metylenová modř by mohla být dobrým barvivem ke zázornění bakterií a plasmodií. Leopold LANDAU mu poté navrhl použít toto barvivo k vnitřní antisepsi. Společně s GUTTMANEM EHRLICH zkusil účinnost metylenové modři u dvou případů endemické malarie, s určitým, byť velmi krátkým pozitivním účinkem. V roce 1891 oba autoři publikovali výsledky studie, ve které prokazovali principiální možnost kauzální léčby infekčních onemocnění chemickými přípravky.

Klinické využití těchto poznatků mohlo být založeno až na výsledcích laboratorních a klinických pokusech účinných látek. LAVERAN a MESNIL referovali v roce 1902 o možnostech léčení experimentální infekce trypanosomami u myši sloučeninou arsenu, s pozitivními, ale krátkodobými výsledky (6). SHIGA a EHRLICH experimentovali s barvivem z řady benzopurinů, především s trypanovou červení. Pokud byla léčba zahájena včas, dosáhli vyléčení u experimentálně vyvolané infekce „mal de calderas“ u morčat. U jiných trypanosomových kmenů, např. trypanosoma brucei a trypanosoma gambiense ale léčba selhala.

Následovaly pokusy s benzidinovými barvivem a basicými trifenyldiaminy, z kterých se ukázal být účinný zvláště paraformaldehyd. Z organických arsenových sloučenin se ukázala zajímavá kyselina arsanilová, zvaná atoxyl. Studie prováděné EHRLICHEM a jeho žáky SHIGOU, FRANKEM, ROHLEM a BROWNINGEM měly zásadní význam pro další vývoj chemoterapie. V jejich pracích byla věnována pozornost řadě nových faktorů, jako je význam velikosti dávky studované látky, zpětná vazba mezi chemickými a biologickými aktivitami a rezistence na danou látku. Významným krokem bylo použití standardních zvířecích modelů.

V průběhu těchto studií s trypanosomami byly zjištěny kmeny odolné na zkoušenou látku, tj. trypanovou červení a jiné organické sloučeniny arsenu. Nerozřešená zůstala otázka, zda rezistence vzniká spontánně nebo byla indukována podáním léku. Rezistence na určitou substanci byla vždy spojena s rezistencí na jiné látky stejné chemické řady. Problém rezistence byl vysvětlen až mnohem později v pracích DELBRÜCKA, LURIE a LEDERBERGERA s bakteriofágem, ve smyslu mutační a selekční teorie (7)

BÉCHHOLD a EHRLICH v pokusech s halogenovanými fenoly zjistili jejich silný dezinfekční účinek. Kresol a fenol zabíjely původce difterie a E. coli i ve velkém zředění a mohly být aplikovány pokusným zvířatům i ve vysokých dávkách. K léčebnému efektu to ale nestačilo. Aby ho bylo dosaženo,

muselo mít dezinficiens větší afinitu k bakterii než k ostatním tělesným tkáním (3).

Tohoto cíle bylo ale brzy dosaženo. V roce 1906 BERTHEIM a EHRLICH identifikovali atoxyl, známý již od roku 1902, jako p-aminofenyldiarsenovou kyselinu. Tato látka s vysokou reaktivitou byla výchozí substancí k celé řadě sloučenin, z nichž nejvýznamnější byla ta, označená číslem 606, dioxyamino-arsenobenzen, známý později pod jménem salvarsan (8). Následovala řada experimentů, v kterých zvláště SAHACHIRO HATA, Ehrlichův spolupracovník a žák, prokázal výrazný účinek této látky u různých forem experimentálních trypanosomias, infekcí způsobených borelia recurrentis, experimentální spirillose kuřat a dalších. Zvláště příznivý byl vztah kurativní a toxické dávky, který umožnil podání vysokých dávek a tím dosažení výrazného léčebného účinku u těchto experimentálních infekcí (9).

Následující použití Salvarsanu v léčbě lues a návratné horečky bylo skutečným počátkem éry chemoterapie. Poprvé v historii medicíny se objevila možnost úspěšně léčit nebezpečnou infekční chorobu chemicky definovanou látkou. A skutečně dalších 30 let zůstal Salvarsan lékem volby při léčbě lues, než byl nahrazen penicilínem a zatlačen do zapomnění.

I dnes, v době antibiotik, antivirové a antimykotické chemoterapie a účinné protinádorové chemoterapie, je experimentální i klinická praxe v této disciplíně založena na Ehrlichových teoriích, které se staly solidním základem pro další vývoj současné chemoterapie. EHRLICH byl přesvědčen, že účinné látky mohou ovlivnit pouze takové struktury, s kterými mohou vstoupit do chemické reakce. To je podstatou jeho slavného výroku Corpora non agunt nisi fixata (substance nejsou účinné, pokud nejsou vázány). Selektivita této fixace byla nazvána tropie. Chemické substance, které se vázaly na parazity, byly nazvány parazitotropní, když vazba na parazita byla prvním předpokladem účinnosti. Vazba je sice předpokladem pro účinnost, ale ne pro intenzitu účinku. Dalším stupněm je organotropie, tedy vztah k hostiteli. Od účinné látky se očekává vysoká parazitotropie, ale malá organotropie. Parazitotropie musí být dostatečně vysoká, aby vedla k poškození nebo zničení parazita, aniž by ale poškodila hostitele.

Další významnou postavou podílející se na vývoji chemoterapie byl GERHARD DOMAGK. V roce 1935 publikoval práci, kde prezentoval výsledky svých experimentů s diaminobenzen sulfonamidem, nazvaným později Prontosil (10). Tato substance byla syntetizována MIETZSCHEM a KLAREREM v roce 1932, je strukturálně blízká sulfonamidu chrysoidinu, známému již od roku 1877 jako barvivo používané v mikrobiologii. V roce 1913 zjistil EISENBERG, že chrysoidin

v ředění 1 : 1.000 blokuje růst gram negativních bakterií a v ředění 1 : 10.000 i bakterií gram pozitivních .

Bylo ale překvapením, že tato účinnost in vitro neodpovídala účinnosti in vivo. Při pokusech s Prontosilem byla zjištěna zcela chybějící antibakteriální účinnost in vitro, ale výrazná účinnost proti experimentálním streptokokovým infekcím u myši. DOMAGK prokázal, že při použití této relativně netoxické substance bylo možno i při nízkých dávkách dosáhnout kompletní eliminace bakteriální infekce. Prvé práce o použití Prontosilu u člověka prokázaly pozitivní účinek v léčbě streptokokové anginy, erysipelu a sepsis lenta. COOLEBROOK a KENNY uveřejnili v roce 1936 práce, dokazující účinnost Prontosilu u horečky omladnic. Použití Prontosilu v této indikaci mělo v Anglii za následek výrazný pokles úmrtnosti na toto onemocnění (11). Zůstávalo ale velkou otázkou, proč Prontosil neprokázal žádnou účinnost in vitro. TRÉFOUËL a spol. publikoval v roce 1935 názor, že v organismu se z Prontosilu oddělí sulfanilamid a tato složka, která byla jinak již známá od roku 1908, je vlastní aktivní částí této látky (12). Krátce nato FULLER prokázal, že Prontosil je v lidském organismu skutečně takto metabolizován (13) DOMAGK se na tyto práce díval nejprve s určitou skepsí. Prontosil vznikl na základě známého barviva, jehož afinita k bakteriálním strukturám a antibakteriální účinek in vitro byl již dlouho znám. A použití barviva k antibakteriální chemoterapii – to je přece starý náhled Paula EHRLICHA! Ovšem této koncepci neodpovídalo, že barvivo chrysoidin nemělo žádný význam pro antibakteriální účinek. Syntéza sulfanilamidu byla popsána již v roce 1908 a tato látka nebyla patentově chráněna. Není se co divit, že po rozšíření informací o antibakteriální účinnosti se tato substance stala základem pro hledání nových sulfonamidů a v krátké době bylo v prodeji již více jak 70 přípravků, když řada z nich byla charakterizována lepší snášenlivostí, vyšší antibakteriální aktivitou, lepší rozpustností a pomalejším vylučováním. Až do počátku padesátých let sulfonamidy hrály rozhodující roli v léčbě řady infekčních chorob. Penicilin a další antibiotika je však vytlačily z léčebného arzenálu. Nebyly však zcela odsunuty stranou. Zvláště v posledních letech byly opět syntetizovány nové sulfanilamidové deriváty. Jejich cena opět stoupla při zjištění výskytu mnohočetné rezistence na některá antibiotika. Významný je i jejich synergismus s jinými inhibitory kyseliny listové. Již koncem 19. století bylo známo, že některé mikroorganismy mohou potlačit růst jiných bakterií. PASTEUR a JOUBERT zjistili v roce 1877, že kultury B. anthracis nerostou v přítomnosti obyčejných bakterií (14). Podobně bylo pozorováno potlačení růstu Salmonella typhimurium nebo Stafylokokus pyogenes bakterií, která byla nazývána Mikrokokus antrakotoxicus. Pyocyanasa, extrakt z Pseudomonas pyocyaneus byl schopen provést lýzu celé řady bakterií, jako je B. anthracis, Corynebakterium, Pasteurella pestis, Salmonella typhimurium a další. EMMERICH a LOW použili tento extrakt k místní antisepsi. V krátké době byla zveřejněna celá řada prací, dokladujících účinek pyocyanasy. ESCHERICH ji použil k léčbě konjunktivity, abscesů a Plaut-Vincentovy anginy. RAPPIN prokázal tlumící účinek kultur B. subtilis, B. mesentericus a B. megaterium na tuberkulózního bacila. GRATIA popsal tlumící účinek jednoho kmene E. coli na jiný kmen. LIESKE upozornil na bakteriolytické vlastnosti určitých aktinomycet. KIMMELSTIEL našel jeden kmen B. mycoides, který produkoval lysin, později použitý k výrobě vakcín. Není se tedy co divit, že v záplavě podobných informací zaniklo pozorování Alexandra FLEMMINGA v r 1929, který popsal antibakteriální vlastnosti jedné plísně, která náhodou kontaminovala stafylokokovou kulturu (15) Ve výčtu významným objevů je nutno se ještě zmínit o práci DUBOSE z r. 1939, který izoloval selektivně velmi účinné antibiotikum z kultury Bacillus brevis a který byl později označen jako thyrotricin (16). Značná toxicita však dovolila pouze jeho místní použití

CHAIN a FLOREY studovali chemické a biologické vlast-

nosti antibakteriálních látek, produkty metabolismu plísní a bakterií. Narazili při tom na Flemmingův penicilin, s nezájmou odložený. Již v roce 1940 informují CHAIN a FLOREY o prvních úspěšných výsledcích dosažených s tímto preparátem (17). Tlumící růstový účinek in vitro byl prokázán především u klostridií, corynebakterií a streptokoků. V krátké době se jim podařilo připravit čistý preparát s vynikající účinností u experimentálních infekcí u myši. Byl tím podán důkaz, že některé metabolity produkované mikroorganismy, mohou být účinnými chemoterapeutiky. Původně z názvu principu antibiotia vznikl název **antibiotika**, který zavedl WAKSMAN. Tento autor společně s SCHATZEM a BUGIEM v roce 1944 popsal účinek streptomycinu (18). Další antibiotika rychle následovala. Na následujícím přehledu je uveden časový sled uvedení nejdůležitějších antibiotik.

1929–1940	penicilin	1949	neomycin
1939	gramicidin a thyrotricin	1950	nystatin
1939	griseofulvin	1955	erytromycin
1944	streptomycin	1956	vancomycin
1945	bacitracin	1957	kanamycin
1947	chloramfenikol	1958	rifamycin
1947	chlortetracyklin	1962	linkomycin
1948	cefalosporin	1963	gentamycin

V současné době má klinik k dispozici širokou škálu účinných antibiotik, více jak 15 derivátů penicilinu prvé až třetí generace, cefalosporiny první až třetí generace, nové beta-laktamáty aztreonam a impenem, aminoglykosidy, clindamycin který nahradil linkomycin, nově byla ohodnocena účinnost vancomycinu a řady dalších látek, které svým spektrem účinku, farmakologickými vlastnostmi a účinností vysoce převyšují první přípravky (19).

Úspěchy antiparazitální a antibakteriální chemoterapie poho-pitelně stimulovaly hledání účinných substancí i v dalších léčebných oblastech. Byla to především **antimykotika**.

První antibiotikum s antimykotickým účinkem bylo izolováno již v roce 1938 z kultury Penicillium griseofulvum. GENTLES popsal účinek griseofulvinu, který byl použit s úspěchem v léčbě povrchových mykóz. Další přípravek s antimykotickým účinkem byl uveden v roce 1950, byla to látka získaná ze Streptomyces noursei a nazývána nystatin. Amfotericin B, významný přípravek pro léčbu aspergillosy, byl uveden v roce 1955 (20). Je ovšem skutečností, že na počátku byl zájem o mykotické infekce jen podřadný. V dalších letech postupně antimykotika nabývala na významu, ukázala se velmi potřebná při intenzivní protinádorové léčbě, při komplikacích chirurgické léčby a u imunosupresivních stavů..

Vedle amfotericinu B je do léčby zařazován flucytosin, keto-konazol a další imidazolová antibiotika – clotrimazol, miconazol, flukonazol a itraconazol .

Vývoj účinné chemoterapie s **antivirovým** účinkem se značně opožďoval za efektivní antibakteriální chemoterapií. Bylo pro to několik důvodů.

V padesátých letech panoval názor, že není možné vyvinout účinnou protivirovou látku, která by měla selektivní účinek jen na virus a přitom bude zcela bezpečná pro nositele. Tento názor byl založen na chybné představě, že jakákoliv látka toxická pro virus, který vyžaduje replikaci v buňce hostitele, bude toxická i pro neinfikované buňky. Znalosti o replikačním cyklu virů byly donedávna nedostatečné. Podstatné bylo, že klinická virologie s možností laboratorních diagnostických testů byla k dispozici jen v malém počtu léčebných zařízení. Spektrum účinných antivirových přípravků je úzke. Jejich podání je provázeno často problémy, ježto klinická prezentace virové symptomatologie je často nespecifická. Různé viry mohou zapříčinit stejné syndromy, takže je často těžké určit diagnózu jen na klinickém základě.

První látky s antivirovým účinkem zůstaly téměř nepovšimnuty. V roce 1946 DOMAGK popsal antituberkulózní účinek

thiosemikarbazolu (21) HAMRE, BERNSTEIN a DONOVICK studovali účinek této látky v léčbě varioly a Vaccinia virem infikovanými kuřecími vejci a u myši (22). V průběhu těchto prací se prokázal antivirový účinek beta-aminobenzaldehyd thiosemikarbazonu. BAUER v roce 1963 popisuje v Lancetu vynikající výsledky podání thiosemikarbazonu během epidemie neštovic v Madrasu (23).

V roce 1960 STETTER syntetizoval substanci nazvanou amantadin (derivát adamantanu), jejíž antivirové vlastnosti ověřil DAVIES a spol. Hydrochlorid této substance blokoval množení in vitro viru chřipky A1, A2 a C (24).

Víme dobře, že viry nejsou schopny samostatného života. Nesou s sebou genetický program i některé chemické enzymy, které jim umožní průnik do buněk a replikaci nukleových kyselin. Na hostiteli jsou však závislí pro obstarání základních kamenů pro syntézu svých nukleových kyselin. Vznikl nápad, zda nabídnutím falešných stavebních kamenů by nemohlo dojít k zablokování množení virů. Joddeoxyuridin, látku blízkou thymidinu uvedl PRUSOFF v r. 1959 původně jako protinádorové chemoterapeutikum. Ale krátce nato, v roce 1961 upozornil HERRMAN, že tato látka má silně blokující účinek na herpes viry a byl s úspěchem použit rok nato KAUFMANEM v léčbě herpesových infekcí oka.

Jiná látka, cytosin arabinosid, původně deklarovaná jako protinádorový přípravek, vykazovala rovněž antivirové vlastnosti a byla použita v léčbě místních herpes keratitid a zosterových infekcí.

Účinek antivirových přípravků je často jen omezený. Příčina léčebných neúspěchů spočívá většinou v pozdním nasazení přípravku v době již rozvinutého virového onemocnění, kdy tkáňové poruchy jsou již irreverzibilní.

V současné době máme k dispozici celou řadu účinných přípravků s antivirovým účinkem.

- ZIDOVUDIN (azidothymidin) je první antivirový přípravek s účinkem u lidských imunodeficienčních virových infekcí (HIV)
- GANCICLOVIR acyklický nukleosidový analog guanosinu, účinný u herpesvirových infekcí
- ACYKLOVIR acyklický nukleosid analog guanosinu, účinný u herpesvirových infekcí, herpes simplex a varicella-zoster virus
- VIDARABIN purinový nukleosid účinný v léčbě herpetické keratokonjunktivitidy, herpes simplex encefalitidě, herpes zoster u imunokomprimovaných nemocných
- IODODEOXYURIDIN analog thymidinu, indikací jsou herpetické keratokonjunktivitidy, dnes již není látkou první volby
- TRIFLURIDIN fluorovaný pyrimidin – použití ve stejných indikacích
- AMANTADIN profylaxe a léčba chřipky A
- RIMANTADIN analog amantadinu, stejné indikace
- RIBAVIRIN (virazol) široké protivirové spektrum, chřipka A a B, RSV infekce
- INTERFERON ALFA látka s ověřeným protinádorovým a antivirovým účinkem, účinný u papillomavirus infekcí, varicella-zoster virů, hepatitis B a C.

Zajímavé jsou zprávy o vývoji nových léků ze skupiny antivirotik pomocí počítače. Příkladem je zanamivir, selektivní inhibitor neuraminidázy, produkt nové epochy krystalografických studií (25).

Vývoj chemoterapie antiparazitární, antibakteriální, antimykotické a antivirové je úzce spojen s rozvojem chemoterapie **protinádorové**.

První pokusy o systémovou léčbu nádorových onemocnění můžeme vystopovat již v roce 1865, kdy LISSAUER a později BILLROTH dosáhli určitých, časově velmi omezených úspěchů v léčbě chronické myeloidní leukemie a lymfosarkomu podáním nasyceného roztoku chloridu arseničitého, tak zvanou Fowlerovu solucí (2).

Zajímavá byla i historie jiného z řady prvních pokusů protinádorové chemoterapie. W.B. COLEY popsal v roce 1893 neočekávané, i když přechodné regrese akutní leukemie a lymfosarkomu po některých akutních bakteriálních infekcích, zvláště streptokokového původu. COLEY věnoval 50 let svého života úsilí sestavit bakteriální polysacharidovou bílkovinu, schopnou navodit nádorovou regresi. Tato látka, nazvaná Coleyův toxin, byla první protinádorovým průmyslově vyráběným přípravkem. Byla to vlastně první forma imunoterapie. Různé regrese byly ale provázeny toxicitou vysokého stupně, takže brzy musel být přípravek stažen (26).

EHRlich již v roce 1912 přednesl názor, že jím vytýčené principy platí i pro chemoterapii maligních onemocnění. Přes řadu spojitostí mezi protinádorovou a antibakteriální chemoterapií, je zde řada závažných faktorů, které je odlišují. Úloha chemicky odlišovat normální buňky od maligních je mnohem složitější, než selektivně odstranit bakterie z organismu. Není známá specifická aktivita proti nádorovým buňkám, jak ji známe například z antibakteriálního účinku antibiotik.

První experimentální práce DUSTINA o antimetabolickém účinku kolchicinu z r. 1934 zapadly bez zájmu. Vlastní počátek protinádorové chemoterapie klademe do roku 1942, kdy studiem osob zasažených yperitem bylo zahájeno zkoumání cytostatické aktivity derivátů této bojové látky. Na základě prací KRUMBHAARA a KRUMBHAARA z dob první světové války, GILMAN, GOODMAN, LINDSKOG a další autoři prozkoumali vlastnosti této látky na experimentálních nadorech. Následoval rychlý vývoj látek s alkylujícím účinkem a jejich uvedení do protinádorové léčby v letech 1953 – 1960 (HAD-DOW, TIMMIS, GALTON, ELSON, BROCK, WILMANS, BLOCHIN a další).

Jiný výzkum pokračoval v identifikaci a syntéze kyseliny listové, která se ukázala být rozhodující pro růst některých nádorů. Tento výzkum vedl k vyvinutí koncepce metabolit - antimetabolit. Klinické použití antagonistů kyseliny listové otevřelo cestu pro syntézu a použití dalších antimetabolitů. Klinické nasazení dalších antimetabolitů bylo časově shodné s objasněním metabolismu nukleových kyselin. V r. 1957 HEIDELBERGER syntetizuje 5-fluorouracil, následuje 5-fluorodeoxyuridin, a řada dalších látek, které byly s úspěchem uvedeny do kliniky.

Úspěchy dosažené antibiotiky stimulovaly hledání podobných látek s cytostatickým účinkem. Tak byly uvedeny aktinomyciny, daunomycin, doxorubicin, bleomycin a další. Podobně jako ve vývoji antibakteriální chemoterapie byl často pokrok založen na náhodných objevech, jako například objev alkaloidů vinku. Zeela zásadní význam pro další vývoj protinádorové chemoterapie bylo uvedení kinetických koncepcí SKIPPERA, WILCOXE, NORTONA a dalších (27). Snaha přizpůsobit protinádorovou chemoterapii růstové křivce nádorových buněk, korelace mezi cytotinikou a klinickým průběhem nádorového onemocnění významně ovlivnila klinickou praxi a výrazně zlepšila léčebné výsledky. Koncepce nádorového růstu se stává základem onkologické teorie a praxe. Kinetika buněčné proliferace je podkladem kinetiky nádorového růstu, oboje souvisí s klinicky relevantní biologickou charakteristikou nádorového růstu, tj. tendence k invazivitě, metastazování a odpověď na léčbu. Základní koncepcí je, že buněčná proliferace způsobuje nejen nádorový růst, ale i nádorovou heterogenitu. Matematicky vypracovaná růstová křivka sumarizuje klinický průběh nádoru, souvisí rovněž s mutacemi vzhledem k metastazování a nádorové rezistenci. Pochopení růstových křivek je významným klíčem ke stanovení léčby a prevenci.

V následujícím textu uvádíme jen stručný přehled hlavních kinetických modelů a jejich dopad na chemoterapeutickou praxi. Odráží se v nich i zásadní rozdíl od přístupu k bakteriálním infekcím.

*Model Skipper, Schabel a Wilcox:*

- růst nádorů probíhá dle Gompertzova zákona, kde počet buněk roste rychlostí, která se blíží k určitému, konečnému, tedy exponenciálnímu růstu je následován růstovou retardací



- likvidace nádorových a buněk probíhá dle kinetiky prvního řádu,
- mezi počtem nádorových buněk a jejich kurabilitou cytostatiky je nezměnitelný inverzní vztah.

Pro klinickou praxi se prosadil model: zahájit léčbu cytostatiky co nejdříve, pokud je počet nádorových buněk co nejmenší. Definitivně byly odbourány metody nízkých, homeopatických dávek. Důležitým výstupem bylo použití adjuvantní chemoterapie a rozvoj kombinačních chemoterapeutických režimů.

Klinická zkušenost však nepotvrdila optimistické předpoklady, které vyplývaly z výše uvedených metod. Ukázalo se, že model nefunguje, když některá buňka v nádoru je biochemicky refrakterní na podanou dávku cytostatika. SKIPPER a spol. vytvořili koncepci, kde rezistence je získána náhodnou mutací během života nádoru. V tomto případě, jediná cesta jak garantovat absenci rezistentních buněk je zahájit léčbu ještě v době, když nádor je malý a bez mutantů.

Léková rezistence je známým faktorem v protinádorové léčbě. Původní teorie o výskytu lékové rezistence byla založena na experimentech v bakteriologii z roku 1940 Luria a Delbrücka. Tito autoři zjistili, že různé kultury téhož bakteriálního kmene vyvinou rezistenci na infekci bakteriofága v různých časech před expozicí na virus. Deset let po původním pozorování na bakteriích byl stejný model aplikován na rezistenci na metotrexát u myši leukemie L 1210. Rezistence na antimetabolit vzniká spontánně, náhodně ještě před dobou léčení.

*Model Goldie – Coldman.* Tito autoři vypracovali matematický model předpovědi procenta mutací a vzniku lékové rezistence, vycházející z genetické instability daného nádoru (28). Geneze kombinační chemoterapie, jeden z hlavních výstupů tohoto modelu a základu moderní chemoterapie, byla úzce svázána s kinetickými pozorováními, které provedli Delbrück, Luria a Law. Terapeut může stát před onemocněním heterogením v lékové senzitivitě i v době prvé diagnózy, pokud nádor může získat rezistenci na cytostatikum ještě před jeho první expozicí. V tomto případě spočívá jediná naděje na eradikaci nádoru kombinací cytostatik.

*Model Norton – Simons.*

Ikdyž gompertziánský růst, jako funkce iregulární růstové charakteristiky, je shodný pro růst některých lidských nádorů, problém známek regrese nádoru jako odpověď na chemoterapii zůstává. Model Norton-Simon předpokládá, že použitím režimů s novým časováním a dávkováním by mohl zlepšit výsledky klinické protinádorové chemoterapie. Pomalu rostoucí nádorové buňky mají tendenci regredovat mnohem pomaleji jako odpověď na danou léčbu než rychle rostoucí nádorové buňky té stejné biochemické senzitivity. U nádorové heterogenity nádorového růstu proto pomalu rostoucí klony jsou nejvíce kineticky rezistentní na chemoterapii. Tyto pomalu rostoucí buňky budou spíše překryty rychle rostoucími buňkami již v době diagnózy, i když mohou zvýšit proporcii selektivního prostředí chemoterapie, nebo paradoxně, z diferenciativního efektu subkurativní chemoterapie.

Model Norton-Simon předpokládá, že nejlepší cestou léčby je snažit se o likvidaci rychle rostoucí populace co neúčinněji jak je možné, a posléze se teprve věnovat léčbě numericky inferiorní, pomalu rostoucí populace. Jak ukázal SKIPPER a spol., a klinické zkušenosti, neefektivnější terapií je použití vysokých dávek v nejkratším čase. Ani to nemusí být cestou nejlepší, zvláště když neznáme vztah dávka/odpověď. Lepší metodou je zvýšení denzity dávek cestou sekvenčního podání cytostatik (29).

Vzestup chemoterapie v současné době, od nedostatečně účinné léčby k legitimní klinické metodě závisí ani ne tak na zvyšujícím se počtu existujících přípravků, jako na pečlivých kontrolovaných klinických studiích, hodnotících nové režimy a metody podání, nové kombinace a poslední poznatky molekulární biologie v praxi.

Předikce modelu Norton-Simon ale ukazuje, že opětový nádorový růst vylučuje v mnohých případech eradikaci onemocnění.

Analýza růstových křivek má v moderní onkologii důležité místo, k vysvětlení historie, dat a zlepšení léčení a k predikci cest ke zlepšení léčby.

Sledovali jsme vývoj chemoterapie od prvních objevů, až na rozdělení se na jednotlivé směry léčebného určení. Přesto, že vývojem se protinádorová chemoterapie v současné době výrazně od antibakteriální chemoterapie vzdálila, existuje zde stále řada spojujících vlastností. Sám termín chemoterapie již dnes nestačí a nutno jej blíže upřesnit.

Jak jsme uvedli, chemoterapeutika jsou látky se selektivní toxicitou proti bakteriím, virům, parazitům nebo nádorovým buňkám a používají se v léčbě infekcí nebo maligních onemocnění. Od takové látky vyžadujeme, aby měla vysokou specifickou ve zničení cílových buněk, ale aby při tom nepoškozovala hostitele. Chemoterapeutika ale mají řadu vedlejších účinků, přímých či nepřímých, které mohou být závažné a omezovat jejich použití. Za zmínku stojí například kancerogeneza cytostatik, alergické reakce mohou být vyvolány oběma skupinami látek, orgánová toxicita, imunosuprese a další.

Výrazné rozdíly mezi chemoterapeutiky jsou ve strategii použití. V léčbě bakteriálních infekcí lze někdy dosáhnout úspěchu i špatně koncipovanou a nevhodně dávkovanou chemoterapií. Naproti tomu nedostatečná selektivita protinádorových přípravků vyžaduje přesné indikace a dávkování. Při léčebné rozvaze maligního onemocnění musí být zohledněny všechny aspekty, tj. nejen histologie, ale i lokalizace, rozsah – stadium onemocnění, celkový stav nemocného a funkční stav organismu.

Obě chemoterapie se liší charakterem léčby. Zatím co antibakteriální terapie je použita většinou v monoterapii kontinuálně až do úplného vyléčení, chemoterapie protinádorová je podávána většinou v kombinaci a intermitentně, v maximálně tolerovaných dávkách. Chybějící biochemická selektivita je příčinou hledání různých modifikací podání a kombinací, které v chemoterapii antibakteriální nejsou časté.

Rozdíl je ve zhodnocení účinnosti. Účinek antibakteriální chemoterapie je patrný z vymizení klinických příznaků choroby, potvrzení účinnosti může být doloženo mikrobiologickou kontrolou. Potvrzení účinnosti protinádorové léčby je mnohem komplexnější a nesnadnější.

Souhrnem - je celá řada skutečností společných pro obě chemoterapie:

1. Záměrem obou chemoterapií je eliminace bakterií nebo nádorových buněk z organismu.
2. U každého chemoterapeutika hodnotíme spektrum a intenzitu účinnosti. Spektrum účinnosti pro antibakteriální chemoterapii lze určit poměrně snadno in vitro a je základem pro klinické použití. Pro cytostatika se dá určit účinné spektrum pouze na experimentálních nádorech. Metody stanovení účinnosti in vitro jsou vysoce diskutabilní a v současné době nemohou být zdrojem informací pro účinek in vivo.
3. Jiný vzájemný vztah: během cytostatické léčby je mnohdy nutné použití antimikrobiální chemoterapie, jako například při neutropenické sepsi.
4. U některých látek dochází dokonce k prolínání antimikrobiálního a cytostatického účinku, například u cytosin arabinosidu.
5. Stejně posuzujeme klinicko-farmakologické aspekty - tj. distribuce účinné látky v organismu, invaze a eliminace, metabolismus a koncentrace na místě účinku.
6. Obě chemoterapie jsou založeny na společných principech, podobné jsou i rysy rozvoje a určitá stagnace v posledních letech.
7. Pokusy na zvířatech se záměrem ověření účinnosti jsou významné pro obě chemoterapie.
8. Obě chemoterapie používají kombinaci více látek

Obě chemoterapie odlišuje:

1. U cytostatik chybí biochemická selektivita, která je významná pro antibakteriální chemoterapii.

- Pro cytostatickou terapii je důležité stanovení klasifikace, určení stadia onemocnění pro určení pořadí léčebných disciplin a prognózu onemocnění. Léčba bakteriálních infekcí musí být založena na diagnóze, dle možnosti ověřené mikrobiologickými parametry.
- Odlíšný je režim podání. Zatím co antibakteriální chemoterapie se podává trvale až do vymizení příznaků, cytostatika se podávají intermitentně v maximálních dávkách, často v kombinacích, v časově omezených režimech.

- Poněkud rozdílné je i určení účinnosti léčby. Účinek antibakteriální chemoterapie je uveden normalizací klinických příznaků, event. doplněný mikrobiologickými testy. Při cytostatické léčbě i při dosažení klinické kompletní remise není jistota trvalé eradikace všech nádorových buněk
- Bakterie jsou méně komplexní než nádorová buňka.

Některé další rozdílnosti mezi antimikrobiální a protinádorovou chemoterapií (3):

Z výše uvedených srovnání a tabulky je patrné, že základní předpoklady antibakteriální a protinádorové chemoterapie se dnes liší.

### Závěrem

V roce 1912 Paul Ehrlich zařadil nádorová onemocnění do účinného spektra chemoterapie (1). Brzy se ale ukázalo, že je mnohem nesnadnější odlišit chemicky normální buňku od nádorové, než selektivně odstranit určité mikroorganizmy z organismu. Přesto, že protinádorová a antibakteriální chemoterapie jsou dnes považovány za dvě rozdílné entity, není tomu tak zcela. Poukázal jsem na jejich vznik ze společných principů, které se však vývojem vzdalovaly. Nejen v otázce rezistence se vývoj protinádorové léčby obracel zpět o radu k antibakteriální léčbě. I když je dnes víc skutečností, které obě léčby rozdělují, je nutno mít na mysli výše uvedené historické a existující vzájemné vztahy.

Protinádorová a antibakteriální chemoterapie výrazně rozšířily naše léčebné možnosti. Je otázkou, kde jsou hranice jejich možností.

*Autoři děkují za laskavé připomínky prof. Dr. J. Svihovcovi Dr.Sc., Ing. F. Kissově C.Sc a prof. Dr. Z. Adamovi Csc. Díky patří prof. Spurné za laskavou jazykovou úpravu.*

	CHEMOTERAPIE	
	antibakteriální	protinádorová
biochemické rozdíly mezi cílovou buňkou a hostitelem	podstatné	jen velmi omezené
senzibilita cílové buňky na chemoterapeutikum a leukemií	vysoká	nízká, výjma lymfomů
buněčná skladba	pro bakterie méně komplexní	
kombinační terapie	méně významná	významná
vedlejší účinky	jen vzácně	závažné, zvláště myelosuprese časté
rezistence	významná	významná, stoupá s časem podání
postavení v léčbě	dominující	většinou jen doplňkové, výjma lymfomů a leukemií
hodnocení in vitro	významné pro orientaci léčby	základem pro znalost účinku cytostatika, pro kliniku prozatím není hodnověrná
rozdílná citlivost	méně významná	významná

### Literatura

- Ehrlich O.: Gesammelte Arbeiten, F.Himmelweit edit., Berlin-Göttingen-Heidelberg, Springer Verlag, 1957.
- Greenspan E.M., Bruckner H.W., Goldsmith M.A.: Aspects of Clinical Pharmacology, in Clinical Interpretation and Practice of Cancer Chemotherapy, E.M.Greenspan edit., Raven Press, New York, 1982.
- Drews J.: Grundlagen der Chemotherapie, Springer Verlag, Wien – New York, 1979
- Issekutz Béla: Die Geschichte der Arzneimittelforschung, Akadémiai Kiadó Budapest, 1971
- Koch R.: Die Aetiologie der Tuberkulose, Berl Klin Wocheschr, 1882; 19: 221
- Laveran M., Mesnil F.: Recherches sur le traitement et la prévention du nagana, Annales de l'Institut Pasteur, 1902; 16: 785-817
- Luria S.E., Delbruck M.: Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance, Genetics 1943; 28: 491
- Ehrlich P.: Gesammelte Arbeiten (Himmelweit, F., Hrsh), Berlin Göttingen- Heidelberg; Springer 1957
- Ehrlich P., Hata : Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen, Springer, Berlin, 1910
- Domagk G.: Ein Beitrag zur Chemotherapie der Bakteriellen Infektionen, Dtsch med Wocheschr 1935; 61: 250-253
- Colebrook L., Kenny M.: Treatment of human puerperal infections, and of experimental infection in mice, with Prontosil, Lancet 1936; 1: 1279-1286
- Tréfouel J., Tréfouel J., Schwarz M., et al : Activité du p-aminophényl sulfamide sur les infections streptococciques expérimentales de la souris et du lapin, C.R. Soc.Biol, 1935; 120: 756-758
- Fuller A.T.: Is p-aminobenzenesulphonamide the active agent in Prontosil therapy? Lancet, 1937; 1: 194 - 477
- Pasteur L., Joubert J.: Charbonne et septicémie, C.R., Acad Sci (Paris) 1877; 85: 101-115
- Fleming A.: On the antibacterial action of cultures of a penicillium with special references to their use in the isolation of B. influenzae, Brit J Exp Pathol 1929; 10: 226
- Dubos R.: Studies on a bactericidal agent extracted from a soil bacillus, I. Preparation of the agent. Its activity in vitro, J exp med 1939; 10: 1 - 10
- Chain E., Florey H.W., Gardner A.D. et al.: Penicillin as chemotherapeutic agent, Lancet 1940; 2: 226
- Schatz A., Bugliè E., Waksman S.A.: Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, Proc Soc exp Biol (N.Y.), 1944; 55: 66
- Reese R.E., Betts R.F.: Antibiotic use, In: A Practical Approach to Infections Diseases, Third edit., R.E. Reese, R.F. Betts edit., Little, Brown and Co. Boston, Toronto, London, 1983.
- Levitz S.: Aspergilliosis, Infect Dis Clin North Am 1989; 3: 1
- Domagk G., Behnisch R., Mietzsch F et al.: Über eine neue, gegen Tuberkel-bazillen in vitro wirksame Verbindungs-klasse, Naturwissenschaften, 1946; 33:315
- Hamre D., Berstein J., Donovan R.: Activity of p-aminobenzaldehyde, 5-thiosemicarbazone in the chick embryo and in the mouse, Proc Soc. Exp Biol (N.Y.)1950; 73: 275-278
- Bauer D.J., St.Vincent L., Kempe C. et al.: Prophylactic treatment of smallpox contacts with A-methyl-isatin b-thio-semicarbazone, Lancet 1963; II:494-496
- Oxford J.S., Galbraith A.: Antiviral activity of amantadine: A review of laboratory and clinical data, Pharmacol Ther 1980; 11: 137
- Patriarca P.A.: New Options for Prevention and Control of Influenza, JAMA, 1999; 282 :75-77.
- Coley W.B.: The treatment of inoperable sarcoma with the mixed toxins of erysipelas and bacillus prodigiosus: Immediate and final results in 140 cases, JAMA 1898; 31: 389 – 395
- Skipper H.E., Schabel F. Jr., Wilcox W.S.: Experimental evaluation of potential anticancer agents, XIII. On the criteria and kinetics associated with potential curability of experimental leukemia, Cancer Chemoth Rep 1964; 35: 2 - 12
- Goldie J.H., Coldman A.J.: A mathematical model for relating the drug sensitivity of tumor to their spontaneous mutation rate, Cancer Treat Rep 1979; 63: 1727-1733
- Norton L.: The Norton-Simon Hypothesis, in : The Chemotherapy Source Book, Michael C. Perry editor, Williams and Wilkins, Baltimore 1997, 43 - 61

## ZPRÁVA Z MĚSÍČNÍHO POBYTU V BREAST IMAGING SERVICE NA MAYO CLINIC V ROCHESTERU V MINNESOTĚ, USA

SKOVAJSOVÁ M.

MAMMA CENTRUM, DTC PRAHA A.S.

Rochester je poklidné město v převážně rovinné a kukuřičí porostlé Minnesotě. Životní ráz dodává městu Mayo Clinic. Budovy, původní Mayo Building i nově otevřená Gonda Building, knihovna, Methodist Hospital a další, dodávají městu rysy stejně tak, jako stovky zaměstnanců, které, zřetelně označené visáčkou, potkáte na ulici, v obchodech, u rychlého občerstvení, zkrátka všude, kde tepe život.

Mayo Clinic je místo, kam se chodí léčit pojištění, připojištění i přímo platící, standard poskytovaných služeb je vysoký. Myslí se na léčebný komfort, informovanost, vstřícnost je vyjádřená i v drobných detailech. Úzkostlivě se dodržuje vysoká úroveň jednání s pacienty, stejně tak mezi všemi zaměstnanci. To vše dohromady vytváří příjemnou atmosféru, která nepůsobí uměle.

Mayo Clinic pečuje o své zaměstnance v první řadě dokonalým pracovním prostředím, nabídkou kontinuálního vzdělávání i mimopracovních aktivit jen tak pro radost. Snadný přístup k informacím všeho druhu, vzdělávání mimochodem, spousta malých i větších seminářů pro všechny zaměstnanecké úrovně vytváří pocit sounáležitosti zaměstnanců se svou klinikou.

Breast Imaging Service je samostatné oddělení vybavené pro úplnou diagnostiku prsní žlázy. Zabývá se samozřejmě i preventivním programem. Ve Spojených státech má právo každá žena od 40. roku věku podstoupit pravidelný screening prsní žlázy. Z průzkumů Mayo využije touto možností pravidelně každoročně asi 20% žen. Celkově se dostaví ke screeningu asi 40% žen, intervaly vyšetření některých klientek jsou však různé, není naplněno pravidlo každoročnosti. Vyšetření některých žen jsou dovedena do konce již v den návštěvy. Zejména v případě nejasných mammografických nálezů je doplněn na místě ultrazvuk, nálezy do ruky dostane rovněž klientka, která přijela či přiletěla z daleka. Přespolních pacientů je poměrně hodně, v případě klientek Breast Imaging Service nebylo možno přesné číslo získat. Je rovněž snaha provést u všech žen, které mají suspektní nálezy, diagnostickou biopsii v den návštěvy. Tímto přístupem je Mayo na americké poměry poněkud atypické.

V Breast Service je denně provedeno 130 – 200 mammografií. K hladkému zvládnutí vysokých počtů je připraveno 9 mammografů. Mammografické vyšetřovny jsou malinkaté místnosti, které by stěží procházely našimi hygienickými normami. V každé je koberec, malá pohovka pro čekající ženu, dojem spíše dívčího pokojíčku. Zde žena čeká před i po vyšetření, než je propuštěna s výsledkem v ruce nebo s tím, že výsledek přijde poštou. Po telefonu se může výsledek dozvědět do dvou hodin. Z pacientek odeslaných domů je 7% zváno pro nejasnost nálezu k dalšímu vyšetření. Část mammografií je hodnocena metodou dvojího čtení. Na oddělení přibude CAD systém – computer-aided detection. Jde o počítačové vyhodnocování odchylek v MG obraze po převedení analogového obrazu do digitálního. Zakoupí ho vláda, zatím je očekáván s velikou skepsí.

Ve čtyřech dalších malinkatých pokojíčcích jsou ultrazvukové (UZ) přístroje, které slouží opět jen k vyšetřování prsu. Předvyšetření provede vyskolený rentgenový laborant (technician), který nejprve provede

několik standardních UZ projekcí, poté zavolá lékaře. Lékař vyšetřuje jen prs, kde bylo vyjádřeno podezření.

Díky velkému množství vyšetřovací techniky se zvládají dobře velké počty vyšetření, technické selhání nepřichází do úvahy.

Klientky přicházejí a také během vyšetření jsou zahaleny do Mayo blůzek, obnažuje se jen vyšetřované místo, v případě většího pole jde obnažování a zakrývání postupně. Možnost aspekce není.

Diagnostické biopsie se provádějí z ruky pod ultrazvukem, či na stereotaktickém stole pod mammografickým naváděčem. Proces stereotaktického navádění a zobrazování je digitální. K intervenčním výkonům je připravena škála jehel, značících klipů a další množství potřebného materiálu, vše na jedno použití vše v praktických obalech či kazetkách. Po každém vyšetření je objemný koš s použitým materiálem přeplněn.

Celý pracovní proces je veden ve velkém klidu, pracuje se od 8.00hod do 17.00. Lékaři nemají vlastní pokoje, v práci chodí v civilu, jen k intervenčním výkonům oblékají bílý plášť. Laboranti chodí naopak už rovnou do práce v uniformě, osobní věci mají v malých skříňkách denní místnosti, která je rovněž velmi těsná. Z našeho pohledu jde o velmi malý osobní komfort, místní zaměstnanci to však tak nepocítují. Oceňují dokonalé spojení se světem přes internet a s informacemi přes intranet. Počítače rozmístěny doslova kam se pohlédne, přístup má každý.

Každý týden mají laboranti i lékaři zvlášť semináře. Tématem je nejen vzdělávání, ale také vyhodnocování dosažených výsledků. Hodnotí se kvalita mammografických projekcí, úroveň diagnostiky, počty chybných diagnóz.

Pro zvyšování kvality prováděných projekcí probíhají neustálá školení, laborantky mají k dispozici videokazety, které se věnují zejména úskalím kvalitního zobrazovacího procesu.

Vyhodnocování chybných diagnóz a hlavně hledání příčin, je rovněž věnováno maximální úsilí. Jedním velkým diagnostickým orůškem jsou, stejně jako to známe u nás, mikrokalcifikace. Znalec ví, že vyhodnotit malignitu či benignitu mikrokalcifikací, stanovit bezchybně další doporučení, je jedním z nejtěžších bodů mamární diagnostiky. Podle vedoucí lékařky Marilyn Morton i ostatních konzultantů se právě na tento problém před dvěma lety na Mayo soustředili. S pomocí stereotaktického stolu, digitálního zobrazování a vakuové biopsie se jim podařilo zvýšit záchyt DCIS. Problém přesného indikování však nezmizel, vysoké počty stereotaktických biopsií s negativním výsledkem jsou nyní zdrojem diskusí. Vítězí názor, že nadhodnocení nálezu je přijatelnější z lidského i medicínského hlediska než podhodnocení. Obecně i ženy snázejí „zbytečný“ výkon dobře.

Dalším velkým problémem, který je v současnosti řešen, jsou přehlédnutá maligní ložiska v syté žláze. Po vyřešení problému s nádory, jejichž markerem jsou mikrokalcifikace, přichází k řešení tento další. Diagnostické omezení je dáno povoleným počtem doplňujících ultrazvuků. Možnost UZ dovyšetření je v oficiálních standardech povoleno v menším procentu než by bylo zapotřebí.

Celá Mayo Clinic se v příštích měsících stěhuje do nové budovy. V Gonda Building bude organizace veškeré medicínské péče postavena nově. Ve všech odvětvích medicíny je snaha docílit mezioborové spolupráce dle medicínského problému na jednom patře. Integrace diagnostiky i léčby do jednoho místa s možností okamžitých

víceoborových konzultací se stala nejčastějším námětem diskusí zaměstnanců, ale hlavně vedoucích lékařů, kteří připravují plány ideálního rozložení ordinací. V případě Breast Service jde především o skloubení práce radiologa, chirurga a onkologa, tedy o vytvoření mamárního týmu.

Během čtyřtýdenního pobytu došlo a vlastně každodenně docházelo k diskusím na téma srovnávání práce mamodiagnostického oddělení zde ve Spojených Státech a u nás v Čechách. Lékaři na Mayo mají zájem o všechno. Tlak na zlepšování kvality jejich práce je motivuje k získávání a vyhodnocování všech informací, které jsou s jejich problémem spojeny. Zajímá je, jak je organizován chod oddělení, kolik lidí zde pracuje, jaká je dělba práce mezi laboranty a lékaři, jaké služby poskytujeme klientům. Praktické provádění diagnostického a screeningového procesu v Mamma centru bylo prezentováno na semináři pro celé oddělení. Na odborném semináři pro lékaře pak byly promítnuty prezentace o diagnostických postupech uplatňovaných v Mamma centru, diskutována spolupráce s chirurgem a onkologem, středem zájmu se staly způsoby označování nehmavných lézí s vymezováním operačního pole, což bylo nakonec tématem posledního semináře s místními chirurgy.

Pobyt v Breast Imaging Service v Mayo Clinic potvrdil, jak už to tak bývá, jak nezastupitelný přínos má výměna informací mezi lidmi, kteří se věnují témuž. Výměna velkých zásadních informací má stejnou hodnotu jako výměna drobných praktických rad. Měsíčním pobytem začala éra spolupráce mezi Breast Imaging Service v Rochesteru a Mamma centrem v Praze. Spolupráce která v dnešní globální době bezbariérového kontaktu a s dostupností informací odkudkoli může být snadno vedena přes oceán.

## **PRACOVNÍ ZASEDÁNÍ EORTC RT GROUP – Stratford, říjen 2001 EORTC RADIOTHERAPY GROUP MEETING IN STRATFORD, October 2001**

**SOUMAROVÁ R.**  
ODDĚLENÍ RADIČNÍ ONKOLOGIE,  
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV

Ve dnech 5. a 6. října jsem měla možnost zúčastnit se pravidelného pracovního setkání EORTC Radiotherapy Group pořádaného tentokrát ve Stratfordu ve Velké Británii. Radioterapeutická skupina při EORTC (European organization for research and treatment of cancer) pořádá každoročně dvě pracovní schůzky věnující se probíhajícím studiím koordinovaným EORTC a současně dává možnost diskutovat o dalších navrhovaných aktivitách.

Stratford upon Avon, ležící asi 150 km severně od Londýna, je rodištěm Williama Shakespeara a na tuto skutečnost je právem hrdý. Domy pamatující období shakespeareovské slávy jsou nádherně zrekonstruovány. Zvenčí dřevěné a neuvěřitelně malebné fasády skrývají luxusní hotely se všemi technickými vymoženostmi dnešní doby. K jednomu z nich patřil i hotel Falcon, ve kterém se konalo zasedání.

Program dvoudenního jednání byl rozdělen podle jednotlivých topik a k nim se vztahujícím projektům.

Plicní skupina pod vedením dr. Senana referovala návrh studie fáze I/II - dávková eskalace a akcelerace s použitím 3D konformní radioterapie. Zvyšování aplikované dávky spolu s přesnějším zaměřením léčebného svazku je trendem celé řady projektů nejen u nádorů plic, ale též např. u nádorů prostaty. Samozřejmě je zde nezbytné kvalitní technické vybavení pracoviště: 3D (trojdimenzionální) plánování minimálně s použitím multileaf kolimátoru. Naše pracoviště participovalo na studii s adjuvantní radiochemoterapií u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem hlavy a krku. U této studie byl zastaven nábor pacientů a dále probíhá follow up, ale již první výsledky prezentované na nedávném ECCO v Lisabonu ukazují signifikantní zlepšení lokální kontroly one-

mocnění, disease free intervalu a celkového přežití u pacientu, kteří obdrželi konkomitantní radiochemoterapii ve srovnání se samotnou radioterapií.

Jsmo též zapojeni ve studii srovnávající standardní dávku RT (25 Gy) s vyšší dávkou (36 Gy) při profylaktickém ozáření mozku u pacientů s malobuněčným bronchogenním karcinomem v kompletní remisi.

V současné době je otevřeno asi dalších 19 studií koordinovaných EORTC RT Group.

Dvoudenní jednání zahrnovalo i „Breast Cancer Working Party“ pod vedením prof. Philipa Poortmanse. EORTC Radiotherapy Group spolupracuje s Breast Cancer Cooperative Group na několika projektech. Jedním z nich je fáze III randomizovaná klinická studie hodnotící význam ozáření uzlin podél a. mammaria interna a uzlin nadklíčkových u pacientek s karcinomem prsu I.-II. klinického stadia. Dalším je randomizovaná studie srovnávající konzervativní chirurgický výkon s radikální mastektomií po indukční chemoterapii u lokálně pokročilého karcinomu prsu. Nejvíce diskutovaným problémem byla ovšem nově navrhovaná studie týkající se léčby pacientek starších 70 let s invazivním karcinomem prsu po partiální mastektomií. V navrhovaném trialu by byly ženy s nízkým rizikem relapsu onemocnění (T2cm, ER/PR+, N-, M0) randomizovány do dvou skupin: jedna by obdržela pouze Tamoxifen, druhá by byla i ozářena. Tato studie by měla navazovat na předchozí práce (př. Milánský trial, NSABP B21) a vychází z předpokladu, že více než 30% žen s karcinomem prsu je starších 70 let a více než 20% z nich umírá na interkurentní onemocnění. Z řad diskutujících zaznělo několik připomínek: zařazovat ženy s tumorctomií nebo pouze po kvadrantektomií? Proč tyto ženy ozařovat na celý prs a ještě aplikovat boost na lůžko tumoru? Stratifikovat podle typu provedeného chirurgického výkonu? Důraz na negativní okraje resekátu. Ozařovat vnitřní mamární uzliny? Otázka etická- můžeme nabízet pouze podávání Tamoxifenu bez radioterapie a samozřejmě otázka ekonomická. Závěrem byly tyto námítky shrnuty a budou začleněny do vstupních kritérií této studie.

Dalším bodem byl rozbor projektu SWOG S9927 „ano či ne lokoregionální terapie u pacientek po radikální mastektomií s nádorem prsu pT1,pT2,pN1(1-3 uzliny pozitivní) M0?“. V úvodu byly předneseny relevantní literární údaje ilustrující vliv lokoregionální terapie na lokální kontrolu a celkové přežití těchto pacientek. V současné době se považuje za standardní indikaci k ozáření jizvy a regionálních lymfatických uzlin pozitivita 4 a více lymfatických uzlin. Za všeobecného souhlasu se EORTC RT group rozhodla nepřipojovat se k uvedené SWOG studii.

Další pracovní návrh se týkal radioterapie u pacientek s ductálním karcinomem in situ po partiální mastektomií. Rozbor již vyhodnocených studií u DCIS karcinomu ukazuje poměrně vysoké procento lokální recidivy po ozáření celého prsu dávkou 50 Gy, proto navrhovaný projekt by měl hodnotit význam doozáření lůžka nádoru. K uvedené studii bude probíhat další diskuse, neméně zájem o participaci měla řada evropských center včetně našeho. Otázkou velikosti cílového objemu pro „boost“ a vyšší aplikované dávky se zabývala i další přednáška: „Zlepšení lokální kontroly onemocnění u mladých pacientek do 40 let“. Tato věková skupina je velmi riziková pro vznik lokální recidivy i po standardním ozáření prsu a lůžka tumoru. Pravděpodobně se bude připravovat studie tomuto tématu věnovaná.

Na závěr Breast Cancer Working Party byla zdůrazněna nutnost úzké spolupráce s dalšími kooperativními skupinami včetně EORTC Breast Group. Tato spolupráce je nezbytná k tomu, aby nedocházelo k překrývání jednotlivých aktivit. Kvalita života bude v dalších studii hodnocena kdykoliv to bude možné a na příštím meetingu na jaře již bude aktivně participovat i Quality of Life Group.

Význam aktivní spolupráce s EORTC RT Group je velký. Jedinně touto formou je možné získat odpovědi na řadu kontroverzních otázek v radioterapii. Pracoviště je v úzkém kontaktu s předními evropskými centry a může tak srovnávat kvalitu práce. Pro další spolupráci s EORTC ale i pro udržení se alespoň mezi „nižší střední třídou“ je nutné ovšem kvalitní technické vybavení. Musíme s příznan, že zde máme stále poměrně značné rezervy.

Příští pracovní setkání se koná na jaře v Aroně v Itálii.

## Jmenný rejstřík

- Abrahámová, J. 4/135  
 Adam, Z. 1/8  
 Apltauerová, M. 5/163  
 Banovská, A. 2/46  
 Beneš, P. 3/96  
 Beška, F. 1/19  
 Bohanes, T. 5/170  
 Boudný, J. S/24  
 Bourková, L. 2/46, 3/79  
 Brázdil, J. 5/157  
 Breza, J. 4/109  
 Büchler, T. 3/79  
 Buliková, A. 2/46  
 Csepregy, M. 5/174  
 Cuninková, M. 4/131  
 Černilová, I. 3/90  
 Černoch, M. 2/51  
 Černoch, M. 6/197  
 Čertíková, G. S/20  
 Čoupek, P. S/10  
 Čoupková, H. S/10  
 Čumlívká, E. 1/4  
 Dank, M.A. 5/174  
 Doležel, L. 2/65  
 Doubek, M. 2/46, 3/79, 3/90  
 Dušek, L. 4/135  
 Eben, K. 6/197  
 Faber, E. 3/102  
 Fait, V. 1/25, 3/106, 5/177, 5/179  
 Fila, L. S/13  
 Fišerová, A. 2/46, 3/79  
 Forbeská, M. 6/197  
 Foretová, L. 4/135  
 Frantík, E. 6/193  
 Gajdoš, P. 1/20  
 Gašová, Z. 5/163  
 Goncalves, F. 4/109  
 Gregora, E. 3/96  
 Grygárková, J. 2/55  
 Gumančík, J. 2/65  
 Gut, I. 6/193  
 Habib, N. 6/181  
 Hajdúch, M. 2/55, 5/170  
 Hájek, R. 2/46, 3/79, 5/178  
 Hakl, M. S/13  
 Hamžik, J. 2/65  
 Hatina, J. 5/145  
 Havlík, R. 6/181  
 Heczko, M. 3/102  
 Heráček, J. 4/114  
 Hermanová, M. 5/157  
 Heřman, M. 2/55  
 Horňák, M. 4/118  
 Horváth, T. 1/31  
 Hrobař, P. S/24  
 Hřib, R. S/13  
 Hubáček, J. 3/102  
 Chmelařová, A. 2/55  
 Chocenská, E. 3/96  
 Indrák, K. 3/102, 3/85  
 Jandík, P. 1/14  
 Janků, F. 6/202  
 Jarošová, M. 3/102  
 Jelínek, J. 5/163  
 Jeřábková, V. 1/4  
 Judas, I. 6/202  
 Kalous, O. 1/8  
 Kaplanová, J. S/2  
 Kapras, J. 6/189  
 Karban, J. 5/163  
 Kavan, P. 1/20  
 Klabusay, M. 3/90  
 Klein, J. 2/55, 5/170  
 Klener, P. 5/163  
 Kliment, J. ml. 4/118  
 Kocák, I. 5/154  
 Kodet, R. 1/4  
 Kohoutová, M. 6/189  
 Kolek, V. 2/55  
 Kořístek, Z. 3/90  
 Kotala, V. 1/25  
 Kotlas, J. 6/189  
 Koukalová, H. 2/59  
 Koutecký, J. 1/20, 1/4  
 Kovářová, L. 3/79  
 Kozák, T. 3/96  
 Kozubek, S. 5/157  
 Král, V. 2/55, 5/170, 6/181  
 Kriegová, E. 3/102  
 Kroupová, I. 5/157  
 Kryštof, V. 2/59  
 Křepelová, A. 6/189  
 Křivanová, A. 3/79  
 Kubala, E. 4/135  
 Lang, B.A. 6/197  
 Lauerová, L. 5/154  
 Lovečková, Y. 6/181  
 Lukášová, E. 5/157  
 Lukeš, M. 4/114  
 Makó, E.K. 5/174  
 Malíš, J. 1/4  
 Marel, M. S/13  
 Mareschová, I. 2/46  
 Marinov, I. 5/163  
 Marková, J. 2/73  
 Matějčková, Š. 5/163  
 Maťoška, J. 4/131  
 Mayer, J. 1/8, 3/90, 5/178  
 Mechl, Z. 6/207  
 Merta, Z. S/2  
 Mihál, V. 2/55  
 Milňajtová, J. 6/193  
 Munzarová, M. 6/186  
 Musilová, R. 3/79  
 Navrátil, M. 3/90  
 Nekolná, M. 1/4  
 Nekulová, M. 2/51, 6/197  
 Nenutil, R. 1/25, 5/157  
 Neoral, Č. 2/55, 5/170  
 Neoral, Č. 6/181  
 Novák, J. 1/19  
 Novotný, J. 6/202  
 Novotný, V. 4/118  
 Ondraček, A. 1/34  
 Ondruš, D. 4/131  
 Pačovský, Z. 2/51, Z. 6/197  
 Páláčová, M. 1/34  
 Pálková, I. S/2, S/7  
 Papajík, T. 3/102, 3/85  
 Paťorková, M. 3/96  
 Patzelová, V. 6/193  
 Pavlík, M. S/13  
 Pecan, I. 2/51, 6/197  
 Penka, M. 2/46, 3/79  
 Petera, J. 1/14  
 Petráková, K. 1/34, 3/90  
 Petruželka, L. 6/202  
 Píko, B. 5/174  
 Plank, L. 2/65  
 Pleško, I. 4/131  
 Procházková, B. 3/96, 5/163  
 Ptáčková, B. 2/59, 4/122  
 Pytlík, R. 3/96  
 Ráida, L. 3/102, 3/85  
 Rašovská, O. 2/59  
 Reischig, J. 5/145  
 Rejthar, A. 1/25  
 Salajka, F. S/27  
 Skovajsová, M. 2/70, 6/213  
 Skříčková, J. S/2  
 Slabý, J. 5/163  
 Směkal, V. 4/135  
 Souček, P. 6/193  
 Soumarová, R. 6/214  
 Staňková, J. 1/20  
 Strnad, V. 2/59  
 Sulovská, I. 3/102  
 Svobodník, A. 4/135  
 Szűcs, M. 5/174  
 Šafanda, M. 6/202  
 Šarmanová, J. 6/193  
 Šeneklová, Z. 2/74  
 Ševčík, P. S/13  
 Šimíčková, M. 2/51, 6/197  
 Škarda, J. 5/170  
 Šlampa, P. 2/74  
 Šmelhaus, V. 1/20  
 Šnajdauf, J. 1/4  
 Špelda, S. S/2  
 Štefl, M. S/24  
 Šteková, J. 6/189  
 Tacev, T. 2/59  
 Tichý, T. 5/170  
 Tomiška, M. 1/8  
 Trněný, M. 5/163  
 Trojanec, R. 2/55  
 Tůžová, E. 2/46  
 Uldrijan, S. 1/25  
 Urban, M. 4/114  
 Urbanová, R. 3/102  
 Vagunda, V. 3/106  
 Vagundová, M. 2/51  
 Válek, V. S/24  
 Valík, D. 2/51  
 Válková, V. 5/163  
 Vášová, I. 3/90  
 Vermousek, I. 2/51, 6/197  
 Vetchá, H. 1/34  
 Vidláková, P. 2/46  
 Vodička, P. 6/193  
 Vodvářka, P. 2/39, 3/90  
 Vodvářková, Š. 5/163  
 Vojáček, P. 6/181  
 Vojtěšek, B. 1/25  
 Vondráček, J. 6/197  
 Vondráček, V. 2/51  
 Vondráková, J. 3/102  
 Vondřichová, H. 1/4  
 Vorlíček, J. 2/46, 3/79, 3/90, 6/207, S/2  
 Vorlíčková, H. 4/142, S/30  
 Vyžula, R. 4/135  
 Zachoval, R. 4/114  
 Záleský, M. 4/114  
 Záloudík, J. 4/135

## Věcný rejstřík

- Androgenní blokáda 4/109  
 Brachyterapie 2/59  
 Buněčná imortalizace 5/145  
 Californium 252 2/59  
 Cytokiny 5/154  
 Dávkování 1/8  
 Dendritické buňky 3/79  
 Dětské nádory 1/20, 1/4  
 Diagnostika 6/207  
 Erythropoetin 2/39  
 Etika 6/186  
 Etoposid 3/85  
 Farmakokinetika 1/8  
 Febrilní neutropenie S/20  
 Fluorescenční in situ hybridizace 5/157  
 Genetické faktory 6/186  
 Hepatozellulární karcinom 1/4  
 Her-2/neu 5/157  
 Hodgkinova choroba 2/65, 3/90  
 Charitativní běh 1/13  
 Chemoterapie 1/8  
 Chemoterapie 6/207  
 Hósfamid 3/85, 5/174  
 Imunomagnetická separace 2/46  
 Imunoterapie 3/79  
 Incidence 3/131  
 Karcinom čípku děložního 2/59, 4/122  
 Karcinom močového měchýře 4/119  
 Karcinom plic 1/31, 2/55, 5/170, S/2, S/7, S/10, S/13, S/20, S/24  
 Karcinom prostaty 4/109, 4/114, 4/119  
 Karcinom prsu 1/15, 2/65, 4/135, 5/157, 5/174  
 Karcinom prsu 6/202, 6/213  
 Kolorektální karcinom 2/50  
 Kolorektální karcinom 6/189  
 Kultivace fragmentů 1/25  
 Kvalita života S/27  
 Lamínokomie 1/20  
 Léčba bolesti S/13  
 Maligní pleurální výpotek S/16  
 Mammární diagnostika 2/65  
 MDM2 1/25  
 Melanom 1/25, 3/106, 5/179  
 Metabolismus léčiv 6/193  
 Mini ICE 6/202  
 Míšní komprese 1/20  
 Mnohočetný myelom 2/46, 5/178  
 Mukositida 3/96  
 Mutace 6/189  
 Nádorová hypoxie 2/39  
 Nádory jater 6/181  
 Nádory prsu 2/51  
 Nádory prsu 6/197  
 NeHodgkinský lymfom 2/65, 3/85, 3/90, 3/102, 5/163  
 Neoadjuvantní chemoterapie 2/55  
 Neuroblastom 1/20  
 Obezita 1/8  
 Onkolytické viry 6/181  
 Ošetřování pacientu S/30  
 p53 1/25, 5/145  
 Paclitaxel 5/174  
 Paliativní terapie 1/34, S/2, S/10, S/13  
 Periferní kmenové buňky 3/85, 3/96  
 Podpurná léčba S/7  
 Pomocné T lymfocyty 5/154  
 Predikce rizika 4/135  
 Primární mediastinální lymfom 2/65  
 Prognostické faktory 3/85, 3/102, 4/122  
 Prostatický specifický antigen 4/114  
 Předložení 6/197  
 Radioterapie 1/15, S/10  
 Selektce progenitoru 5/163  
 Selektivní adjuvantní chemoterapie 2/55  
 Sentinelová biopsie 3/106, 5/170, 5/177, 5/179  
 Spokojenost pacientu 4/114  
 Stenty S/24  
 Telomeráza 2/51, 5/145  
 Testikulární nádory 4/131  
 TNM klasifikace 1/19  
 Transplantace 3/96, 5/163  
 Vakcinace 3/79

# onkologické společnosti

## ZÁPIS ZE ZASEDÁNÍ VÝBORU ČOS JEP ZE DNE 16. 10. 2001

Přítomní: **prof. Klener, prof. Vorlíček, prof. Koutecký, doc. Petruželka, doc. Žaloudík, prim. Fischer, prim. Šmelhaus, prim. Jelínková, dr. Příbylová, dr. Drbal.**

### 1. Kontrola zápisu

Splněny všechny body, zbývá zpráva doc. Žaloudíka, který byl minule nepřítomen.

- doc. Žaloudík informoval o jednáních a zasedání přípravného výboru chirurgické sekce ČOS.  
V červnu 2001 zasedal přípravný výbor, přítomni zástupci výboru ČOS a chirurgické společnosti. Následně 19. 9. 2001 výbor projednal návrhy chirurgické společnosti, vyjádřil podporu ustanovení této sekce v rámci ČOS a styčnou osobou byl zvolen prof. Duda. Volby výboru sekce by měly proběhnout do konce roku 2001.
- Informace doc. Žaloudíka o schůzce na Mzd (13. 9. 01) a AV (18. 9. 01) týkající se devitalizace.  
Vstup pacientů do studie byl zastaven (celkem 45 nemocných, 21 kolorektální ca, 24 maligní melanom, 14 zemřelo s progresí nádoru, u žádného nebyly pozorovány známky regrese nádoru). Nebyly zaznamenány závažné projevy toxicity této metody.
- nelze zatím odpovědět na žádosti zdravotních radů z kraje Ústí a Liberec o doporučení odborných garantů pro obor. Není možno zjistit, kdo má odbornou kvalifikaci – atestaci v oboru klinická onkologie.

### 2. Stanovisko ke koncepci oboru klinická onkologie

Opraveny chyby, které byly na Webu MZ, na které již bylo poukazováno.

Změny a doplnění v poslední verzi koncepcce oboru:

Str. 6 D 23 Jiné nezhoubné novotvary kůže

Str. 7 přidává se: R 59 Lymfadenopatie

Str. 8 Právní předpisy výlučně se vztahující k oboru

Koncepcce oboru klinické onkologie. Metodické opatření č. 5

Věstník MZČSR část 1-4, z 30. 4. 1986 = stará koncepcce, ale dosud platí

Výnos MZČSR č.25/1978: Zavedení mezinárodní statistické klasifikace nemocí, úrazů a příčin smrti ve znění 10. revize z roku 1992

TNM klasifikace zhoubných novotvarů pro stanovení rozsahu onemocnění, 5. vydání 1997, česká verze 2000

MKN-O, Mezinárodní klasifikace nemocí-onkologie pro histopatologické a cytologické hodnocení Novotvarů.

2. vydání česká verze

Metodika NZIS-MN č.61 z roku 1999

Registr novotvarů . Pokyny vyplňování a sběr vstupních dat, ÚZIS 1986 (MKN dg 230-239 )

Výnos o dispensární péči o nemocné s přednádorovými stavy a novotvary a o povinném hlášení novotvarů. Věstník MZSV ČSR 3/1989 (sb.19/1988).

Sb. Zák. č. 58/97 o lázeňské léčbě.

Str. 15 Funkční specializace v klinické onkologii (ordinář) – náplň funkce ordináře bude stanovena pro jednotlivé obory individuálně .

Str 18 pod bod 3.4. a 3.6. doplnit SIOP

Opravy a doplnění a následné rozeslání všem členům výboru k připomínkování p. Amirouche.

### 3. Stanovisko ke koncepci oboru radioterapie

vypracuje a rozešle prim Fischer, doplňky dr. Drbal

4. **Mammární screening** - akreditační podmínky pro pracoviště mammárního screeningu s dodá doc. Žaloudík a doc. Petruželka.

### 5. Členská základna již činí 512 členů.

Byli přijati tito noví členové:

MUDr.Radek Malík, Onkologická klinika VFN

MUDr.Marcela Kuželová, Onkologické centrum, Zlín

MUDr.Wendrinski Adam, Baťova nem., Zlín

MUDr.Zábojníková Michaela, Baťova nem., Zlín

MUDr.Pospíšilová Markéta, Baťova nem., Zlín

MUDr.Bárková Jana, Baťova nem., Zlín

6. **Zvýšení částky na členské příspěvky.** Výbor odhlasoval zvýšení částky na členské příspěvky v roce 2002 na 300 Kč, tento poplatek bude zahrnovat předplatné Klinické onkologie

### 7. Informace

– ČLS udělila cenu Společnosti za rok 2000 monografii: Vorlíček J., Vyzula R. Onkologie pro praxi, nakl. Grada-Avicenum, Praha

– komise předsednictva ČLS JEP udělila v roce 2001 cenu ČLS JEP za nejlepší vědeckou práci doc. Abrahámové za publikaci Atlas nádorů prsu.

### 8. Pro příští rok přebírá výbor ČOS JEP zástítu nad akcemi: 18. – 19. 1. 2002 onkologie v gynekologii a mammologii, Brno Březen 2002 – IV. dny průtokové cytometrie

29. – 31. květen 2002 - BOD, program:

Den 1: NOR, Molekulární dg. SZP - preventivní onkologické vyšetření

Den 2: Kvalita a ekonomika péče, SZP - Kvalita a efektivita péče

Den 3: Onkochirurgie pánevních orgánů, SZP – Kvalita života

26. březen 2002 - VII. den prof. V. Staška

program: Úloha radioterapie u karcinomu prsu

Přednáškový sál Price Waterhouse Coopers,

Kateřinská 32, Praha 2

17.-20. 10. 2002 - JOD- IX. Jihočeské onkologické dny

Nádory čípku děložního, pochvy a vulvy, Český Krumlov

### 9. Korespondence:

a) Dr. Morávková, Dr. Šilhanová informovaly dopisem výbor ČOS o získání finančního krytí na překlad MKNO, Mzd na překlad uvolní peníze

b) Dr. Březovský- žádá seznam center komplexní onkologické péče - vyřízeno

c) UICC – kongres Oslo červen 2002

Návrhy na členy výkonného výboru reference na příští schůzi Dr. Drbal

d) Radiologická společnost žádá o zařazení mimo paušální platby u následujících výkonů: superselektivní mikroembolizace, zavádění port. katetru, termoablace tumoru. Výbor ČOS souhlasí.

### 10. Různé:

a) Informace o změně vedení v MOU – doc. Žaloudík je nyní zástupcem ředitele, tímto od 1.10.01 Doc. Vyzula.

b) Výbor ČOS byl požádán dr. Jelínkovou o iniciaci revize pravidel pro aplikaci trastuzumabu od ledna 2002

c) Dr. Jelínková navrhuje pro rekvalifikační náplň kurzu praktických lékařů následující témata: riziková onemocnění, vyloučení zhoubného novotvaru, základní principy onkologické terapie, léčba nežádoucích účinků, terapie bolesti.

Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., předseda

Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., vědecký sekretar