klinická onkologie

4/2002 ROČNÍK 15

15. srpna 2002

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

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

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

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:
Bohuslav Havlíček

Tiskne Moravská typografie, a. s.
Brno, Moravské náměstí 13
IČO 15549763

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

Expedici na základě roční objednávky vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
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 SPOLOČNOSTI

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
ŽALOUDÍK JAN

REDAKČNÍ RADA

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

OBSAH

4/2002

Přehled
Markuljak I.
Krvotvorné kmeňové bunky II (vlastnosti využitie) 121
Boudný V., Kocák I., Kovařík J.
Patogeneze transdukčních drah interferonových signálů a jejich význam pro predikci citlivosti nádor na imunoterapii 126
Pavlová Š., Mayer J., Šmardová J.
Nádorový suppresor p53 a leukemie 130
Tesařík Z.
Kontroverze v moderní léčbě pokročilého ovariálního karcinomu 136

Původní práce
Kulhavý M., Kindlová E., Sedláček A., Kaislerová J., Brychta M., Kovařík J.
Optimalizace distribuce dávky při radikální lokoregionální radioterapii karcinomu prsu 142
Bustová I.
Neoadjuvantní režim s mitoxantronem v léčbě lokálně pokročilého karcinomu prsu 145

Kazuistika
Poznarová A., Maisnar V., Rešl M., Krejsek J., Žák P., Malý J.
Malt lymfom s plicní lokalizací 148

Zprávy
Kocák I., Petráková K., Macková D.
Zpráva z 39.kongresu Americké společnosti klinické onkologie 153
Boudný V.
Zpráva ze sympozia EACR 17 v Granadě – 8.–11. června 2002 155

Informace
Šachlová M., Kosová M.
Vydávání „Občasníku", jako jedna z forem komunikace s pacientem 157
Vítová V
Vícečetné malignity 135
Holoubek I.
Otevřený dopis pro Hlavního hygienika ČR 125

Knihy 129

Pokyny autorům 158

Onkologické společnosti 160

CONTENTS

Reviews
Markuljak I.
Hematopoietic Stem Cells II. 121
Boudný V., Kocák I., Kovařík J.
Pathogenesis of the Transduction Pathways of Interferone Signals and their Significance for the Prediction of tumor sensitivity to Immunotherapy 126
Pavlová Š., Mayer J., Šmardová J.
Tumor suppressor p53 and leukemia 130
Tesařík Z
Controversies in the Modern Treatment of the Advanced Ovarian Cancer 136

Originál publication
Kulhavý M., Kindlová E., Sedláček A., Kaislerová J., Brychta M., Kovařík J.
Otimalization of Dosis Distribution in Radical Locoregional Radiotherapy of Breast Carcinoma 142
Bustová I.
Neoadjuvant chemotherapy with mitoxantrone in Treatment for locally advanced brest cancor 145

Case Report
Poznarová A., Maisnar V., Rešl M., Krejsek J., Žák P., Malý J.
Malt lymphoma with pulmonary localization 148

Report
Kocak I., Petráková K., Macková D.
Report of the 39th Congress of the Americal Socety for Clinical Oncology 153
Boudný V.
Report from the 17th Meeting of the European Association of Cancer Research
Granada, Spain June 8-11,2002 155

Information
Šachlová M.
Publishing of Occasional News –„Občasník" 157
Vítová V.
Multiple Malignancis – some Experiences from other Countries 135
Holoubek I.
Open Letter to the Chief Hygienist of the Czech Republic 125

Books 129

Instructions for authors of Klinická onkologie 158

Oncological association 160

KRVOTVORNÉ KMEŇOVÉ BUNKY II.

(VLASTNOSTI A VYUŽITIE))

HEMATOPOIETIC STEM CELLS II.

(CHARACTERIZATION AND THEIR USE)

MARKULJAK I.

Súhrn: Na základe rôznych štúdií z ostatných 3 desaťročí je regulácia KKB vysoko organizovaný proces pod kontrolou extracelulárnych a intracelulárnych mechanizmov. KKB existujú v špeciálnych miestach („niches"), kde stromálne bunky, rôzne molekuly ako napr. cytokíny, extracelulárna matrix, chemokíny, adhezívne molekuly predstavujú rovnováhu signálov, ktoré chránia pool KKB a zároveň umožňujú ich regulovanú proliferáciu a diferenciáciu. Určenie in vitro podmienok, ktoré umožnia regulovať sebaobnovu a diferenciáciu KKB in vitro je veľkou výzvou v posledných rokoch a v ostatnom čase sa dosiahol určitý úspech v zmnožení KKB. KKB sa javia ako vhodný cieľ pre génovú terapiu. Akýkoľvek pokrok v tejto oblasti by umožnil nový pohľad na vznik hematologických malignít ktoré primárne postihujú KKB. Nové znalosti by mohli prispieť k vývoju efektívnejšej a špecifickejšej terapie rôznych malígnych aj nemalígnych hematologických ochorení.

Kľúčové slová: Krvotvorné kmeňové bunky, ex vivo expanzia, génová terapia, mobilizácia, usídlenie

Summary: Based on a number of studies performed in the last three decades the regulation of hematopoietic stem cell (HSC) biology is highly integrated process under control of extracellular and intracellular mechanisms. HSC may exist in stem cell niches, where stromal cells and various molecules such as cytokines, extracellular matrix, chemokines, adhesion molecules provide the appropriate balance signals that preserves the HSC pool while permitting controlled proliferation and differentiation. Identification of in vitro conditions that would enable to regulate self-renewal and differentiation in vitro has been a major challenge in the last few years and some success occured recently in HSC expansion. HSC seem to be a favourite target in attempt to implement gene therapy. Any progress in this area would give new insights into developement of some hematological malignancies that are thought to originate at the pluripotent stem cell level. New knowledge could result in the developement of more efficient and more specific therapy of various malignant and nonmalignant hematological disorders.

Key words: Hematopoietic stem cells, ex vivo expansion, gene therapy, homing, mobilization

ZACHOVANIE POTENCIÁLU SEBAOBNOVY

Veľkou limitáciou na široké využitie KKB je relatívne nízka úroveň našej znalosti, ohľadom udržania týchto buniek in vitro bez straty ich schopnosti dlhodobého multilíniového rastu a diferenciácie - vlastností potrebných pre ich klinické využitie. Molekuly ktoré udržujú stav bunky na úrovni kmeňovej bunky sa len začínajú identifikovať. Patria medzi ne ligandy Notch rodiny receptorov, ktoré pôsobia zvonka a faktory ako PIE-1, ktoré pôsobia zvnútra bunky (1). Poznatky v tejto oblasti rozširujú aj výskumy s embryonálnymi kmeňovými bunkami (ES). Známa črta ES buniek je ich schopnosť udržať v kultúre nediferencovaný stav za prítomnosti vysokých koncentrácií cytokínov IL-6 rodiny, ktorých biologická aktivita je sprostredkovaná receptormi, ktoré majú všetky spoločný reťazec - gp-130 (2). Dimerizácia gp-130 faktorom inhibujúcim leukémiu (LIF) indukuje aj MAPK (Ras-mitogen activated protein kinase) aj JAK/STAT cesty. Nedávne výskumy poukazujú, že práve stupeň aktivácie STAT-3 je kritický pre zachovanieblokády diferenciácie ES buniek. Prahová hladina aktivácie je teda esenciálna pre sebaobnovu ES navodenou faktorom inhibujúcim leukémiu (3). Na udržanie blokády diferenciácie musia ES exprimovať ešte transkripčný faktorOct 4 (4). Zistilo sa, že aktivácia STAT-3 prispieva k onkogenéze a/alebo inhibícii apoptózy. Napr. u väčšiny pacientov s mnohopočetným myelómom je trvalo aktivovaná STAT-3 v bunkách KD. V prípade myelómu aktivácia nastáva prostredníctvom IL-6 - čo indukuje intracelulárny signál - po fosforylácii JAK, STAT-3 dimerizuje, premiestňuje sa do jadra a aktivuje transkripciu cieľových génov. Aktiváciou STAT-3 u myelómu sa zvyšuje rezistencia buniek na apoptózu indukciou Bcl-XL(5).

Prevalencia gp-130 sprostredkovaných odpovedí v rôznych systémoch kmeňových buniek, vrátane HSC spolu s dokumentovanou dôležitosťou JAK/STAT signalizácie v hemopoéze ukazuje, že regulácia diferenciačného rozhodnutia KKB touto rodinou cytokínov môže byť široko (všeobecne) konzervovaná (2).

Štúdie z posledných rokov poukazujú na to, že permanentná alterácia genetického programu transformovaných buniek, dosiahnutá konštitutívnou aktiváciou STAT proteínov je kritickým krokom v procese malígnej transformácie (3). Niektoré JAK a STAT proteíny sú tiež konštitutívne aktivované v hemopoetických bunkách, transformovaných rôznymi onkogénnymi tyrozínkinázami, ako aj u rôznych lymfómov a leukémií, vrátane tých, ktoré sú transformované onkogénnymi vírusmi (3), viď tab.1.

Porucha na úrovni JAK-STAT môže viesť aj k neodpovedavosti nádoru na inhibítor - IFN alfa. Bolo napr. zistené, že u vyšetrených pacientov s CTCL (kožný T-lymfóm) úplne chýbala STAT-1 expresia, čo bolo zistené aj na IFN rezistentnom malígnom melanóme (3).

Dôležitú odpoveď na mnohé otázky môže dať štúdium expresie homebox génov v ľudských hemopoetických bunkách. Rôzni členovia homebox rodiny transkripčných faktorov boli zistení v rôznych subpopuláciách CD34+ buniek KD. Zvýšená expresia HOXB4 v myších KB rezultovala v pozoruhodnej expanzii buniek s lymfo-myeloidným dlhodobým repopulačným potenciálom. HOX gény v biológii KB sú zvlášť pozoruhodné, lebo sú skôr známe ako dôležité regulátory v embryogenéze (6).

Hoci sa v poslednom čase objavilo viacero transkripčných faktorov, ako napr. GATA-2, Tcf4, Oct4, Mash1, LH2 a SCL/tal-1, ktoré sa zdajú, že udržiavajú rôzne progenitorové bunky na úrovni kľudového stavu, je potrebné zistiť, ako sú tieto transkripčné faktory regulované a akým mechanizmom pôsobia na kmeňové bunky pri zachovaní ich pluripotentného stavu (4).

Tab. 1: Niektoré malígne ochorenia a konštitutívna aktivácia JAK/STAT u nich zistená.

Lymfóm	aktivovaná STAT alebo JAK
CTCL	JAK 3, STAT 3, 5
MF	STAT 3
Herpesvírus saimiri dependent	STAT 3
EBV-related	STAT 1, 3
Leukémia	
Erytroleukémia	STAT 1, 5
AML	STAT 1, 3, 5
CML	STAT 5
ALL	STAT 1, 5
AML M_7	STAT 5
HTLV dependent T-cell leukémia	JAK 1, 3STAT 3, 5

Skratky: CTCL - cutaneus T-cell lymphoma, MF - mycosis fungoides, EBV - Epstein-Barr vírus, AML - akútna myeloidná leukémia, ALL - akútna lymfoblastová leukémia, HTLV - human T-leukaemia/lymphoma virus (3).

Nedávno bolo zistené, že expresia telomerázy koreluje s potenciálom sebaobnovy hemopoetických buniek. U KKB bolo zistené postupné skracovanie teloméry s vekom (s každým delením strácajú telomerickú DNA). Takto telomeráza môže regulovať potenciál sebaobnovy redukciou rýchlosti skracovania DNA (7). Teloméry sú nekódujúce sekvencie DNA, charakterizované mnohopočetným opakovaním motívu TTAGGG. Telomeráza je enzým charakteru ribonukleoproteínu, ktorý je schopný predlžovať teloméry (8). U väčšiny normálnych somatických buniek je telomerázová aktivita nízka, alebo chýba a telomerická DNA sa následne stráca po proliferácii in vitro a u deliacich buniek in vivo s vekom. Progresívne skracovanie telomér bolo pozorované u takmer všetkých somatických buniek, vrátane primitívnych KKB z KD dospelého. Tieto pozorovania ukazujú, že expresia funkčnej telomerázy a potreba telomerázy by mohla byť obmedzená na bunky zárodočnej línie a niektoré nádorové línie. Obmedzená životnosť väčšiny krvných buniek vyžaduje trvalú produkciu buniek - u dospelého človeka to môže byť viac ako 10^{12} buniek za deň. Táto ohromná produkcia (do $4x10^{16}$ buniek počas života) je dosiahnutá proliferáciou a diferenciáciou progenitorových buniek, ktoré pochádzajú z KB s potenciálom sebaobnovy (6). Paradoxne ale, veľká väčšina KB v KD dospelého je v necyklujúcom stave - predpokladá sa teda, že KKB má obmedzený počet delení (teoreticky $4x10^{16}$ buniek sa vyprodukuje 54 deleniami jednej KB). Zatiaľ nie je známe, koľkokrát sa môže KKB rozdeliť - možno od menej ako 100 až po viac ako 5000 krát (6).

MIKROPROSTREDIE.

Na udržanie a reguláciu hemopoézy sú nevyhnutné regulačné molekuly a lokalizačný fenomén v bunkovej stróme. KB môžu existovať v špeciálnych miestach v mikroprostredí KD in vivo, kde stromálne bunky, zložky špecifickej extracelulárnej matrix, cytokíny - viazané na extracelulárnu matrix alebo stromálne bunky a adhezívne molekuly predstavujú rovnováhu signálov, ktorá chráni pool KB a zároveň riadi ich proliferáciu a diferenciáciu (7, 9). Stromálne bunky predstavujú fibroblasty, adipocyty, endotelové bunky, ako aj hemopoetické bunky - makrofágy. Tieto bunky produkujú množstvo rôznych cytokínov dôležitých v biológii KB (FL, SCF, TPO...). V kultúre stimuluje tieto bunky do produkcie rast stimulujúcich molekúl napr. IL-1 a platelet derived growth factor (PDGF) (10).

U dospelého asi 10% buniek KD je organizovaných v kompaktných agregátoch - *hematonoch.* V hematone sa nachádzajú mezenchymálne bunky, perivaskulárne lipocyty, endotelové bunky a makrofágy, ktoré sú tu v kontakte s LTC-IC, CAFC, HPP-CFC (high proliferative potential - colony forming cell), CFU-GM, BFU-E. Frakcia buniek z hematonu je 3,7 násobne obohatená o 35 dňové LTC-IC oproti bunkám z buffy coatu, tvorí viac CFU-GM a HPP-CFC v myeloidnej kultúre a viac B-lymfocytov v lymfopoetických kultúrach (11). Dôležitú úlohu má pravdepodobne aj inervácia KD, o čom je zatiaľ málo informácií v literatúre. Podľa Iversena a spol. (12) množstvo LTC-IC buniek u plegických pacientov z denervovanej KD bolo v priemere o polovicu nižšie ako u tých istých pacientov z KD nepostihnutej denerváciou a u kontrolnej skupiny zdravých osôb.

Gupta a spol. (9) zistili že pri kultivácii in vitro O-sulfurované heparan sulfát glykozaminoglykany (HSGAG) produkované stromálnymi bunkami napomáhajú vzniku („niches“) kmeňových buniek lokalizovaním špecifických heparín-viažúcich proteínov s KKB, čím regulujú kontrolovaný rast a diferenciáciu KB. Zistili tiež, že pri kultivácii bez prítomnosti stómy kombinácia špecifických HS GAG s IL-3 a MIP-1 alfa (alebo PF4 - doštičkový faktor 4) je dostatočná na udržanie väčšiny vstupných LTC-IC do 5 týždňov v kultúre. Expanzia je možná pridaním rast podporujúcich RF (9). Ďalšie heparín viažúce proteíny dôležité v biológii KB sú basic fibroblast growth factor (bFGF), hepatocyte growth factor (HGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), trombospondín, fibronektín. Nie je úplne jasné, ako GAG modulujú udržanie LTC-IC. Predpokladá sa, že GAG lokalizujú cytokíny a proteínovú matrix s KKB a modulujú aktivitu cytokínov (9).

HOMING (USÍDLENIE).

Homing je schopnosť buniek selektívne nájsť strómu KD, následne sa tam usídliť a zahájiť hemopoézu (13). Tento proces je nepochybne sprostredkovaný prostredníctvom mnohopočetných spoznávacích a adhezívnych udalostí.

Progenitorové bunky KD a PK exprimujú rôzne adhezívne molekuly - integríny, selektíny, selektínové ligandy. Integríny $beta_1$ VLA-4 a $beta_2$ LFA-1 sa nachádzajú viac na KB v KD. Sú znížené u cirkulujúcich progenitorov. Endotelové bunky a stromálne bunky exprimujú VCAM-1 a ICAM-1 (adhezívne molekuly patriace do veľkej imunoglobulínovej rodiny), ktoré sú ich ligandy. Protilátky proti VLA-4 a VCAM-1 inhibujú homing KB do KD (14). Bolo zistené, že pri homingu je vysoký stupeň špecificity interakcie, potrebný pre správne „nasmerovanie“ bunky. Za to zodpovedajú komplexné sacharidy. Molekuly, ktoré dekódujú informáciu sprostredkovanú sacharidmi sú proteíny-lektíny. Hardy a spol. (13) uvádza, že rozpoznanie a následná adhézia KKB stromálnymi bunkami je sprostredkovaná homing lektínom s galaktozyl/manozylovou špecificitou (sacharidovo-lektínovou interakciou) (13). O dôležitosti selektínov pri homingu svedčí aj práca (Dercksen a spol.)(15), podľa ktorej počet podaných $CD34^+$ buniek exprimujúcich L-selektín pri transplantácii KB koreluje s rýchlosťou obnovy trombopoézy u pacientov po vysokodávkovanej chemoterapii.

Zaujímavá sa naskytá otázka, či sú rôzne molekulové mechanizmy pri usídlení a/alebo prihojení (engraftmente) u KB z rôznych zdrojov (periférnej krvi, KD, pupočníkovej krvi). Transplantabilita buniek z rôznych zdrojov nie je rovnaká a sú potrebné výskumy na zodpovedanie tejto otázky (13).

Pri migrácii a usídlení KKB sa udávajú ako dôležité chemokínové molekuly - napr.stromal derived factor-1 (SDF-1), EB 11 ligand, CK beta-11 (MIP-3 beta) sa zúčastňujú in vitro chemotaktickej migrácie primitívnych buniek KD a pupočníkovej krvi a účinkujú synergicky so SCF (16). Väčšina chemokínov pôsobí na zrelé bunky (napr. IL-8 na granulocyty), ale SDF-1, ktorý je produkovaný stromálnymi bunkami (ale aj bunkami iných tkanív) je chemotaktickým faktorom zároveň pre progenitorové bunky (14). Výskumy na myši „nulovej“

pre chemokínové receptory ako CXCR4 (receptor pre SDF-1), CXCR2 (receptor pre IL-8) a CCR-1 (receptor pre MIP-1 alfa) ukazujú, že tieto chemokínové receptory sa zúčastňujú migrácie primitívnych buniek (16).
Procesu adhézie sa môže zúčastňovať aj RF, naviazaný na povrchu buniek (napr. SCF na stromálnych bunkách) (14). Tohoto procesu sa pravdepodobne zúčastňuje aj molekula CD34 naviazaná na povrchu KB - jej ligandom je L-selektín (14).

MOBILIZÁCIA
Presun kmeňových a progenitorových buniek z kostnej drene do periférnej krvi sa nazýva mobilizácia progenitorových a kmeňových buniek (14).
Pozoruhodnou črtou mobilizácie KKB je rôznorodosť stimulačných agensov, ktoré zahrňujú: RF, cytotoxické látky a niektoré chemokíny. Medzi chemokíny patria MIP-2, IL-8, BBl00l0 (geneticky vytvorený MIP-l alfa). Čiastočný zoznam RF: G-CSF, GM-CSF, IL-7, IL-12, FL, TPO, SCF. Zvláštnosť tejto skupiny je hlavne v rôznorodosti čo sa týka cieľových buniek na ktoré pôsobia. Napr. RF, ktoré predominantne účinkujú na bunky myeloidného radu (G-CSF), na lymfocyty (IL-7), na megakaryocyty (napr. TPO), sú všetky potentné mobilizačné agensy. Spoločné črty pôsobenia RF: l. Kinetika hemopoetických progenitorových buniek (HPB) je po ich podaní podobná s dosiahnutím vrcholu cirkulujúcich HPB (5-500 násobné zvýšenie počtu oproti hodnote pred mobilizáciou) všeobecne po 7-10 dňoch od začatia mobilizácie RF. 2. Mobilizuje sa široké spektrum HPB vrátane primitívnych pluripotentných buniek, ako aj zadaných myeloidných, erytrocytových a megakaryocytových progenitorov. 3. Mobilizované bunky majú iné črty ako HPBz KD - viac ich je v kľudovom stave bunkového cyklu, expresia VLA-4 a c-kit je znížená u mobilizovaných buniek.
Bolo zistené, že mobilizácia G-CSF, Cyklofosfamidom a IL-8 je závislá na G-CSFR (receptor pre G-CSF). Toto ale neplatí pre mobilizáciu FL (18).

EX VIVO ZMNOŽENIE (EX VIVO EXPANZIA)
Transplantácia KKB je definitívne kuratívna metóda pre rôzne malígne a vrodené ochorenia a zabezpečuje obnovu myelopoézy pre pacientov po vysokodávkovanej chemoterapii. Transplantácia KKB je však limitovaná viacerými faktormi:
l. Na získanie dostatočného množstva KB sú potrebné náročné procedúry - operačne zber KB z KD alebo aferézy.
2. Aj za týchto podmienok je počet požadovaných buniek limitovaný.
3. Kinetika regenerácie zrelých krvných buniek po transplantácii KB nie je ideálna, preto tieto bunky majú malý priamy terapeutický efekt na obdobie od l do 3 týždňov (19).

V ostatnej dobe je snaha tieto limitácie odstrániť zvýšením počtu proliferácií primitívnych hemopoetických buniek pred ich podaním prostredníctvom ich kontrolovanej ex vivo kultúry. Tieto techniky zapadajú do termínu **ex vivo expanzia (zmnoženie) KB.**
Dodnes nie sú definované podmienky, za ktorých môžu byť tieto manipulácie využité, ani mechanizmy účinku na celulárnej úrovni. V poslednej dobe sa pri zmnožení KKB dosiahol určitý úspech (2). Napr. Kanai a spol. (20) dosiahol zmnoženie SRC kultiváciou so stromálnou líniou MS-5 a kombináciou cytokínov FL a TPO. Dôvod, prečo niektorí autori začali mať v tomto smere úspech môžu byť v spoločných rysoch metodológie ich postupov. K nim patrí:
– iniciácia kultúry s relatívne nízkou koncentráciou buniek, ktoré sú obohatené o HSC
– častá výmena média
– interakcia HSC so zvláštnymi stromálnymi bunkami
– použitie veľmi vysokých koncentrácií niektorých cytokínov (2).

Objav a klonovanie rôznych RF otvorilo cestu k rôznym postupom manipulovania hemopoézy pre klinické využitie. Boli vyvinuté rôzne bunkové stromálne línie, ktoré podporujú hemopoézu (20). Tieto bunkové línie imitujú prostredie KD a v kultúrach s týmito bunkami dochádza podobne ako in vivo k interakcii KKB a stromálnych buiniek. Je dôležité zahájiť kultiváciu purifikovanou frakciou napr. $CD34^+$ buniek (21). Pri niektorých ochoreniach ako napríklad CML (chronická myeloidná leukémia), plazmocytóm, atď. je táto frakcia kontaminovaná nádorovými bunkami, preto sa pri týchto ochoreniach odporúča selektovať ešte primitívnejšie subfrakcie - $CD34^+Thy\text{-}1^+Lin^-$ u myelómu a CD^{34}+HLA-DR^- u CML (7).
Ex vivo zmnoženie môže prebiehať aj bez prítomnosti stromálnych buniek s využitím kombinácie RF. Existuje veľa možností kombinácií RF ako aj ich koncentrácií. Rôzni autori udávajú preto rôzne „optimálne" podmienky. Väčšina autorov používa FL, SCF, IL-3, z ďalších RF sa využívajú včasne pôsobiace - napríklad IL-11, IL-6,G-CSF, TPO, GM-CSF (20, 21).
Ex vivo zmnoženie sa využíva aj u zrelších hematopoetických buniek - napr. na zmnoženie cytotoxických efektorových buniek, buniek prezentujúcich antigén (APC), dendritických buniek - za účelom imunoterapie nádorov ex vivo manipulovanými cytotoxickými bunkami alebo v expanzii APC - buniek schopných zahájiť proces imunitnej odpovede (7).

GÉNOVÁ TERAPIA
Počas ostatných 2 dekád sa vyvinulo veľké úsilie za účelom liečby ľudských chorôb nahradením nefunkčných génov v bunkách alebo opravou mutácií, ktoré spôsobujú chorobu. Úspešná aplikácia týchto metód by mohla viesť ku efektívnej terapii rôznych genetických a získaných chorôb, z ktorých mnoho je dnes nevyliečiteľných.
Gény môžu byť vpravené do buniek buď pomocou vírusových vektorov, lebo majú schopnosť preniesť DNA do hostiteľskej bunky, alebo nevírusových metód, ktoré sú však menej efektívne v tomto smere (22). Bežnou technikou je využitie retrovírusu, v ktorom vírusový štruktúrny gén je nahradený klonovaným génom, ktorý chceme „preniesť" do cieľových buniek. Zmenený vírus je potom použitý ako vektor, ktorý premiestni klonovaný gén do kultivovaných buniek. Vzhľadom na vlastnosti retrovírusov sa rekombinantná DNA integruje do celulárneho genómu s vysokou frekvenciou. Alternatívnou metódou je komplexovanie s kalcium fosfátom. Komplex kalcium fosfát-DNA pomaly precipituje do buniek a DNA sa premiestni do malého percenta buniek. Iná transfekčná metóda je elektroporácia, pri ktorej elektrický náboj vytvára póry v membránach buniek, cez ktoré je klonovaná DNA premiestnená do bunky. U posledne menovaných metód dochádza k prenosu do evidentne náhodných miest v DNA malého počtu buniek (23).
KKB sú vzhľadom na svoje vlastnosti vhodným terčom v pokusoch o génovú terapiu. KKB môžu byť čiastočne purifikované z PK, KD, pupočníkovej krvi, transdukované s génmi a potom vrátené naspäť do organizmu. Hocijaké genetické ochorenie, ktoré odpovedá na alogénnu TKD, by malo odpovedať na génovú terapiu.
Najvhodnejšou indikáciou na transdukciu génov do KKB sa javí korekcia vrodených ochorení. Tabuľka 2. ukazuje ochorenia úspešne liečené alogénnou TKB:

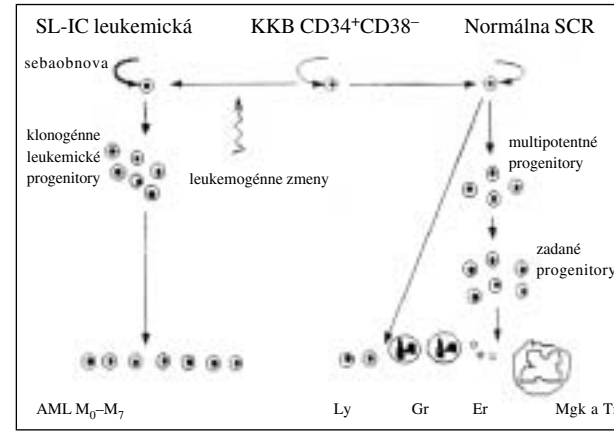
Tab. 2. Niektoré vrodené ochorenia úspešne liečené alogénnou transplantáciou KKB (22).

Línia najviac postihnutá	Ochorenie
Lymfocytová	SCID
Erytron	Talassémia major
Erytron	Kosáčikovitá anémia
Granulocytová	Chronická granulomatózna choroba
Trombocytová	Wiscott-Aldrichov syndróm
Makrofágová	Gaucherova choroba
Osteoklasty	Osteopetróza

Ďalšími potencionálnymi indikáciami pre génový transfer sú korekcie získaných defektov, zvlášť tých, ktoré vedú k neoplázii a liečba niektorých infekčných ochorení - napríklad AIDS. „Vloženie“ génu, ktorý buď pôsobí proti onkogénu alebo poškodzuje jeho mRNA by mohol byť takýmto terapeutickým prístupom. Experimentálne bola táto metóda skúšaná vložením protismerných génov, ktoré neutralizujú produkt onkogénu ako napr. bcr/abl, alebo prostredníctvom ribozýmu, ktorý štiepi prekážajúci transkript. Gény, ktoré produkujú inhibítory HIV by mohli byť prísľubom v liečbe AIDS.
Použitím hoci aj moderných zberových techník, ktoré mobilizujú KKB, ich počet predstavuje len malé percento KKB v tele. Keďže KKB sú prevažne nedeliace sa bunky, prevdepodobnosť prenosu je nízka. Preto počet transdukovaných kmeňových buniek je veľmi nízky v pomere k celkovému počtu KKB v organizme. Len malé množstvo buniek by mohlo mať dobrý efekt u pacientov napr. s chronickou granulomatóznou chorobou (CHGD) a deficitom adenozíndeaminázy. Napr. u CHGD sa odhaduje, že iba 5% plne funkčných neutrofilov by mohlo udržať rozhodujúcu ochranu proti infekcii a oxidázová aktivita iba v 3-5% buniek je združená s miernym fenotypom (22).

PATOLOGICKÉ KMEŇOVÉ BUNKY.
Viaceré hematologické malígne ochorenia sa pokladajú za ochorenia KKB - napr. chronická myeloidná leukémia (CML) (24), väčšina akútnych myeloidných leukémií (AML) s výnimkou M3 FAB (25) , 5q- syndróm (26)...
U 5q- syndrómu u niektorých pacientov veľká frakcia pro-B (CD34+CD19+) progenitorov bola súčasťou 5q- klonu. KKB s lymfo-myeloidným potenciálom sa teda zdajú byť primárnym terčom postihnutia u 5q- syndrómu. U MDS s trizómiou 8 a monozómiou 7 veľký počet FISH štúdií ukázalo, že lymfocyty sú len v málo prípadoch postihnuté. Vyšetrenie lymfocytov však nemusí byť odpoveďou na to, či je postihnutá pluripotentná KB, keďže niektoré patologické KB môžu mať zablokované vyzrievanie do tohoto radu. U všetkých pacientov s 5q- syndrómom FISH analýza purifikovaných $CD34^+CD38^-$ buniek (v tejto frakcii sa nachádza väčšina KKB) ukázala, že takmer všetky bunky mali 5q deléciu (26).
Pri malígnom myelóme sa viacerými štúdiami zistilo, že najmenej diferencované bunky malígneho klonu ($CD34^+/CD19^+$, $CD19^+/PGP^+$- P-glykoproteín) v periférnej krvi môžu reprezentovať hlavný rezervoár patologických kmeňových buniek, ktoré sú rezistentné na liečbu (27).
Bonnet a spol. (25) dosiahol prihojenie AML leukemických buniek u SCID myší len purifikovanou frakciou leukemických buniek $CD34^+CD38^-$. Purifikovanou frakciou $CD34^-$ buniek alebo $CD34^+CD38^+$ buniek k prihojeniu v žiadnom prípade nešlo. Išlo o blasty AML M1 - M5 FAB. Výnimku z týchto podtypov AML bola M3, ktorej blasty nedokázali engraftovať SCID myši a najprimitívnejšia frakcia AML M3 blastov bola $CD34^+CD38^+$, čo je frakcia zrelších, už zadaných buniek. Bunky zodpovedné za prihojenie boli nazvané SCID leukemia-initiating cell (SL-IC). Tieto bunky engraftovali SCID myši aj v prípadoch, keď počet $CD34^+$ buniek z populácie blastov bol veľmi nízky - napr. vo vzorke pacienta s AML-M4 bolo$CD34^+$ buniek len 2% (25). SL-IC dokázali v myšiach vyzrievať do blastov, čo poukazuje na hierarchickú organizáciu leukemického klonu (obr. 1.).
U CML sa na základe dlhodobých kultúr zistilo, že patologické LTC-IC proliferujú pomalšie ako normálne LTC-IC, ale

Obr. 1. Model porovnávajúci organizáciu normálneho a AML hemopoetického systému.



Podľa Bonneta a spol. (25) leukemogénna udalosť (udalosti) vzniká na úrovni primitívnej KKB. Dôsledkom toho bunka zvyšuje svoju schopnosť sebaobnovy a naruší sa jej normálny vývojový program tak, že sa normálne línie nevyvíjajú. Táto leukemická KB je dokázateľná v SL-IC eseji na báze iniciácie AML po transplantácii NOD/SCID myši. SL-IC produkuje klonogénne leukemické progenitory (AML-CFU), ktoré produkujú leukemické bunky. Tento model ukazuje, že AML klon je organizovaný hierarchicky s mnohými podobnosťami s normálnym systémom. Skratky: Ly-lymfocyty, Gr-granulocyty, Er-erytrocyty, Mgk-megakaryocyty, Tr-trombocyty, AML-akútna myeloidná leukémia.

proliferujú na rozdiel od normálnych trvale a je teda porucha regulácie ich sebaobnovy. Zistilo sa, že patologické kmeňové bunky u CML nereagujú na inhibíciu MIP-1 alfa ako normálne KB. Na TGF reagujú ale podobne ako normálne KKB (24).

ZÁVER
Konečný cieľ pre molekulárnu medicínu je nasmerovať multipotentné ľudské bunky s vysokou proliferačnou kapacitou do špecifických diferenciačných programov v organizme. Ak sa toto stane možné v blízkej budúcnusti a všetko nasvedčuje tomu, že to možné bude, otvorí sa množstvo terapeutických postupov. Ako zdroj buniek by mohli byť ES, čo je ale významný etický problém čo sa týka ľudských buniek. Jedna možná cesta, ako obísť tento problém je začať s multipotentnými KB izolovanými z tkanív dospelého človeka a „nasmerovať“ ich in vitro do špecifických línií a pritom zachovať ich proliferačný potenciál (4). Využitie v praxi by mohlo byť napr. v generácii rôznych typov neurónov pri liečbe Alzheimerovej choroby, poraneniach miechy, alebo Parkinsonovej chorobe, produkciou buniek srdcového svalu pre pacientov po prekonení infarktu myokardu, produkcia inzulín-sekretujúcich buniek pankreasu pri liečbe niektorých typov diabetes mellitus, alebo dokonca v generácii dermálnej papily alebo KB vlasového folikulu za účelom liečby niektorých typov alopécie (2). Produkcia prakticky neobmedzeného množstva rôznych typov krvných buniek, vrátane KKB, by mohla znamenať prevratné zmeny v liečbe hematoonkologických ochorení.
Hoci efektívna génová terapia u ľudí bola len unikajúcim cieľom, posledné pokroky v tejto oblasti nás vedú k nádeji, že tento cieľ bude zrealizovaný v priebehu nasledujúcich niekoľkých rokov (22).

Literatúra

1. Morrison S. J., Shah N. M., Anderson D. J.: Regulatory Mechanisms in Stem Cell Biology. Cell, 88, 1997, 287-298.
2. Zandstra P. W., Lauffenburger D. A., Eaves C. J.: A ligand-receptor signaling threshold model of stem cell differentiation control a biologically conserved mechanism applicable to hematopoiesis. Blood, 96, 2000, 1215-1222.
3. Ward A. C., Touw I., Yoshimura A.: The Jak-Stat pathway in normal and perturbed hematopoiesis. Blood, 95, 2000, 19-29.
4. Fuchs E., Segre J. A.: Stem Cells: A New Lease on Life. Cell, 100, 2000, 143-15.
5. Kawamura Ch., Kizaki M., Yamato K. et al.: Bone morphogenetic protein-2 induces apoptosis in human myeloma cells with modulation of STAT-3. Blood, 96, 2000, 2005-2011.
6. Lansdorp P. M.: Molecular Aspects of Stem Cell Renewal. In: Thomas E. D., Blume K. G., Forman S. J.: Hematopoietic Cell Transplantation. Blackwell science, 1999, 58-62.

7. Aglietta M., Bertolini F., Carlo-Stella C.,et al.: Ex vivo expansion of hematopoietic cells and their clinical use. Hematologica, 83, 1998, 824-848.
8. Klener P.: Protinádorová chemoterapie. Galén: 1996, 614.
9. Gupta P., Oegema T. R. Jr., Brazil J. J. et al.: Human LTC-IC can be maintained for at least 5 weeks in vitro when Interleukin-3 and single chemokine are combined with O-sulfated heparan sulfates: requirement for optimal binding interactions of heparan sulphate with early-acting cytokines and matrix proteins. Blood, 95, 2000, 147-185.
10. Sutherland H. J., Hogge D. E., Eaves C. J.: Characterization, quantitation and mobilization of early hematopoietic progenitors: Implications for transplantation. Bone Marrow Transplantation, 18, 1996, S1-S4.
11. Blazsek I., Chagraoui J., Peault B. et al.: Ontogenic emergence of the hematon, a morphogenetic stromal unit that supports multipotential hematopoietic progenitors in mouse bone marrow. Blood, 96, 2000, 3763-3771.
12. Iversen P. O., Hjeltnes N., Holm B. et al.: Depresseed imunity and impaired proliferation of hematopoietic progenitor cells in patients with complete spinal cord injury. Blood, 96, 2000, 2081-2083.
13. Hardy Ch. L., Megason G. C.: Specificity of hematopoietic stem cell homing. Hematological Oncology, 14, 1996, 17-27.
14. Kanz L., Brugger W.: Mobilization and Ex Vivo Manipulation of Peripheral Blood progenitor Cells for Support of High-Dose Cancer Therapy. In: Thomas E. D., Blume K. G., Forman S. J.: Hematopoietic Cell Transplantation. Blackwell science, 1999, 455-468.
15. Dercksen M. W., Gerritsen W. P., Rodenhuis S. et al.: Expresion of Adhesion Molecules on CD 34+cells: CD 34+L-Selectin+ Cells Predict a Rapid Platelet Recovery After Peripheral Blood Stem Cell Transplantation. Blood, 85, 1995, 3313-3319.
16. Broxmeyer H. E., Smith F. O: Cord Blood Stem Cell Transplantation. In: Thomas E. D., Blume K. G., Forman S. J.: Hematopoietic Cell Transplantation. Blackwell science, 1999,431-443.
17. Baumheuter S., Singer M. S., Henzel W., et al.: Binding of L-Selectin to the Vascular Sialomucin CD34. Science, 262, 1993, 436-438.
18. Liu F., Poursine-Laurent J., Link D. C.: Expresion of the G-CSF receptor on hematopoietic progenitor cells is not required for their mobilization by G-CSF. Blood, 95 2000, 3025-3031.
19. Emerson S. G.: Ex vivo expansion of hematopoetic precursors, progenitors, and stem cells: The next generation of cellular therapeutics. Blood, 87, 1996, 3082-3088.
20. Kanai M., Hirayama F., Yamaguchi M.: Stromal cell-dependent ex vivo expansion of human cord blood progenitors and augmentation of transplantable stem cell activity. Bone Marrow Transplantation, 26, 2000, 837-844.
21. Haylock D., Simmons P., To L. B., Juttner Ch.: Growth Factors and Ex Vivo Expansion of Hemopoetic Cells. In: Morstyn G., Sheridan W. eds. Cell Therapy. Cambridge. Cambridge University Press, 1996, 221-237.
22. Beutler E.: Gene therapy. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 5, 1999, 273-276.
23. Goldsby R. A., Kindt T. J., Osborne B. A.:KUBY Imunology. W. H. Freeman and Company, 2000, 670.
24. Eaves C., Udomsaki C., Cashman J. et al. The Biology of Normal and Neoplastic Stem Cells in CML. Leukemia and Lymphoma, 11, 1993, Suppl. 1, 245-253.
25. Bonnet D., Dick J. E.: Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. Nature Medicine, 3, 1997, 730-737.
26. Nillson L., Astraud-Grundstrom I., Arvidson I.: Isolation and characterization of hematopoietic progenitor/stem cells in 5q- deleted MDS: evidence for involvement at the hematopoietic stem cell level. Blood, 96, 2000, 2012-2021.
27. Lemoli R. M., Fortuna A.: C-kit ligand (SCF) in Human Multiple Myeloma Cells. Leukemia and Lymphoma. 20, 1996, 457-464.

informace

MUDr. Michal Vít
Hlavní hygienik ČR
MZd ČR

Věc: otevřený dopis pro Hlavního hygienika ČR

Vážený pane doktore,
byl jsem svými kolegy informován o Vašem vystoupení na konferenci Brněnské onkologické dny, dne 29. května tohoto roku, v němž jste se velice negativně vyjádřil o činnosti našeho Konsorcia i jeho jednotlivých částí.
Ve svém vystoupení jste se velmi ostře postavil proti naší účasti v procesu hodnocení rizik a doslova nás odmítl jako nekompetentní. Dokumentoval jste to na konkrétním příkladu hodnocení dat o kontaminaci skládky Barré, kdy jste nás označil za organizaci „odpovědnou za naměření 6 hod. nesmyslných hodnot a rozpoutání dezinformační kampaně". Útok nebyl v přímé souvislosti s tématem konference a přítomní pracovníci neměli dostatek informací, aby se mohli ohradit.
Naše Konsorcium nebylo odpovědné a ani nikdy neprovádělo měření kontaminace na haldě Barré a žádná 6 hod. data neprodukovalo. Odběry byly prováděny pracovníky Státního zdravotnického ústavu (včetně Vámi zmiňovaných 6 hod. a dle mého názoru nepřiliš dobře zvoleného intervalu odběru) a analýzy laboratořemi KHS a AXYS, s.r.o. Experti našeho Konsorcia byli najati na základě podnětu Českého geologického ústavu k provedení základního zhodnocení primárních dat o chemických koncentracích organických polutantů identifikovaných v odebraných vzorcích ovzduší z okolí haldy Barré. Toto hodnocení bylo formou zprávy (*TOCOEN REPORT no. 220: I. Holoubek, P. Čupr: Základní zhodnocení dat organického znečištění ovzduší v okolí haldy Barré*) odesláno zadavateli České geologické službě v pondělí, 27. května, 2002. Tedy po medializaci celé záležitosti včetně velice pochybně zpracovaného pořadu TV Nova Střepiny.
Závěr naší studie je doslova konstatováno: „Po zvážení všech dostupných informací a výsledků této studie nelze jednoznačně potvrdit hypotézu významného vlivu emisí z prohořívající haldy Barré na zdraví místních obyvatel". Závěrem této studie bylo jednoznačné odmítnutí dezinformační kampaně týkající se skládky Barré jako neopodstatněné – tedy pravý opak situace, kterou jste prezentoval.
Nechápu tedy dost dobře, odkud pocházejí Vaše informace, jenž jste veřejně prezentoval na zmíněné konferenci. Naše Konsorcium ani žádná jeho součást se nepodílela ani na zpracování plánu odběrů a analýz ani na jejich provádění a už vůbec ne na případné medializaci výsledků. To je dokonce v přímém rozporu se zásadami naší činnosti a odporuje to naším pravidlům styku s obchodními partnery.
Vzhledem k tomu, že Vaše vystoupení zaznělo na tak významném fóru jako jistě jsou Brněnské onkologické dny a naše Konsorcium úzce spolupracuje s řadou onkologických pracovišť, vyvíjí metodiku pro hodnocení ekologických rizik a částečně spolupracuje na rozvoji analytického zázemí pro data Národního onkologického registru (projekt SVOD), cítíme se Vaším vystoupením na tomto odborném fóru velmi poškozeni právě v očích odborné onkologické veřejnosti. A nemohu si samozřejmě být jist ani tím, zda jste toto své stanovisko neprezentoval i při jiných příležitostech.
Protože nepravdivá tvrzení a obvinění se šíří mnohem rychleji než pravdivá a toto Vaše prohlášení zřetelně poškozuje naši dlouholetou odbornou činnost, zasílám tento svůj dopis do odborného zdravotnického a onkologického tisku spolu se žádostí o Vaši omluvu. Pokud ji nezveřejníte, budu velmi vážně uvažovat o podání žaloby.
Tento svůj postoj a tvrzení jsem schopen kdykoli doložit příslušnými materiály.
S úctou

Prof. RNDr. IVAN HOLOUBEK, CSc.
Vedoucí Konsorcia RECETOX-TOCOEN&Associates
Ředitel Centra RECETOX, MU Brno

PATOGENEZE TRANSDUKČNÍCH DRAH INTERFERONOVÝCH SIGNÁLŮ A JEJICH VYZNAM PRO PREDIKCI CITLIVOSTI NÁDORU NA IMUNOTERAPII

PATHOGENESIS OF THE TRANSDUCTION PATHWAYS OF INTERFERONE SIGNALS AND THEIR SIGNIFICANCE FOR THE PREDICTION OF TUMOR SENSITIVITY TO IMMUNOTHERAPY.

BOUDNÝ V.[1], KOCÁK I.[2], KOVAŘÍK J.[1]

[1] ZÁKLADNA EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE
[2] ODDĚLENÍ KLINICKÉ ONKOLOGIE II, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Souhrn: Nové poznatky o molekulární podstatě signálních drah, které zprostředkovávají biologické efekty různých externích stimulů a kontrolují řadu normálních fyziologických procesů buňky (jako například buněčný růst, diferenciaci, apoptózu a stárnutí buněk) odhalily tři hlavní skupiny proteinů, které hrají klíčovou úlohu v přenosu externích signálů z povrchu membrány k cílovým genům v buněčném jádře. Tyto bílkoviny zahrnují Janus tyrozinkinázy (JAK), signální transduktory a aktivátory transkripce (STAT) a jejich endogenní inhibitory - rodinu SOCS (supresory cytokinových signálů). Ukazuje se, že molekulární i funkční alterace těchto proteinů se podílejí na patogenezi řady lidských chorob včetně některých imunopatií a neoplazií. Existují důkazy, že perturbance v proteinech STAT jsou zahrnuty v patogenezi některých lidských malignit. Navíc defektní JAK/STAT/SOCS signální dráhy mohou negativně ovlivnit odpověď nádoru na imunoterapii cytokiny.
Tato práce poskytuje přehled současných znalostí o intracelulárních signálních drahách JAK/STAT/SOCS se speciálním důrazem na jejich abnormality u nádorových onemocnění.

Klíčová slova: STAT 1, SOCS 3, interferony (IFN), maligní melanom, signální transdukce

Summary: Recent highlights in gradual understanding the molecular nature of signaling pathways that mediate biological effects of various external stimuli and control a number of normal physiological processes of cells (such as cellular growth, differentiation, senescence and apoptosis) defined three major groups of proteins which apparently play an essential role in transmitting external signals from surface membrane to target genes in the nucleus. These include Janus kinases (JAKs), signal transducers and activators of transcription (STATs) and their endogenous inhibitors of SOCS family. Their inappropriate functioning and defective cross-talking associate with several human disorders including cancer. There is an increasing evidence that perturbances in STAT proteins are involved in the pathogenesis of some human malignancies. Moreover, cancer-related defective JAK/STAT/SOCS pathways may negatively affect tumor response to the cytokine-based immunotherapy.
This article provides an overview of the current knowledge about JAK/STAT/SOCS intracellular signaling cascades with special emphasis on their abnormalities in cancer.

Key words: STAT 1, SOCS 3, interferons (IFNs), malignant melanoma, signal transduction

Statistické analýzy incidence a mortality onkologických onemocnění v období posledních dvou dekád prokazují, byť s kontinentálními, regionálními specifiky a odlišnostmi pro jednotlivé diagnózy, kontinuální nárůst incidence a nepříliš přesvědčivé ovlivnění mortality na zhoubné novotvary. Ukazuje se, že stávající léčebné přístupy vyčerpaly své možnosti a že je nutné hledat nové, nestandardní terapeutické modality s větší léčebnou efektivitou. Jedním z perspektivních přístupů je biologická léčba nádorů. Z řady přístupů, jejichž příkladem jsou inhibitory neoangiogeneze, induktory apoptózy, antigen specifické vakcíny a genové reparační biotechnologie, se zatím do širšího klinického využívání dostaly cytokiny ze skupiny interleukinů a zejména pak interferony (IFN).

1. Cytokiny a jejich význam

Poznávání regulačních mechanizmů imunologických procesů ukazuje, že to jsou právě cytokiny, které představují klíčové molekuly zajišťující homeostázu imunitního systému. Tyto polypeptidy s autokrinními i parakrinními účinky se aktivně podílejí na všech rozhodujících fázích imunitní reakce. Ovlivňují buněčnou proliferaci a diferenciaci, mohou být fyziologicky aktivovány, ale mohou současně reprimovat aktivující signály. V souvislosti s protinádorovou imunoterapií je možno spekulovat, že nízký stupeň léčebné odpovědi může alespoň částečně souviset s funkční alterací cytokinů, která provází nádorovou evoluci a progresi. Může se jednat o defektní syntézu cytokinů, sníženou expresi příslušných receptorů, změněnou proporcionalitu cytokinů s převahou působků s imunosupresivními účinky a konečně i o sníženou aktivitu specifických transdukčních a transkripčních faktorů rodiny JAK/STAT. Některé z těchto abnormalit mohou tedy být příčinou patologického imunitního stavu onkologicky nemocných.

2. Interferony v klinické praxi

Účinnost interferonů v léčbě malignit je vysvětlována jejich schopností zvýšit relativně nízkou protinádorovou imunitu jak na úrovni efektorových buněk, tak i na úrovni imunogenity buněk nádorových. V řadě experimentálních prací nedávné doby bylo prokázáno, že na protinádorovém účinku interferonů se významně podílí jejich antiproliferativní a tumoricidní aktivita, indukce zvýšené exprese adhezívních proteinů a antigenů MHC I. třídy, schopnost inhibovat nádorem indukovanou neoangiogenezu a schopnost indukovat apoptózu (1-5). Nepřekvapuje tedy, že do interferonů se vkládaly naděje na zlepšení léčebných výsledků některých onkologických diag-

nóz. Dnes, po více než 10-ti letých klinických zkušenostech s podáváním interferonů je zřejmé, že tato skupina cytokinů nesplnila optimistická očekávání. Jejich terapeutická účinnost je s určitými limitacemi klinicky využívána v léčbě leukémie z vlasatých buněk, kožního T-buněčného lymfomu, mnohočetného myelomu a chronické myeloblastická leukémie. U většiny solidních nádorů však terapeutický efekt prokázán nebyl. Výjimkou je karcinom z renálních buněk a maligní melanom. Výsledky četných studií efektivity interferonů u těchto diagnóz však udávají léčebnou odpověď pouze u 15-20% případů bez ohledu na typ interferonu, dávkovací režim a způsob aplikace (6). Navíc zcela chybějí údaje o tom do jaké míry klinicky úspěšná léčba interferonem ovlivňuje celkovou dobu přežití. Do nedávné doby byla nízká efektivita interferonů v léčbě solidních nádorů vysvětlována funkčními poruchami imunitního systému a produkcí imunosupresivních faktorů samotnou nádorovou populací.

3. Proteiny JAK/STAT

Postupné poznávání intracelulárních molekulárních mechanizmů, které se podílejí na realizaci biologických účinků interferonů, nabízí možnost studovat předpokládané poruchy v interferonových signálních drahách nádorové buňky. Je pravděpodobné, že patologické alterace v přenosech interferonových signálů v ose receptor-cytoplazma-jádro-DNA výrazně ovlivňují účinky interferonů na nádorovou buňku a v konečných důsledcích pak odpověď nádoru na léčbu interferony. V této souvislosti je pozornost zaměřena především na rodinu tyrozinkináz, označovanou jako Janus kinázy (JAK) a na signální transduktory a aktivátory transkripce, tj. multigenovou rodinu proteinů STAT, která zahrnuje 7 členů (STAT 1-4, STAT 5a, 5b, STAT 6). Jedná se o faktory, které aktivně propagují signály různých cytokinů, včetně interferonů, z buněčné membrány do jádra. Zájem o výzkum defektů STAT proteinů v souvislosti s nádorovým procesem vyvolaly nedávné práce, v nichž je u řady lidských nádorů popisována porucha v aktivaci těchto proteinů a jejich dysfunkce je dávána do souvislosti s patogenezí lidských malignit (7, 8).

4. Interferonové receptory a JAK/STAT signální dráha

Je známo, že interferony (IFN), jako jedna ze skupiny cytokinů představují extracelulární signální mechanizmy, které se parakrině i autokrině podílejí na regulaci proliferace a diferenciace buněk. IFN-α a IFN-β se váží na společný receptor typu I (9), receptor typu II je vazebnou strukturou pro IFN-γ (9, 10). Stimulace receptoru má za následek aktivaci různých kombinací s receptorem asociovaných Janus proteintyrozinkináz (JAK PTK), které následně indukují ligand dependentní aktivaci proteinů STAT. JAK/STAT signální dráha je charakterizována pro celou řadu ligandů (11-14). Vazba ligandu na receptor je provázena jeho dimerizací a následně aktivací tyrozinkináz JAK, které katalyzují fosforylaci tyrozinu v cytoplazmatické části receptoru. Fosfotyroziny receptoru jsou determinantou pro SH2 domény proteinů STAT a zprostředkovávají tak připojení STATů k receptoru. Po vazbě na receptor JAK proteiny fosforylují STAT na evolučně konzervovaném tyrozinu. Dochází tak k aktivaci STAT proteinu, jeho uvolnění z receptoru a k jeho dimerizaci interakcí SH2 domény jednoho STAT proteinu s fosfotyrozinem dalšího STATu. Následně tyto dimery putují do jádra, kde se váží na specifické enhancerové sekvence, jimiž jsou pro interferony skupiny I tzv. ISRE („IFN Stimulation Response Element“) a pro IFN-γtzv. GAS determinanty („IFN-Gamma Activation Site“). Efektorovým mechanizmem interferonové JAK/STAT dráhy je aktivace exprese řady cílových genů.

Ačkoli fosfotyrozinová aktivace STAT proteinů je pro přenos signálů považována za klíčovou, ukazuje se, že fosforylace proteinů STAT 1 a STAT 3 na serinu se rovněž na této dráze podílí. Nedávno Yaffe a Cantley (15) identifikovali fosfoserinové vazebné domény, které participují na fosforylaci závislých proteinových interakcí a následně i na propagaci cytokinových signálů. Lokalizace serinu 727 (Ser 727) v sekvenci rozpoznávané MAP kinázami („Mitogen-activated Protein Kinase“) je důvodem ke spekulaci, že fosfoserinová aktivace představuje mechanizmus jímž STAT proteiny harmonizují proteinové interakce v rámci alternativních signálních drah.

5. Cílové geny, které jsou pod kontrolou STAT proteinů

Přestože identifikace cílových genů, jejichž transkripce je pod kontrolou STAT proteinů, není zdaleka vyčerpávající, řada z nich je již v současnosti dobře charakterizována. Za povšimnutí stojí, že v řadě případů se jedná o geny, které regulují buněčný cyklus, proliferaci a apoptózu, tj. procesy, jejichž defekty jsou atributem maligní buňky. Jako příklad je možné uvést geny *bcl-XL* (7, 16, 17), *cyklin D1* (7, 18), *p21 WAF/CIP* (18) a *c-myc* (7, 19). Lze předpokládat, že deregulace těchto, ale pravděpodobně i řady jiných genů, jejichž exprese je kontrolována STATy, představuje mechanizmus, jímž se tyto proteiny spolupodílejí na maligní přeměně buňky. Na podporu této hypotézy lze uvést několik nedávných studií, které dokladují překvapivě vysokou incidenci patologické aktivace STAT proteinů v různých lidských nádorech a maligních buněčných liniích (8, 20, 21).

6. Defekty v expresi a aktivaci proteinů STAT *in vitro*

Je pravděpodobné, že defektní exprese či aktivace STAT proteinů významně ovlivňuje vnímavost buňky na interferonové signály. Wong a spol. (22), na modelu buněčných kultur lidského maligního melanomu, prokázali úzkou souvislost mezi sníženou expresí a aktivací STAT 1, STAT 2 a p48-ISGF 3 transkripčního faktoru („Interferon-stimulated Gene Factor 3) na jedné straně a sníženou odpovědí na interferony na straně druhé. Podobnou analýzu s identickými výsledky uvádí studie Kolla a spol. u buněčných linií z lidského karcinomu mléčné žlázy (23).

7. Negativní regulátory signálních drah cytokinů

Ve vztahu k abnormální signální dráze STAT 1 lze předpokládat existence několika alternativních mechanizmů. Ty zahrnují aberantní autokrinní nebo parakrinní stimulaci normálních receptorů, zvýšenou nebo nedostatečnou aktivitu tyrozinkináz a abnormální expresi negativních regulátorů signálních drah cytokinů, které za fyziologických podmínek inhibují STAT aktivaci. Poslední ze zmíněných mechanizmů souvisí s identifikací několika nových proteinů, které specificky antagonizují signální dráhu JAK/STAT (24-30). Jedná se o fyziologické supresory cytokinových signálů (SOCS: „Suppressors of Cytokine Signaling“), proteinové inhibitory aktivovaných STATů (PIAS: „Protein Inhibitors of Activated STATs“) a fosfatázy obsahující SH2 domény (SHP: „SH2-containing Phosphatases“).

8. Proteiny SOCS

Proteiny SOCS, objevené nezávisle na sobě třemi různými výzkumnými skupinami zhruba ve stejné době, představují zřejmě nejdůležitější faktory v klasické negativní zpětnovazebné smyčce, které negativně regulují JAK/STAT signální dráhu iniciovanou mnoha cytokiny (29, 30). Některé výsledky naznačují, že transkripce většiny, ne-li dokonce všech genů kódujících proteiny SOCS, je indukována nebo regulována samotnými cytokiny, a to pravděpodobně přes aktivované molekuly STAT proteinů (30). Ačkoli je již známo 20 proteinů, které sdílí identickou C-terminální sekvenci, tzv. „SOCS box“, pouze 8 z nich, které obsahují jak C-terminální SOCS box, tak i centrální Src homologní doménu (SH2), se podílí na signální transdukci cytokinů (25-29).

První člen této rodiny, označený symbolem CIS („Cytokine Inducible SH2-containing protein“), byl identifikován jako produkt genů, jejichž transkripce je indukována v časné fázi cytokinové aktivace („immediate early genes“) (26, 31). SOCS

1, označovaný rovněž jako JAB („JAK Binding Protein“) nebo SSI 1 („STAT-induced STAT Inhibitor 1“), byl identifikován na základě jeho schopnosti: 1. inhibovat diferenciaci buněk myeloidní leukémie linie M1 závislé na interleukinu 6 (28); 2. interagovat s doménou JH1 peptidu JAK1 (25); 3. jako cílový protein specifické protilátky proti doméně SH2 (27). SOCS 2-7 byly objeveny na základě jejich homologie se SOCS 1 (28, 29).

Proteiny SOCS inhibují přenos signálu různými, ne zcela známými mechanizmy. Bylo například dokázáno, že SOCS 1 se váže na všechny čtyři JAK kinázy a inhibuje jejich aktivitu *in vitro*, zatímco CIS asociuje s receptorem, ale neinteraguje s ním, ani neinhibuje JAK peptidy. SOCS 3, podobně jako SOCS 1, váže JAK kinázy, ale s menší afinitou, a proto musí být jeho exprese podstatně vyšší než v případě SOCS 1, aby dosáhl ekvivalentní inhibice kinázové aktivity. Charakteristickou a pro SOCS 3 specifickou vlastností je fosforylace na tyrozinu po stimulaci cytokiny. Inhibice signální dráhy JAK/STAT vede „feedback“ mechanizmem ke snížení exprese proteinů SOCS, což má za následek připravenost buňky odpovídat na další cytokinový signál. V některých případech, indukce proteinů SOCS jedním cytokinem může inhibovat signální transdukci dalšího cytokinu. Například působení interleukinu 10 na monocyty inhibuje prostřednictvím indukce SOCS 3 následný přenos signálu IFN-α nebo IFN-γ (32). Ukazuje se, že proteiny SOCS mohou zprostředkovávat komunikaci („crosstalk“) mezi různými signálními drahami. Ačkoli přesný molekulární mechanizmus, kterým peptidy SOCS blokují dráhu JAK/STAT zůstává stále nejasný, je pravděpodobné, že tyto proteiny mohou ovlivňovat prahovou hladinu cytokinu, na níž bude buňka významně odpovídat.

9. Úloha proteinů STAT/SOCS v přenosu cytokinových signálů

Poznání úlohy STAT/SOCS proteinů v přenosu cytokinových signálů a v regulaci genů, které kontrolují řadu fyziologických procesů buňky a zajišťují její homeostázu, vyvolává narůstající zájem onkologického výzkumu. Není sporu o tom, že extracelulární cytokinové signály šířené intracelulární JAK/STAT dráhou harmonizují procesy buněčné proliferace, diferenciace a programované smrti buňky. Poněvadž deregulace těchto procesů je atributem většiny lidských neoplazií, je namístě představa, že abnormální signální transdukce s následnou defektní transkripcí STAT dependentních genů se může podílet na etiopatogenezi maligní přeměny, ale i na odpovědi nádoru na léčbu cytokiny (8). V souvislosti s nádorovým procesem jsou předpokládány a v některých případech již prokázány abnormality, které zahrnují sníženou expresi nebo konstitutivní syntézu STAT molekul, jejich patologickou aktivaci a v neposlední řadě i poruchy v degradaci proteinů SOCS. O tom, že se mohou normální a pravděpodobně i defektní STAT/SOCS zprostředkované cytokinové signály manifestovat v různých systémech odlišně svědčí studie, v nichž byl sledován vliv indukce STAT/SOCS proteinů na apoptózu. Zatímco v některých buněčných systémech STAT aktivace IFN-γ zvyšuje expresi induktorů apoptózy Fas a Fas L, v jiných systémech, a za ne zcela jasných podmínek, může STAT 1 rovněž indukovat transkripci antiapoptického genu *bcl-XL* (33, 34). Naka a spol. (35) uvádějí, že SOCS 1 významně zvyšuje rychlost apoptózy, a to pravděpodobně přes zvýšenou expresi proapoptického genu *bax*.

Až doposud jen několik málo prací analyzovalo úlohu signálních drah STAT proteinů u pacientů postižených nádorovým onemocněním ve vztahu k IFN-α indukované antiproliferační aktivitě a k citlivosti nádorových buněk na tento cytokin (36, 37). Dosavadní výsledky podporují názor, že abnormalita v hladině proteinů STAT 1/STAT 3 nebo v jejich aktivaci koreluje se sníženou odpovědí nádorových buněk na inhibiční aktivitu IFN-α.

10. Závěr

V literatuře jsou jenom sporadické údaje o defektech v transdukčních proteinech rodiny STAT v nádorové buňce a doposud nebylo vůbec studováno, zda i jejich inhibitory, proteiny SOCS, se negativně podílejí na biologických účincích interferonů v maligní populaci. Existují však i údaje, že některé ze STAT proteinů se podílejí na patogenezi onkologických onemocnění a na procesech programované smrti buněk.

Signální dráhy představují jednu z dalších možností blíže poznat kompletní mechanizmus maligní přeměny buňky a z praktického hlediska nový nástroj pro předpověď vnímavosti nemocného. Experimentální údaje o defektech v těchto transdukčních a transkripčních drahách v nádorové buňce mohou přispět k vývoji nových, specifičtějších a účinnějších léčiv nádorových onemocnění.

Práce byla podpořena grantovým projektem 301/00/0564 GA ČR a VVZ MOÚ č. MZ 00020980501.

Literatura

1. DeMaeyer E. and DeMaeyer-Giugnard J. (1988): Interferons and Other Regulatory Cytokines. New York: John Wiley and Sons.
2. Von Stamm U., Brocker E.B., von Depka Prondzinski M., Ruiter D.J., Rumke P., Broding C., Carrel S., Lejeune F.J. (1993): Effects of systemic interferon-alpha (IFN-alpha) on the antigenic phenotype of melanoma metastases. EORTC melanoma group cooperative study No. 18852. Melanoma Res., 3, 173-180.
3. Agarwala S.S. and Kirkwood J.M. (1995): Potential uses of interferon alpha 2 as adjuvant therapy in cancer. Ann. Surg. Oncol., 2, 365-371. Review.
4. Deiss L.P., Feinstein E., Berissi H., Cohen O., Kimchi A. (1995): Identification of a novel serine/threonine kinase and a novel 15 kDa protein as potential mediators of the gamma interferon-induced cell death. Genes Dev., 9, 15-30.
5. Kirkwood J.M. (1995): Biologic therapy with interferon alpha and beta: Clinical applications: Melanoma. In: DeVita V.T., Hellman S., and Rosenberg S.A. (eds.): Biologic therapy of cancer: Principles and Practice of Oncology, pp. 388-411. Philadelphia: J.B. Lippincott.
6. Rosenberg S.A. (1997), In: DeVita D.T., Hellman S., and Rosenberg S.A. (eds.): Principles of Cancer Management: Biologic Therapy, pp. 349-373. Philadelphia: J.B. Lippincott.
7. Bromberg J.F., Wrzeszczynska M.H., Devgan G., Zhao Y., Pestell R.G., Albanese C., Darnell J.E. Jr. (1999): STAT 3 as an oncogene. Cell, 98, 295-303.
8. Frank D.A. (1999): STAT signaling in the pathogenesis and treatment of cancer. Mol. Med., 5, 432-456. Review.
9. Pestka S. (1997): The human interferon-alpha species and hybrid proteins. Semin. Oncol., 24 (3 Suppl. 9) S9, 4-17. Review.
10. Farrar M.A. and Schreiber R.D. (1993): The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. Annu. Rev. Immunol., 11, 571-611. Review.
11. Ihle J.N., Witthuhn B., Tang B., Yi T., Quelle F.W. (1994): Cytokine receptors and signal transduction. Baillieres Clin. Haematol., 7, 17-48. Review.
12. Ihle J.N. and Kerr I.M. (1995): JAKs and STATs in signaling by the cytokine receptor superfamily. Trends Genet., 11, 69-74. Review.
13. Schindler C. and Darnell J.E. Jr. (1995): Transcriptional responses to polypeptide ligands: the JAK-STAT pathway. Annu. Rev. Biochem., 64, 621-651. Review.
14. Darnell J.E. Jr. (1997): STATs and gene regulation. Science, 277, 1630-1635. Review.
15. Yaffe M.B. and Cantley L.C. (1999): Signal transduction. Grabbing phosphoproteins. Nature, 402, 30-31.
16. Catlett-Falcone R., Landowski T.H., Oshiro M.M., Turkson J., Levitzki A., Savino R., Ciliberto G., Moscinski L., Fernandez-Luna J.L., Nunez G., Dalton W.S., Jove R. (1999): Constitutive activation of STAT 3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells. Immunity, 10, 105-115.
17. Karni R., Jove R., Levitzki A. (1999): Inhibition of pp60c-Src reduces Bcl-XL expression and reverses the transformed phenotype of cells overexpressing EGF and HER-2 receptors. Oncogene, 18, 4654-4662.
18. Sinibaldi D., Wharton W., Turkson J., Bowman T., Pledger W.J., Jove R. (2000): Induction of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 expression by the Src oncoprotein in mouse fibroblasts: role of activated STAT 3 signaling. Oncogene, 19, 5419-5427.
19. Kiuchi N., Nakajima K., Ichiba M., Fukada T., Narimatsu M., Mizuno K.,

Hibi M., Hirano T. (1999): STAT 3 is required for the gp130-mediated full activation of the c-myc gene. J. Exp. Med., 189, 63-73.
20. Kube D., Holtick U., Vockerodt M., Ahmadi T., Haier B., Behrmann I., Heinrich P.C., Diehl V., Tesch H. (2001): STAT 3 is constitutively activated in Hodgkin cell lines. Blood, 98, 762-770.
21. Garcia R., Bowman T.L., Niu G., Yu H., Minton S., Muro-Cacho C.A., Cox C.E., Falcone R., Fairclough R., Parsons S., Laudano A., Gazit A., Levitzki A., Kraker A., Jove R. (2001): Constitutive activation of STAT 3 by the Src and JAK tyrosine kinases participates in growth regulation of human breast carcinoma cells. Oncogene, 20, 2499-2513.
22. Wong L.H., Krauer K.G., Hatzinisiriou I., Estcourt M.J., Hersey P., Tam N.D., Edmondson S., Devenish R.J., Ralph S.J. (1997): Interferon-resistant human melanoma cells are deficient in ISGF 3 components, STAT 1, STAT 2, and p48-ISGF 3gamma. J. Biol. Chem., 272, 28779-28785.
23. Kolla V., Lindner D.J., Xiao W., Borden E.C., Kalvakolanu D.V. (1996): Modulation of interferon (IFN)-inducible gene expression by retinoic acid. Up-regulation of STAT 1 protein in IFN-unresponsive cells. J. Biol. Chem., 271, 10508-10514.
24. Chung C.D., Liao J., Liu B., Rao X., Jay P., Berta P., Shuai K. (1997): Specific inhibition of STAT 3 signal transduction by PIAS 3. Science, 278, 1803-1805.
25. Endo T.A., Masuhara M., Yokouchi M., Suzuki R., Sakamoto H., Mitsui K., Matsumoto A., Tanimura S., Ohtsubo M., Misawa H., Miyazaki T., Leonor N., Taniguchi T., Fujita T., Kanakura Y., Komiya S., Yoshimura A. (1997): A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. Nature, 387, 921-924.
26. Matsumoto A., Masuhara M., Mitsui K., Yokouchi M., Ohtsubo M., Misawa H., Miyajima A., Yoshimura A. (1997): CIS, a cytokine inducible SH2 protein, is a target of the JAK-STAT 5 pathway and modulates STAT 5 activation. Blood, 89, 3148-3154.
27. Naka T., Narazaki M., Hirata M., Matsumoto T., Minamoto S., Aono A., Nishimoto N., Kajita T., Taga T., Yoshizaki K., Akira S., Kishimoto T. (1997): Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. Nature, 387, 924-929.
28. Starr R., Willson T.A., Viney E.M., Murray L.J., Rayner J.R., Jenkins B.J., Gonda T.J., Alexander W.S., Metcalf D., Nicola N.A., Hilton D.J. (1997): A family of cytokine-inducible inhibitors of signaling. Nature, 387, 917-921.
29. Hilton D.J., Richardson R.T., Alexander W.S., Viney E.M., Willson T.A., Sprigg N.S., Starr R., Nicholson S.E., Metcalf D., Nicola N.A. (1998): Twenty proteins containing a C-terminal SOCS box form five structural classes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 114-119.
30. Hilton D.J. (1999): Negative regulators of cytokine signal transduction. Cell. Mol. Life Sci., 55, 1568-1577. Review.
31. Yoshimura A., Ohkubo T., Kiguchi T., Jenkins N.A., Gilbert D.J., Copeland N.G., Hara T., Miyajima A. (1995): A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH2-containing protein that binds to tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors. EMBO J., 14, 2816-2826.
32. Ito S., Ansari P., Sakatsume M., Dickensheets H., Vazquez N., Donnelly R.P., Larner A.C., Finbloom D.S. (1999): Interleukin-10 inhibits expression of both interferon alpha- and interferon gamma-induced genes by suppressing tyrosine phosphorylation of STAT 1. Blood, 93, 1456-1463.
33. Xu X., Fu X.Y., Plate J., Chong A.S. (1998): IFN-gamma induces cell growth inhibition by Fas-mediated apoptosis: requirement of STAT 1 protein for up-regulation of Fas and FasL expression. Cancer Res., 58, 2832-2837.
34. Frank D.A., Mahajan S., Yuan H. (1999): The chemoprotectant butyrate down-regulates IL-6-induced signaling events in colorectal carcinoma cells. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., 40, 318.
35. Naka T., Matsumoto T., Narazaki M., Fujimoto M., Morita Y., Ohsawa Y., Saito H., Nagasawa T., Uchiyama Y., Kishimoto T. (1998): Accelerated apoptosis of lymphocytes by augmented induction of Bax in SSI 1 (STAT-induced STAT inhibitor 1) deficient mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 15577–15582.
36. Carson W.E. (1998): Interferon alpha-induced activation of signal transducer and activator of transcription proteins in malignant melanoma. Clin. Cancer Res., 4, 2219-2228.
37. Yang C.H., Murti A., Pfeffer L.M. (1998): STAT 3 complements defects in an interferon-resistant cell line: evidence for an essential role for STAT 3 in interferon signaling and biological activities. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 5568-5572.

knihy

OBECNÁ PATOLOGIE NÁDOROVÉHO RŮSTU

ALEŠ REJTHAR A BOŘIVOJ VOJTĚŠEK
Vydala GRADA Publishing, spol. s r. o., Praha, Česká republika, v roce 2002. Počet stran 206, náklad ani cena nejsou uvedeny.
ISBN 80-247-0238-X.

Úvodní část monografie, nazvaná „Biologie vzniku a růstu nádorů", se zabývá obecnou definicí nádoru, jejich obecným dělením a moderními poznatky o vzniku a vývoji nádorů. V této části se čtenář seznámí s novými aspekty souvisejícími např. s úlohou stromatu při vývoji epitelových nádorů, s vlivem životního prostředí, kancerogenními faktory a nalezne podrobné informace o jednotlivých fázích maligní transformace. Vynikající a z klinického i patologického hlediska velmi důležitou kapitolou jsou „Příčiny smrti při nádorové chorobě", která přehledně a vyčerpávajícím způsobem informuje o této velmi důležité oblasti.

V části „Molekulární biologie nádorů" se pojednává o obecné charakteristice buněčného cyklu, presentují se fakta o jednotlivých fázích buněčného cyklu, o jeho kontrolních bodech a regulačních proteinech. Podrobněji jsou popisovány mechanismy programované buněčné smrti. Tato oblast se těší obrovskému zájmu velkého počtu výzkumných skupin na celém světě, a proto je jasné, že v této kapitole najdou důležité informace čtenáři z nejrůznějších oblastí. Další kapitoly pojednávají o onkogenech, antionkogenech a jejich úloze při vzniku nádorů. Domnívám se, že autoři z velkého množství popsaných onkogenů a nádorových supresorů vhodným způsobem vybrali ty nejvhodnější příklady, na nichž demonstrovali mechanismy jejich aktivace a působení. Cenné je rovněž zařazení kapitoly týkající se genů regulujících reparaci DNA a úlohy telomer v procesu kancerogeneze.

Třetí část monografie, nazvaná „Klasifikace a systematika nádorů" představuje obecně používanou systematiku nádorů, založenou na jejich histogenezi a presentuje zásady histopatologického typingu, gradingu a stagingu. Tento text je doplněn moderně koncipovanou částí týkající se obecných zásad imunohistochemického určení histogenetického původu lézí. Je rovněž zdůrazňován význam proliferační aktivity nádoru pro odhad jeho biologického chování a význam detekce různých cytoskeletálních molekul pro diagnostiku nádorů. Týká se to zejména části o epiteliálních nádorech, kde jsou uváděny významné poznatky o obsahu různých typů cytokeratinů v různých typech epitelů. V kapitole týkající se mesenchymálních nádorů jsou také vhodně ilustrovány některé příklady cytogenetických abnormit.

Moderní onkologická patologie se stále více přizpůsobuje klinickým požadavkům a reaguje na obrovský pokrok dosažený v posledních letech při výzkumu nádorů a při vývoji nových léčiv. Zavádí do praxe nové molekulární technologie umožňující diagnostiku na genové úrovni. Z těchto důvodů je publikace autorů A. Rejthara a B. Vojtěška neobyčejně cenná. Vhodným způsobem presentuje moderní poznatky z oblasti onkopatologie a poskytuje ucelený přehled dané problematiky. Kniha alespoň částečně zaplňuje absolutní nedostatek podobné literatury na našem trhu. Je adekvátně doplněna schématy a tabulkami a vhodnou literaturou na konci každé subkapitoly. Velmi užitečný může být i seznam doporučené literatury v závěru publikace a rozsáhlý věcný rejstřík. Vzhledem k jejímu interdisciplinárnímu charakteru lze knihu vřele doporučit širokému spektru čtenářů od studentů až po graduované odborníky z nejrůznějších biomedicínských oborů.

V Olomouci 20. 6. 2002

Prof. MUDr. ZDENĚK KOLÁŘ, CSc.

NÁDOROVÝ SUPRESOR P53 A LEUKEMIE

TUMOR SUPPRESSOR P53 AND LEUKEMIA

PAVLOVÁ S.[1], MAYER J.[2], ŠMARDOVÁ J.[1]

[1] MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO
[2] II. INTERNÍ KLINIKA, FN BRNO-BOHUNICE

Souhrn: Tento článek shrnuje informace o významu nádorového supresoru p53 v leukemogenezi. Frekvence mutací genu p53 je u leukemií a lymfomů výrazně nižší než u solidních nádorů, pohybuje se mezi 5 % až 20 % případů dle typu onemocnění. V řadě případů je spojena s horší prognózou, s progresí onemocnění do další fáze (chronická fáze chronické myeloidní leukemie do blastického zvratu, myelodysplastický syndrom do akutní myeloidní leukemie), případně s relapsem onemocnění. V případech, ve kterých se mutace p53 nevyskytuje, se mohou uplatňovat jiné způsoby inaktivace proteinu p53 nebo celé dráhy, podobně jako tomu je u některých typů solidních nádorů. Navíc bylo ukázáno, že funkce p53 může být ovlivněna některými fúzními proteiny exprimovanými v důsledku translokací specifických pro leukemie.

Klíčová slova: p53, leukemie, leukemogeneze, AML

Abstract: This review summarizes information about the role of the p53 tumor suppressor protein in the process of leukemogenesis. The frequency of mutations within the p53 gene is significantly lower in leukemias and lymphomas than in solid tumors, ranging from 5 % to 20 % of cases according to the type of a disease. p53 mutations are associated with worse prognosis, with the progression of disease to a more severe phase (chronic phase of chronic myeloid leukemia to blast crisis, myelodysplastic syndrome to acute myeloid leukemia) and with relapse of disease in many cases. In cases when p53 mutation does not occur, other mechanisms of inactivation of p53 protein or its pathway may occur, as well as in some types of solid tumors. Moreover, it has been shown that some fusion proteins expressed as the result of leukemia-specific translocations may affect p53 function.

Key words: p53, leukemia, leukemogenesis, AML

V tomto článku shrnujeme informace o významu nádorového supresoru p53 v leukemogenezi. Nejprve se zmíníme o mutacích lidského genu p53, o jejich frekvencích, důsledcích pro pacienty a o souvislostech s přestavbami chromozomu 17. Protože spektrum hematoonkologických onemocnění je poměrně široké, zaměříme se v této části především na akutní myeloidní leukemie (AML), myelodysplastický syndrom (MDS) a chronickou myeloidní leukemii (CML). V další části se zmíníme o jiných možných způsobech inaktivace proteinu p53 a jeho signální dráhy a pokusíme se nastínit možné role proteinu p53 v leukemogenezi.

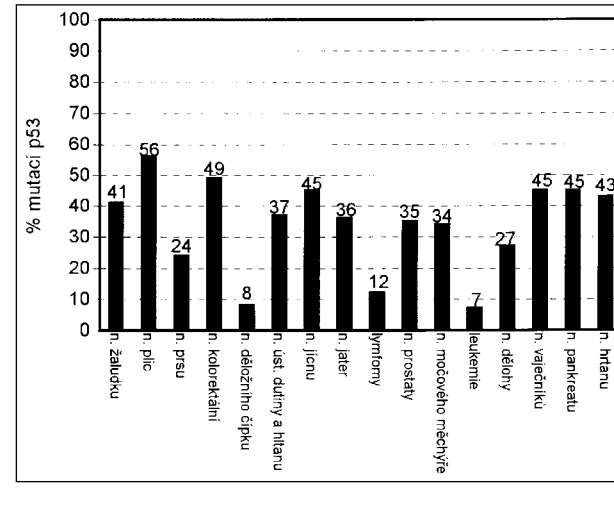
1. KANCEROGENEZE, LEUKEMOGENEZE A NÁDOROVÝ SUPRESOR p53

1.1. Úloha p53 v kancerogenezi

Kancerogeneze je vícestupňový proces, během kterého se kumulují genetické a epigenetické změny, které postupně transformují normální buňku v buňku nádorovou. Konkrétních genů, jejichž mutace může přispět k transformovanému fenotypu buňky, je mnoho, ale obecně je přijímána představa, že v buňce musí proběhnout asi šest základních změn, které se společně podílejí na vytvoření maligního fenotypu: buňka tím získává soběstačnost v produkci růstových signálů, oslabuje se její citlivost k působení antiproliferačních signálů, narušuje se proces apoptózy, posiluje se její replikační potenciál (aktivací telomerázy), angiogeneze a schopnost kolonizovat další tkáně, tedy tvořit metastázy (1, 2). Pravděpodobnost, že budou skutečně pozměněny všechny naznačené funkce v buňce, je výrazně posílena tehdy, jestliže má buňka sníženou schopnost udržovat stabilitu genomu.

Při udržování stability genomu má nezastupitelnou úlohu protein p53. Aktivace proteinu p53 při poškození DNA může vyvolat blok v G1 fázi buněčného cyklu nebo spustit apoptózu, je-li rozsah poškození DNA příliš velký vzhledem ke kapacitě opravných mechanismů (3, 4, 5). Proto není překvapivé, že mutace genu p53 patří k nejčastějším genetickým změnám detegovaným u solidních nádorů *(obr. 1)*. Uvádí se, že v průměru polovina všech nádorů má mutaci v genu pro nádorový supresor p53 (6).

Obr. 1: *Frekvence mutací p53 u různých typů nádorů. Upraveno podle Harrise (83).*



1.2. Leukemogeneze je vícestupňový proces

Pro hematoonkologická onemocnění jsou typické chromozomální přestavby, zejména translokace. U některých případů dochází v důsledku translokace k přemístění genu pro transkripční faktor pod kontrolu vysoce aktivních elementů promotoru nebo zesilovačů transkripce, např. imunoglobulinů nebo genů pro receptory T-buněk (TCR), a tedy k abnormální expresi daného transkripčního faktoru. Jiným důsledkem translokace je fúze genu pro transkripční faktor nebo receptorovou tyrozinkinázu s jiným, nepříbuzným genem. V buňce pak dochází k syntéze chimerického proteinu, který je schopen interagovat s DNA a s jinými proteiny tak, že narušuje normální regulační mechanizmy (pro přehled 7).

Chromozomální přestavby hrají v leukemogenezi pravděpodobně zásadní roli, ale přesto nejsou proteiny exprimované jako důsledek translokace dostačující pro plné rozvinutí onemocnění. Stejně jako u solidních nádorů je k plnému rozvoji maligního fenotypu krevní buňky nutných více genetických změn a k jejich vzniku může přispívat genomová nestabilita. Kromě statistických modelů, studií na transgenních zvířatech a latence nástupu onemocnění u vrozených translokací potvrzuje vícestupňový model leukemogeneze také výskyt buněk se změnami typickými pro leukemie a lymfomy u zdravých jedinců, u kterých se hematoonkologické onemocnění nevyvine, např. MLL-AF4 (8), bcr-abl (9, 10), BCL-2/JH (11). Pro progresi směrem k hematoonkologickému onemocnění jsou pak nezbytné další mutace, které se vyskytnou jen u malé podskupiny jedinců (12).

Často studovaným modelem vícestupňové leukemogeneze jsou hematoonkologická onemocnění, která se vyvíjejí v nejméně dvou klinicky odlišných fázích, jako jsou například chronická fáze a blastický zvrat chronické myeloidní leukemie (CML) nebo myelodysplastický syndrom (MDS) přecházející v akutní myeloidní leukemii (AML). V jednotlivých fázích těchto onemocnění jsou postupně narušeny nejméně dva procesy – proliferace nebo/a apoptóza a diferenciace. Teprve narušení obou těchto procesů má za následek vznik klonu buněk s plně leukemickým fenotypem, tj. buněk, které ztratily schopnost normálně diferencovat ve zralé krevní buňky a nekontrolovatelně proliferují nebo expandují. Za přechod do druhé fáze těchto onemocnění jsou zodpovědné další genetické změny (pro přehled 13 a 14). Mezi geny, které by se mohly podílet na progresi hematoonkologických onemocnění, je pro svou významnou funkci v kancerogenezi solidních nádorů zvažován také nádorový supresor p53.

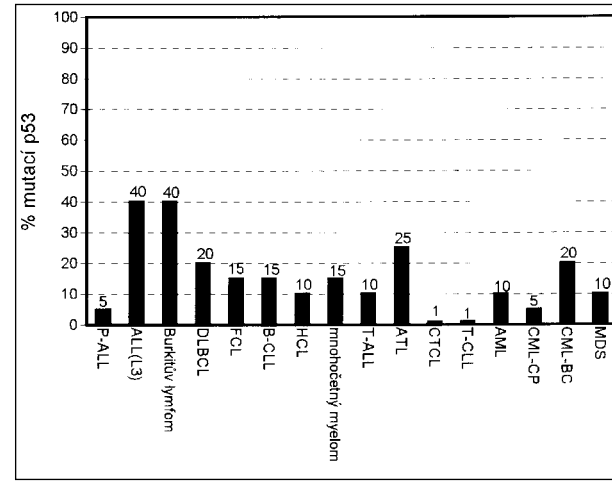
2. MUTACE GENU p53 U LEUKEMIÍ

2.1. Frekvence mutací p53 u hematologických malignit

Frekvence mutací genu pro p53 je u hematoonkologických onemocnění poměrně nízká. Z 2152 případů pacientů s leukemií a myelodysplazií byla mutace p53 popsána u 238 z nich, tj. u 11 % případů (15). Nejvyšší frekvence byla nalezena u Burkittova lymfomu a u akutní lymfoblastické leukemie typu L3. Tyto údaje byly později potvrzeny a rozšířeny (16), výsledky shrnuje graf na *obr. 2.* Z grafu je patrné, že frekvence mutací genu p53 se u většiny typů onemocnění pohybuje do 20 %, s výjimkou Burkittova lymfomu a odpovídající B akutní lymfoblastické leukemie B-ALL L3 (40 %) a T buněčné leukemie/lymfomu ATL („adult T-cell leukemia“) (25 %).

Rozdíly ve zjištěných frekvencích mutací p53 uvedených v literatuře jsou poměrně značné. Například frekvence mutací genu p53 u akutní myeloidní leukemie je udávána mezi 4,5 % a 16 % případů (17, 18, 19, 20, 21, 22). Značné rozdíly v naměřených frekvencích mutací p53 jsou běžné i u solidních nádorů a mohou souviset např. s použitou metodou detekce (23, 24, 22, 25, 26). U leukemií se navíc ukazuje, že výsledné hodnoty frekvencí mutací p53 souvisí se stádiem onemocnění a také s předchozí léčbou pacienta (27). Obecně se udává, že mutace jsou několikrát častější v relapsu než v době záchytu onemocnění (20, 15). Také u sekundárních onemocnění, jejichž

Obr.2: *Frekvence mutací u leukemií a lymfomů. Upraveno podle Drexlera a kol. (16).*
ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloblastic leukemia; ATL, adult T cell leukemia; CLL, chronic lymphocytic leukemia; CML-BC/CP, chronic myeloid leukemia in blast crisis/chronic phase; CTCL, cutaneous T-cell lymphoma; DLBCL, diffuse large B cell lymphoma; FCL, follicular cell lymphoma; HCL, hairy cell leukemia; MDS, myelodysplastic syndromes; P, precursor.



vznik se dává do souvislosti s předchozí léčbou jiného nádoru („therapy-related disease“), bývá detekována vyšší frekvence mutací p53 (28).

2.2. Prognostický význam mutace p53

Mutace p53 jsou spojeny s horší prognózou onemocnění, a to zejména u MDS, AML, CLL (chronické lymfoidní leukémie) a TALL (T-akutní lymfoidní leukémie) (15, 18, 21, 28). Je nutné si ovšem uvědomit, že se mutace genu p53 častěji vyskytují u starších pacientů a pacientů s pozměněným karyotypem, což jsou skupiny pacientů s horší prognózou samy o sobě. Multifaktoriální analýza dat získaných u skupiny 200 pacientů s *de novo* AML ukázala, že mutace p53 je důležitým faktorem pro prognózu, ale méně důležitým než věk pacienta a jeho karyotyp. Rozdíl v prognóze mezi pacienty s mutací a pacienty s funkčním p53 je významnější u pacientů mladších 60 let a u této skupiny pacientů se dokonce mutace p53 považuje za nejvýznamnější prognostický faktor, i když není častá (22). Jedním z důvodů horší prognózy pacientů s mutací p53 by mohla být snížená schopnost odpovídat na terapii. Obecně je rezistence k léčbě pravděpodobně multifaktoriální, podílí se na ní mj. bcl-2, MRP („multidrug-resistance related protein“) a HSP27 (29), ale byla popsána také jasná souvislost s mutací p53 (21, 30).

2.3. Výskyt mutací p53 vzhledem k fázi leukemogeneze

Zdá se, že inaktivace p53 hraje roli spíše v pozdějších fázích leukemogeneze a jejich vznik je doprovázen posunem k agresivnějšímu leukemickému fenotypu buněk. U chronické myeloidní leukemie je zvažována úloha mutací p53 při přechodu z chronické fáze do blastové krize. Experimenty na transgenních myších, které vedle translokace bcr/abl typické pro CML měly mutaci v jedné alele genu pro p53, ukázaly, že ztráta funkce p53 skutečně přispívá ke zvýšené proliferaci hematopoietických buněk exprimujících bcr/abl a podílí se na vývoji blastického zvratu. U těchto transgenních myší se nemoc vyvinula výrazně rychleji než u myší, které zárodečnou mutaci p53 nenesly, a v šesti z devíti analyzovaných případů došlo ke ztrátě druhé alely (31). Tyto experimenty jsou v souladu se zjištěním, že frekvence mutací p53 je vyšší u pacientů v blastickém zvratu než u pacientů v chronické fázi CML (32, 33, 27, 34). Podobně se mutace p53 vyskytují u pokročilejších subtypů myelodysplastického syndromu a mohly by hrát roli při pře-

chodu do AML (35, 36, 37). Také již zmíněná skutečnost, že výskyt mutací je několikrát častější při relapsu onemocnění než v době jeho záchytu, poukazuje na úlohu inaktivace p53 v pokročilých fázích onemocnění.

Velmi vysoké procento mutací p53 se vyskytuje u leukemických buněčných linií. U myelocytických linií je frekvence mutací okolo 57 %, u monocytických dokonce okolo 91%. Zdá se, že mutace nevznikají *de novo* při tvorbě linií, ale jsou přítomné, alespoň v malém klonu, již v buňkách pacienta (16). Lze tedy předpokládat, že inaktivace p53 zvyšuje schopnost leukemických buněk růst *in vitro.* Ti pacienti, jejichž blasty vykazují vysokou schopnost autonomního růstu *in vitro*, mají horší prognózu a jejich blasty, z nichž byly linie pravděpodobně odvozeny, často vykazují aberantní expresi p53 a jsou relativně rezistentní k indukci apoptózy cytotoxickými léčivy (38, 39).

Na druhé straně nelze vyloučit možnost, že u některých leukemií hraje inaktivace p53 roli v raných fázích leukemogeneze (40, 41). Podle jednoho z navržených mechanizmů se může nestabilita genomu po inaktivaci p53 spolupodílet na vzniku translokací. U některých sekundárních leukemií byly podrobnou analýzou detegovány kopie genů MLL a abl rozptýlené po genomu („segmental jumping translocations"). Tyto amplifikace mohou vznikat právě jako následek genomové nestability po inaktivaci obou alel genu p53 a chemoterapie nebo radioterapie použité při léčbě primárního nádoru. Translokace, při kterých je zasažen gen MLL, jsou specificky spojeny s vývojem některých leukemií, ale role amplifikace genu MLL v leukemogenezi zůstává neznámá. Proto není zcela jasné, zda je možné připsat těmto přestavbám zásadní význam v počátečních fázích vývoje onemocnění a zařadit v tomto případě mutaci p53 mezi rané události leukemogeneze (42).

2.4. Mutace p53 a chromozomální přestavby

p53 je nádorový supresor a pro jeho úplné vyřazení z funkce musí být ve většině případů inaktivovány obě alely. V leukemických buňkách se obvykle kromě aberace typické pro daný typ onemocnění vyskytují i další chromozomální přestavby, mezi nimi i změny chromozomu 17, na kterém je lokalizován gen p53 (17p13). Ztráta celého chromozomu 17 nebo delece jeho části s genem p53 tak může odkrýt bodovou mutaci ve druhé alele genu a vést k úplné ztrátě funkce nádorového supresoru (tzv. ztráta heterozygotnosti – LOH). U leukemií se vyskytují monozomie chromozomu 17, delece nebo jiné přestavby jeho části (zejména nereciproké translokace) a izochromozomy i(17q), při jejichž vzniku dochází ke ztrátě části 17p. U AML s bodovou mutací genu p53 se frekvence změn chromozomu 17 pohybuje mezi 60 % a 80 %. (17, 18, 15, 43, 22, 28). Dá se předpokládat, že u ostatních případů se ve druhé alele genu p53 nacházejí bodové mutace nebo drobné aberace, může se také jednat o poměrně vzácný případ dominantně-negativních mutací (44).

Pacienti s delecí 17p tvoří poměrně malou podskupinu v rámci AML a MDS a výskyt těchto delecí je častější u t-AML a t-MDS než u primárních leukemií (43). Tato podskupina charakteristická specifickými morfologickými znaky a horší prognózou se považuje za samostatnou morfologicko-cytogeneticko-molekulární entitu v rámci MDS a AML (43, 45).

Chromozomální abnormalita i(17q) se vyskytuje asi u 20 % pacientů v blastickém zvratu CML a také u malé části pacientů s AML a dalšími typy leukemie. Byla hledána souvislost mezi mutací p53 a vznikem tohoto izochromozomu, ale výsledky si často protiřečí. Někteří autoři potvrzují, že izochromozom i(17q) je provázen inaktivací druhé alely p53 (46), jiní mutace ve druhé alele genu p53 nezachytili (47, 48). Není proto vyloučeno, že v patogenezi leukemie asociované s izochromozomem 17 by mohl hrát roli jiný nádorově supresorový gen.

3. ALTERNATIVNÍ ZPŮSOBY INAKTIVACE PROTEINU P53

Mutace genu je nejběžnější mechanismus inaktivace nádorového supresoru p53 v nádorových buňkách. U solidních nádorů byly popsány i další mechanismy, z nichž některé se uplatňují také u leukemií: interakce s virovými proteiny, interakce s buněčným onkoproteinem MDM2 a jaderná exkluze. Kromě toho se ukazuje, že některé proteiny vznikající v důsledku translokací by mohly samy alespoň částečně ovlivňovat funkci p53, narušovat proces apoptózy a napomáhat kumulaci dalších změn. Tento mechanismus se týká leukemických chimerických proteinů a je to tedy pravděpodobně mechanismus specifický pro leukemie.

3.1. Inaktivace p53 interakcí s virovými proteiny

Funkce proteinu p53 může být pozměněna interakcí s virovými onkoproteiny – např. s proteinem E1B adenovirů (49), s proteinem E6 lidských papillomavirů (50), s proteinem HBx viru hepatitidy B (51, 52), s velkým antigenem T viru SV40 (53, 54), s proteinem EBNA-5 viru Epstein-Barrové (55) či s proteinem IE84 lidského cytomegaloviru (56). Inaktivace p53 indukovaná viry je skutečně součástí kancerogeneze některých solidních nádorů např. nádorů děložního čípku (57, 58, pro přehled 59).

K inhibici funkce proteinu p53 virovým proteinem dochází u T buněčné leukemie/lymfomu, který je spojen s infekcí virem HTLV-1 („human T-cell lymphotropic virus type 1"). Protein Tax kódovaný tímto virem stabilizuje p53 a narušuje jeho transaktivační funkci inhibicí N-terminální aktivační domény nezávisle na vazebné aktivitě p53. Narozdíl od proteinů výše uvedených virů zde pravděpodobně nedochází k přímé vazbě proteinu Tax na p53, funkce aktivační domény p53 je spíše modifikována fosforylací některých aminokyselin (60, 61). Inhibice funkce proteinu p53 tak pravděpodobně umožňuje vznik chromozomálních abnormalit nebo mutací během dlouhého období chronické infekce virem, jejichž důsledkem je pak propuknutí vlastního onemocnění.

3.2. Inaktivace p53 interakcí s buněčným onkoproteinem MDM2

Protein MDM2 funguje v buňce jako negativní regulátor p53 (62, 63). U sarkomů (64, 65), nádorů mozku (66) a některých dalších typů nádorů byla detegována amplifikace genu mdm2. V buňkách s amlifikací genu mdm2 dochází v důsledku vyšší hladiny proteinu MDM2 ke zvýšené míře odbourávání proteinu p53.

Amplifikace genu mdm2 nebyla u leukemií popsána. Nicméně u různých typů leukémií byla popsána zvýšená exprese mdm2 na úrovni mRNA (67, 68) i na úrovni proteinu (69, 70). V případech, ve kterých byla provedena analýza genu pro p53, nebyla nalezena koincidence mutace p53 a zvýšené exprese mdm2. Pacienti se zvýšenou hladinou exprese mdm-2 měli tendenci mít horší prognózu a hůře reagovali na terapii.

3.3. Jaderná exkluze

Dalším mechanizmem inaktivace p53 je abnormální zadržování funkčního proteinu p53 v cytoplazmě (71, 72), které bylo detegováno u některých typů nádoru prsu a nediferencovaných neuroblastomů. (73, 74, 75). U leukemií tento jev dosud popsán nebyl.

3.4. Interakce proteinu p53 s proteiny vzniklými v důsledku translokací

3.4.1. PML-RARα

Akutní promyelocytární leukemie (APL) je specifickým subtypem akutní myeloidní leukemie, podle FAB klasifikace označovaná jako AML-M3. Ve většině případů je spojena s reciprokou balancovanou translokací, která postihuje chromozomy 15 a 17. Jejím důsledkem je vznik fúzních genů PML-RARα a RARα-PML a následně chimerických proteinů, které interferují s funkcí normálních proteinů PML a RARα.

PML mimo jiné funguje jako pozitivní regulátor apoptózy – závislé i nezávislé na p53 - a je také nezbytný pro senescenci indukovanou po onkogenní transformaci prostřednictvím p53. PML je např. nutný pro správnou acetylaci p53 po působení gamma záření a následnou schopnost p53 vázat se na DNA (76, 77). Protein PML umožňuje vznik a stabilní existenci tzv. jaderných tělísek („nuclear bodies“), ve kterých je lokalizován spolu s proteiny CBP, SUMO-1, Sp100, Sp140, DAXX, RB, p53 a dalšími. Chimerický protein PML-RARa dominantně-negativním způsobem narušuje funkci PML a znemožňuje tvorbu jaderných tělísek. K acetylaci p53, která je nutná k aktivaci tohoto proteinu, pravděpodobně dochází právě v jaderných tělískách, kde je p53 přítomen spolu s acetyltransferázou CBP. Protein PML-RARα tak interferuje s acetylací p53, protože proces acetylace je zřejmě závislý na přítomnosti jaderných tělísek (78).

3.4.2. MLL/MEN

Translokace týkající se oblasti 11q23, ve které se nachází gen MLL, jsou nejčastěji pozorovanou chromozomální abnormalitou u leukemií. Jedním z mnoha možných partnerů genu MLL je gen MEN, který kóduje elongační faktor RNA polymerázy II. Translokace t(11;19)(q23;p13,1) zodpovědná za fúzi těchto dvou genů se vyskytuje u myeloidních leukemií dospělých. Chimerický protein MLL/MEN se buď přímo nebo nepřímo váže na protein p53 a potlačuje jeho transaktivační schopnost. Interakce MLL/MEN s p53 je závislá na přítomnosti části MEN, samotný protein MEN je schopen inhibovat transaktivační funkci p53 stejně účinně. Možným mechanizmem deregulace vztahu MLL/MEN – p53 ve srovnání s MEN – p53 by mohla být buď zvýšená stabilita chimerického proteinu MLL/MEN oproti samotnému MEN, nebo změněná exprese chimerického proteinu, která je řízena z promotoru genu MLL (79).

3.4.3. CBFβ-SMMHC

Fúzní gen CBFβ-SMMHC je exprimován v blastech pacientů s AML M4eo jako důsledek inverze inv(16)(p13q22) nebo translokace t(16;16)(p13q22). Následkem těchto chromozomálních přestaveb je transkripční faktor CBFβ připojen ke koncové doméně proteinu SMMHC („smooth muscle myosin heavy chain“). Normální CBFβ tvoří v buňce heterodimerní transkripční faktor CBF s jednou ze tří podjednotek CBFα: CBFα1, AML1 (CBFα2) nebo CBFα3. Heterodimer se prostřednictvím podjednotky CBFα váže na DNA, podjednotka CBFβ zvyšuje afinitu této vazby.

Britos-Bray et al. (80) navrhli jeden z možných způsobů, jakým by mohl CBFβ-SMMHC přispívat k leukemogenezi. Ukázali, že u buněk exprimujících CBFβ-SMMHC je snížena indukce p53 a zpomalena apoptóza po působení ionizujícího záření a etoposidu. Ke snížení apoptózy je nezbytná interakce chimerického proteinu s podjednotkou CBFα, což naznačuje, že fúzní protein interferuje se schopností transkripčního faktoru CBF aktivovat cílový gen nebo skupinu genů. Snížená indukce p53 tak může být způsobena přímou inhibicí transkripce p53.

4. ÚLOHA FUNKČNÍHO PROTEINU p53 V LEUKEMOGENEZI

Pro doplnění úplného spektra možných rolí p53 v leukemogenezi zde zbývá zmínit zajímavý model, který navrhli Megonigal et al. (81). Podle tohoto modelu by důležitou úlohu v leukemogenezi mohl hrát funkční p53, a to při vzniku chromozomálních translokací genu MLL. V tomto genu se v blízkosti jednoho místa zlomů vyskytují nespárované nukleotidy a cílová místa pro štěpení DNA topoizomerázou II. Tento enzym způsobuje zlomy v DNA, které následně spojuje. Model předpokládá narušení ligační aktivity enzymu protinádorovými léčivy (např. epipodophyllotoxinem) u sekundárních leukemií nebo jiným poškozením DNA u *de novo* případů. V takovém případě dojde ke zlomu chromozomu topoizomerázou II, nemůže už ovšem dojít k ligaci. Volné konce jsou podle modelu spojeny reparačními mechanismy, což může vést k translokaci. Jedním z proteinů, které se uplatňují při opravách zlomů DNA, je právě protein p53. Úloha jeho funkční varianty při vzniku těchto translokací by pak mohla vysvětlovat nízkou frekvenci mutací v genu p53 přinejmenším u leukemií spojených s přestavbami genu MLL, zvláště v časných stádiích leukemogeneze.

5. ZÁVĚR

V tomto článku jsme se pokusili shrnout publikované informace o možné úloze proteinu p53 v procesu leukemogeneze. Výchozím bodem úvah o možné roli p53 bylo zjištění, že mutace genu p53 jsou u leukémií poměrně vzácné.Ukázali jsme, že v těch případech, kde se mutace v genu p53 vyskytují, nejde pouze o jakýsi vedlejší produkt nestability genomu, ale tyto mutace přispívají k leukemickému fenotypu buněk. Dále jsme ukázali, že nízkou frekvenci mutací genu p53 lze vysvětlit také uplatněním alternativních mechanizmů inaktivace p53 a zmínili jsme některé novější poznatky o inhibici p53 fúzními proteiny exprimovanými jako důsledek vzniku translokací. Vysoce pravděpodobné však je, že u významné části leukemií není v procesu jejich vývoje inaktivace proteinu p53 ani jeho dráhy nezbytná (82).

Další výzkumy ukáží, jaký je podíl inaktivace proteinu p53 na vývoji leukemického fenotypu ať už mutací nebo některým alternativním mechanizmem, bude zajímavé sledovat výsledky naznačující, v čem je role proteinu p53 v leukemogenezi odlišná či méně významná než při vývoji solidních nádorů. Vzhledem k nízké frekvenci výskytu mutací p53 v leukemických buňkách nebude mít pravděpodobně jejich detekce velký význam v klinické praxi, ale poznání širších souvislostí jejich vzniku a výskytu by mohlo přispět k pochopení procesu leukemogeneze.

Tato práce byla sponzorována grantem IGA MZ ČR č. NC/6395-3 a MZ0002980501.

Literatura

1. Compagni A., Christofori G.: Recent advances in research on multistage tumorigenesis. Br.J.Cancer 2000, 83, 1-5.
2. Hanahan D., Weinberg R.A.: The hallmarks of cancer. Cell 2000, 100, 57-70.
3. Lane D.P.: p53, guardian of the genome. Nature 1992, 358, 15-16.
4. Levine A.J.: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. Cell 1997, 88, 323-331.
5. Albrechtsen N., Dornreiter I., Grosse F., Kim E., Weismuller L., Deppert W.: Maintenance of genomic integrity by p53: complementary roles for activated and non-activated p53. Oncogene 1999, 18, 7706-7717.
6. Hollstein M., Rice K., Greenblatt M.S., Soussi T., Fuchs R., Sorlie T., Hovig E., Smith-Sorensen B., Montesano R., Harris C.C.: Database of p53 gene somatic mutations in human tumors and cell lines. Nucl.Acid.Res. 1994, 22, 3551-3555.
7. Look A.T.: Genes altered by chromosomal translocations in leukemias and lymphomas. In: The genetic basis of human cancer, eds. Vogelstein B., Kinzler K.W., The McGraw-Hill companies, Inc. 1998, 109-141.
8. Uckun F.M., Herman-Hatten K, Crotty M-L., Sensel M.G., Sather H.N., Tuel-Ahlgren L., Sarquis M.B., Bostrom B., Nachman J.B., Steinherz P.G., Gaynon P.S., Heerema N.: Clinical significance of MLL-AF4 fusion transcript expression in the absence of a cytogenetically detectable t(4;11)(q21;q23) chromosomal translocation. Blood 1998, 92, 810-821.
9. Biernaux C., Loos M., Sels A., Huez G., Stryckmans P.: Detection of major bcr-abl gene expression at a very low level in blood cells of some healthy individuals. Blood 1995, 86, 3118-3122.
10. Biernaux C, Sels A, Huez G., Stryckmans P.: Very low level of major BCR-ABL expression in blood of some healthy individuals. Bone Marrow Transplant. 1996, 17, 45-47.
11. Dolken G., Illerhaus G., Hirt C., Mertelsmann R.: BCL-2/JH rearrangements in circulating B cells of healthy blood donors and patients with nonmalignant diseases. J.Clin.Oncol. 1996,14, 1333-1344.
12. Hunger S.P., Cleary M.L.: What significance should we attribute to the detection of MLL fusion transcripts? Blood 1998, 92, 709-711.

13. Sawyers C.L., Denny C.T., Owen N.W.: Leukemia and the disruption of normal hematopoiesis. Cell 1991, 64, 337-350.
14. Eaves C., Cashman J., Eaves A.: Defective regulation of leukemic hematopoiesis in chronic myeloid leukemia. Leuk.Res. 1998, 22, 1085-1096.
15. Parry TE: The non-random distribution of point mutations in leukaemia and myelodysplasia – a possible pointer to their aetiology. Leuk. Res. 1997, 21, 559-74.
16. Drexler H.G., Fombonne S., Matsuo Y., Hu Z-B, Hamaguchi H., Uphoff C.C.: p53 alterations in human leukemia-lymphoma cell lines: in vitro artifact or prerequisite for cell immortalization? Leukemia 2000, 14, 198-206.
17. Fenaux P., Jonveaux P., Quiquandon I., Lai J.L., Pignon J.M., Loucheux-Lefebvre M.H., Bauters F., Berger R., Kerckaert J.P.: P53 gene mutations in acute myeloid leukemia with 17p monosomy. Blood 1991, 78, 1652-1657.
18. Fenaux P., Preudhomme C., Quiquandon I., Jonveaux P., Lai J.L., Vanrumbeke M., Loucheux-Lefebvre M.H., Bauters F., Berger R., Kerckaert J.P.: Mutations of the P53 gene in acute myeloid leukaemia. Br.J.Haematol. 1992, 80, 178-183.
19. Hu G., Zhang W., Diesseroth A.B.: P53 gene mutations in acute myelogenous leukaemia. Br.J.Haematol. 1992, 81,489-494.
20. Trecca D., Longo L., Biondi A., Cro L., Calori R., Grignani F., Maiolo A.T., Pelicci P.G., Neri A.: Analysis of p53 gene mutations in acute myeloid leukemia. Am.J.Hematol. 1994, 46, 304-309.
21. Wattel E., Preudhomme C., Hecquet B., Vanrumbeke M., Quesnel B., Dervite I., Morel P., Fenaux P.:p53 mutations are associated with resistance to chemotherapy and short survival in hematologic malignancies. Blood 1994, 84, 3148-3157.
22. Nakano Y., Naoe T., Kiyoi H., Kitamura K., Minami S., Miyawaki S., Asou N., Kuriyama K., Kusumoto S., Shimazaki C., Akiyama H., Saito K., Nishimura M., Motoji T., Shinagawa K., Saito H., Ohno R.: Prognostic value of p53 gene mutations and the product expression in de novo acute myeloid leukemia. Eur.J.Haematol. 2000, 65, 23-31.
23. Soussi T., Legros Y., Lubin R., Ory K., Schlichtholz B: Multifactorial analysis of p53 alteration in human cancer: a review. Int.J.Cancer 1994, 57, 1-9.
24. O'Connor P.M., Jackman J., Bae I., Myers T.G., Fan S., Mutoh M., Scudiero D.A., Monks A., Sausville E.A., Weinstein J.N., Friend S., Fornace A.J.Jr., Kohn K.W.: Characterization of the p53 tumor suppressor pathway in cell lines of the national cancer institute anticancer drug screen and correlations with the growth-inhibitory potency of 123 anticancer drug. Cancer Res. 1997, 57, 4285-4300.
25. Greenblatt M.S., Bennett W.P., Hollstein M., Harris C.C.: Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. Cancer Res. 1994, 54, 4855-4878.
26. Martinez-Delgado B., Robledo M., Arranz E., Infantes F., Echezaretta G., Marcos B., Sanz C., Rivas C., Benitez J.: Correlation between mutations in p53 gene and protein expression in human lymphomas. Am.J.Hematol. 1997, 55, 1-8.
27. Guinn B.A., Mills K.I.: p53 mutations, methylation and genomic instability in the progression of chronic myeloid leukaemia. Leuk. Lymphoma 1997, 26, 211-226.
28. Christiansen D.H., Andersen M.K., Pedersen-Bjergaard J.: Mutations with loss of p53 are common in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia after exposure to alkylating agents and significantly associated with deletion or loss of 5q, a complex karyotype, and a poor prognosis. J.Clin.Oncol. 2001, 19, 1405-1413.
29. Kasimir-Bauer S., Ottinger H., Meusers P., Beelen D.W., Brittinger G., Seeber S., Scheulen M.E.: In acute myeloid leukemia, coexpression of at least two proteins, including P-glycoprotein, the multidrug resistance-related protein, bcl-2, mutant p53, and heat-shock protein 27, is predictive of the response to induction chemotherapy. Exp. Hematol. 1998, 26, 1111-1117.
30. Matozaki S., Nakagawa T., Kawaguchi R., Aozaki R., Tsutsumi M., Murayama T., Koizumi T., Nishimura R., Isobe T., Chihara K.: Establishment of a myeloid leukaemic cell line (SKNO-1) from a patient with t(8;21) who acquired monosomy 17 during disease progression. Br.J.Haematol. 1995, 89, 805-811.
31. Honda H., Ushijima T., Wakazono K., Oda H., Tanaka Y., Aizawa S., Ishikawa T., Yazaki Y., Hirai H.: Acquired loss of p53 induces blastic transformation in p210bcr/abl-expressing hematopoietic cells: a transgenic study for blast crisis of human CML. Blood 2000, 95, 1144-1150.
32. Foti A., Ahuja H.G., Allen S.L., Koduru P., Schuster M.W., Schulman P., Bar-Eli M., Cline M.J.: Correlation between molecular and clinical events in the evolution of chronic myelocytic leukemia in blast crisis. Blood 1991, 77, 2441-2444.
33. Nakai H., Misawa S., Toguchida J., Yandell D.W., Ishizaki K.: Frequent p53 gene mutations in blast crisis of chronic myelogenous leukemia, especially in myeloid crisis harboring loss of chromosome 17p. Cancer Res. 1992, 52, 6588-6593.
34. Beck Z., Kiss A., Toth F.D., Szabo J., Bacsi A., Balogh E., Borbely A., Telek B., Kovacs E., Olah E., Rak K.: Alterations of p53 and RB genes and the evolution of the accelerated phase of chronic myeloid leukemia. Leuk.Lymphoma 2000, 38, 587-597.
35. Adamson D.J., Dawson A.A., Bennett B., King D.J., Haites N.E.: p53 mutation in the myelodysplastic syndromes. Br.J.Haematol. 1995, 89, 61-66.
36. Mori N., Hidai H., Yokota J., Okada M., Motoji T., Oshimi K., Mizoguchi H.: Mutations of the p53 gene in myelodysplastic syndrome and overt leukemia. Leuk.Res. 1995, 19, 869-875.
37. Castro P.D., Liang J.C., Nagarajan L.: Deletions of chromosome 5q13.3 and 17 p loci cooperate in myeloid neoplasms. Blood 2000, 95, 2138-2143.
38. Zhu Y.M., Bradbury D., Russell N.: Expression of different conformations of p53 in the blast cells of acute myeloblastic leukaemia is related to in vitro growth characteristics. Br.J. Cancer 1993, 68, 851-855.
39. Russell N.H., Hunter A.E., Bradbury D., Zhu Y.M., Keith F.: Biological features of leukaemic cells associated with autonomous growth and reduced survival in acute myeloblastic leukaemia. Leuk.Lymphoma 1995,16, 223-229.
40. Kaneko H., Misawa S., Horiike S., Nakai H., Kashima K.: TP53 mutations emerge at early phase of myelodysplastic syndrome and are associated with complex chromoslomal abnormalities. Blood 1995, 85, 2189-2193.
41. Misawa S., Horiike S., Kaneko H., Sasai Y., Ueda Y., Nakao M., Yokota S., Taniwaki M., Fujii H., Nakagawa H., Tsuda S., Kashima K.: Significance of chromosomal alterations and mutations of the N-RAS and TP53 genes in relation to leukemogenesis of acute myeloid leukemia. Leuk.Res. 1998, 22, 631-637.
42. Felix C.A., Megonigal M.D., Chervinsky D.S., Leonard D.G.B., Tsuchida N., Kakati S., Block A.M.W., Fisher J., Grossi M., Salhany K.I., Jani-Sait S.N., Aplan P.D.: Association of germline p53 mutation with MLL segmental jumping translocation in treatment-related leukemia. Blood, 1998, 91, 4451-4456.
43. Soenen V., Preudhomme C., Roumier C., Daudignon A., Lai J-L., Fenaux P.: 17p deletion in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. Analysis of breakpoints and deleted segments by fluorescence in situ. Blood 1998, 91, 1008-1015.
44. Felix C.A., Nau M.M., Takahashi T., Mitsudomi T., Chiba I., Poplack D.G., Reaman G.H., Cole D.E., Letterio J.J., Whang-Peng J., Knutsen T., Minna J.D.: Hereditary and acquired p53 gene mutations in childhood acute lymphoblastic leukemia. J.Clin.Invest. 1992, 89, 640-647.
45. Lai J.L., Preudhomme C., Zandecki M., Flactif M., Vanrumbeke M., Lepelley P., Wattel E., Fenaux P.: Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with 17p deletion. An entity characterized by specific dysgranulopoiesis and a high incidence od P53 mutations. Leukemia 1995, 9, 370-381.
46. Feinstein E., Cimino G., Gale R.P., Alimena G., Berthier R., Kishi K., Goldman J., Zaccaria A., Berrebi A., Canaani E.: p53 in chronic myelogenous leukemia in acute phase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 88, 6293-6297.
47. Schutte J., Opalka B., Becher R., Bardenheuer W., Szymanski S., Lux A., Seeber S.: Analysis of the p53 gene in patients with isochromosome 17q and Ph-positive or -negative myeloid leukemia. Leuk.Res. 1993, 17, 533-539.
48. Fioretos T., Strömbeck B., Sandberg T., Johansson B., Billström R., Borg A., Nilsson P-G., Van Den Berghe H., Hagemeijer A., Mitelman F., Höglund M.: Isochromosome 17q in blast crisis of chronic myeloid leukemia and in other hematologic malignancies is the result of clustered breakpoints in 17p11 and is not associated with coding TP53 mutations. Blood 1999, 94, 225-232.
49. Sarnow P., Shih Ho Y., Williams J., Levine A.J.: Adenovirus E1b – 58kd tumor antigen and SV40 large tumor antigen are physically associated with the same 54kd cellular protein in transformed cells. Cell 1982, 28, 387-394.
50. Dyson N., Howley P.M., Munger K., Harlow E.: The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. Science 1989, 243, 934-937.
51. Feitelson M.A., Zhu M., Duan L-X., London W.T.: Hepatitis B X antigen and p53 are associated in vitro and in liver tissues from patients with primary hepatocellular carcinoma. Oncogene 1993, 8, 1109-1117.
52. Wang X.W., Forrester K., Yeh H., Feitelson M.A., Gu J.R., Harris C.C.: Hepatitis B virus X protein inhibits p53 sequence-specific DNA-binding, transcriptional activity, and association with transcription factor ERCC3. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1994, 91, 2230 – 2234.
53. Lane D.P., Crawford L.V.: T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. Nature 1979, 278, 261-263.
54. Linzer D.I., Levine A.J.: Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. Cell 1979, 17, 43-52
55. Szekely L., Selivanova G., Magnusson K.P., Klein G., Wiman K.G.: EBNA-5, an Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen, binds to the retinoblastoma and p53 proteins. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1993, 90, 5455-5459.
56. Speir E., Modali R., Huang E.S., Leon M.B., Shawl F., Finkel T., Epstein S.E.: Potential role of human cytomegalovirus and p53 interaction in coronary restenosis. Science 1994, 265, 391-394.
57. Werness B.A., Levine A.J., Howley P.M.: Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. Science 1990, 248, 76-79.
58. Scheffner M., Werness B.A., Huibregtse J.M., Levine A.J., Howley P.M.: The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. Cell 1990, 63, 1129-1136.
59. Thomas M., Pim D., Banks L.: The role of the E6-p53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. Oncogene 1999, 18, 7690-7700.
60. Pise-Masison C.A., Choi K-S., Radonovich M., Dittmer J., Kim S-J., Brady J.: Inhibition of p53 transactivation function by the human T-cell lymphotropic virus type 1 Tax protein. J.Virol. 1998, 72, 1165-1170.
61. Pise-Masison C.A., Radonovich M., Sakaguchi K., Apella E., Brady J.: Phosphorylation of p53: a novel pathway for p53 inactivation in human T-cell lymphotropic virus type-1 transformed cells. J.Virol. 1998, 72, 6348-6355.
62. Marks J.R., Davidoff A.M., Kerns B.J., Humphrey P.A., Pence J.C., Dodge R.K., Clarke-Pearson D.L., Inglehart J.D., Bast R.C., Berchuck A.: Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. Cancer Res. 1991, 51, 2979-2984.
63. Mietz J.A., Unger T., Huitregtse J.M., Howley P.M.: The transcriptional transactivation function of wild-type p53 protein is inhibited by SV40 large T-antigen and by HPV-16 E6 oncoprotein. EMBO J. 1992, 11, 5013-5020.
64. Momand J., Zambetti G.P., Olson D.C., George D., Levine A.J.: The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. Cell 1992, 69, 1237-1245.
65. Oliner J.D., Kinzler K.W., Meltzer P.S., George D.L., Vogelstein B.: Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. Nature 1992, 358, 80-83.
66. Reifenberger G., Liu L., Ichimura K., Schmidt E.E., Collins V.P.: Amplification and overexpression of the MDM2 gene in a subset of human malignant gliomas without p53 mutations. Cancer Res. 1993, 53, 2736-2739.
67. Quesnel B., Preudhomme C., Oscier D., Lepelley P., Collyn-d'Hooghe M., Facon T., Zandecki M., Fenaux P.: Over-expression of the MDM-2 gene is found in some cases of haematological malignancies. Br.J.Haematol. 1994, 88, 415-418.
68. Bueso-Ramos C.E., Yang Y., deLeon E., McCown P., Stass S.A., Albitar M.: The human MDM-2 oncogene is overexpressed in leukemias. Blood 1993, 82, 2617-2623.
69. Zhou M., Gu L., Abshire T.C., Homans A., Billett A.L., Yeager A.M., Findley H.W.: Incidence and prognostic significance of MDM2 oncoprotein

overexpression in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia 2000, 14, 61-67.
70. Faderl S., Kantarjian H. M., Estey E., Manshouri T., Chan C. Y., Rahman Elsaied A., Kornblau S. M., Cortes J., Thomas D. A., Pierce S., Keating M. J., Estrov Z., Albitar M.: The prognostic significance of p16(INK4a)/p14(ARF) locus deletion and MDM-2 protein expression in adult acute myelogenous leukemia. Cancer 2000, 89, 1976-1982.
71. Gannon J.V., Lane D.P.: Protein synthesis required to anchor a mutant p53 protein which is temperature-sensitive for nuclear transport. Nature 1991, 349, 802-806.
72. Liang S.H., Hong D., Clarke M.F.: Cooperation of a single lysine mutation and a C-terminal domain in the cytoplasmic sequestration of the p53 protein. J.Biol.Chem. 1998, 273, 19817-19821.
73. Moll U.M., Riou G., Levine A.: Two distinct mechanisms alter p53 in breast cancer: mutation and nuclear exclusion. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1992, 89, 7262-7266.
74. Moll U.M., LaQuaglia M., Benard J., Riou G.: Wild-type p53 protein undergoes cytoplasmic sequestration in undifferentiated neuroblastomas but not in differentiated tumors. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1995, 92, 4407-4411.
75. Moll U.M., Ostermeyer A.G., Haladay R., Winkfield B., Frazier M., Zambetti G.: Cytoplasmic sequestration of wild-type p53 protein impairs the G1 checkpoint after DNA damage. Mol.Cell.Biol. 1996, 16, 1126-1137.
76. Pearson M.R., Carbone R., Sebastiani C., Fagioli M., Saito S., Higashimoto Y., Appella E., Minucci S., Pandolfi P.P., Palicci P.G.: PML regulates p53 acetylation and premature senescence induced by oncogenic Ras. Nature 2000, 406, 207-210.
77. Guo A., Salomoni P., Luo J., Shih A., Zhong S., Gu W., Pandolfi P.P.: The function of PML in p53-dependent apoptosis. Nat.Cell Biol. 2000, 2, 730-736.
78. Pandolfi PP: Oncogenes and tumor suppressors in the molecular pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. Hum.Mol.Genet. 2001, 10, 769-775.
79. Maki K., Mitani K., Yamagata T., Kurokawa M., Kanda Y., Yazaki Y., Hirai H.: Transcriptional inhibition of p53 by the MLL/MEN chimeric protein found in myeloid leukemia. Blood 1999, 93, 3216-3224.
80. Britos-Bray M., Ramirez M., Cao W., Wang X., Liu P.P., Civin C.I., Friedman A.D.: CBFb-SMMHC, expressed in M4eo acute myeloid leukemia, reduces p53 induction and slows apoptosis in hematopoietic cells exposed to DNA-damaging agents. Blood 1998, 92, 4344-4352.
81. Megonigal M.D., Rappaport E.F., Nowell P.C., Lange B.J., Felix C.A.: Potential role for wild-type p53 in leukemias with MLL gene translocations. Oncogene 1998, 16, 1351-1356.
82. Sutcliffe T, Fu L, Abraham J, Vaziri H, Benchimol S.: A functional wild-type p53 gene is expressed in human acute myeloid leukemia cell lines. Blood 1998, 92, 2977-2979.
83. Harris C.C.: p53 tumor suppressor gene: from the basic research laboratory to the clinic – an abridged historical perspective. Carcinogenesis 1996, 17, 1187-1198.

informace

VÍCEČETNÉ MALIGNITY - NĚKTERÉ ZKUŠENOSTI ZE ZAHRANIČÍ
MULTIPLE MALIGNANCIES – SOME EXPERIENCES FROM OTHER COUNTRIES

VÍTOVÁ V.
Masarykův onkologický ústav, Brno

V posledních několika letech je možno sledovat v zahraniční literatuře zvýšený zájem o problematiku vícečetných malignit (VM). Jde o poměrně unikátní problematiku. Autoři publikují kasuitiky, výsledky statistických analýz dat jednotlivých onkologických registrů (OR), i multicentrických studií. Interpretace výsledků významně závisí také na kvalitě, obsahu a délce onkologické registrace. Studie jsou často koncipovány tak, že sledují významné závislosti mezi *jednou,* případně jen několika primárními onkologickými diagnózami, a *následně* se vyskytujícími tzv. *sekundárně primárními zhoubnými nádory* (ZN). Většinou nepracují současně se všemi primárními diagnózami ZN dle seznamu MKN 10 a neposkytují celoplošný (např. celostátní) pohled na problematiku VM.

• **Anglie:** Autoři zjistili v kohortě žen z jihovýchodní Anglie s primárním ZN prsu diagnostikovaným do 50 let věku zvýšené riziko pro 9 nádorových topik: jícen, žaludek, plíce, kost, pojivová tkáň, prs, tělo děložní, vaječník a myeloidní leukémie ve srovnání s 2 topikami (tělo děložní a myeloidní leukémie) u žen nad 50 let (2).

• **Dánsko:** *Mellemgaard a kol.* prokázali za 33 roky sledování 7 391 pacienta s chronickou lymfatickou leukémií signifikantně zvýšený výskyt následných ZN u obou pohlaví. Šlo o ZN plic a prostaty u mužů, ZN ledvinového parenchymu a nemelanomové ZN kůže (NMNK) u obou pohlaví (6).

• **Finsko:** *Sankila* referuje o velmi vysokém relativním riziku následných malignit – ZN prsu u dospívajících pacientů, kteří se v dětském věku léčili pro Hodgkinovu nemoc (9).

• **Izrael:** *Frenkel* upozorňuje na zvýšenou incidenci sekundární leukémie u pacientek s gynekologickou diagnózou (ZN ovaria a těla děložního). Za 15 let sledování představují VM 6,1 % (4). *Robinson* našel 247 pacientek se ZN prsu, po němž byly diagnostikovány: ZN kontralaterálního prsu, kolon, ovaria a endometria (8).

• **Japonsko:** V průběhu 21 let se u 969 pacientů (828 mužů a 141 žen) s ZN močového měchýře vyskytlo 81 duplicitních a 6 triplicitních ZN. Převážně šlo o ZN prostaty, žaludku, prsu a kolorekta. Nádory ostatních jmenovaných topik byly diagnostikovány zhruba po jedné třetině případů před, synchronně a následně po zjištění ZN močového měchýře (10).

• **Kanada:** Při analýze dat OR dvou provincií (Britská Kolumbie a Manitoba) zjistili autoři zvýšenou asociaci adenokarcinomu tenkého střeva se ZN kolon, rekta nebo obou. ZN tenkého střeva byl ve _ případů diagnostikován následně (7).

• **Švédsko:** *Berggfeldt* zjistil po 35 letech sledování onkologicky nemocných žen *s ZN čípku děložního* signifikantně zvýšené riziko následných ZN kolon, rekta, plic, vulvy, ledvin a močového měchýře, *se ZN těla děložního* – ZN kolon, ovaria, vulvy a močového měchýře, *se ZN ovaria* – ZN kolon, rekta, prsu, těla děložního, močového měchýře a leukémie (1).

• **Švýcarsko:** Na základě analýzy dat OR Swiss Canton of Vaud autoři upozorňují na vysokou incidenci sekundárních malignit během 17 let sledování žen s diagnostikovaným carcinoma in situ prsu. U sledovaných 249 žen bylo následně diagnostikováno 24 případů ZN prsu (s převahou duktálního histologického typu), 7 případů jiných ZN (oropharynx, kolorektum, žlučník, 2x plíce, kožní melanom, ovarium) a 6 případů NMNK (3). *Lèvi a kol.* se po analýze primárních ZN prostaty shodli s jinými autory na snížené incidenci následných ZN jiných topik. Za 20 let sledování byla nižší incidence (SIR) následných nádorů plic a jiných kouřením podmíněných ZN (dutina ústní a pharynx), jícnu, pankreatu, laryngu. Srovnatelná byla incidence urologických ZN a kolorekta. Výrazněji snížená SIR ZN plic byla u mužů nad 75 let věku a u kratší doby než 5 let od zjištění primární diagnózy (5).

• **USA:** *Travis a kol.* popsali zvýšenou incidenci akutní nelymfatické leukémie, melanomu, non - Hodgkinského lymfomu a ZN žaludku, kolon, rekta, pankreatu, prostaty, ledvin, močového měchýře, thyreoidey a pojivové tkáně za více než 2 dekády od zjištění primárního ZN varlete u cca 29 tisíc mužů přežívajících více než 1 rok. Tuto situaci zřejmě ovlivnily: protinádorová chemo - a radioterapie, předchorobí a další ještě neznámé vlivy (11).

Literatura

1. Bergfeldt K. a kol.: Increased risk of second primary malignancies in patients with gynekological cancer. A Swedish record – linkage study. .Acta - Oncol. 34 (6):771 – 7 1995
2. Evans H.S. a kol.: Incidence of multiple primary cancers in a cohort of women diagnosed with breast in southeast England. Br J Cancer 2001 Feb 2; 84(3): 435 - 40
3. Franceschi S. a kol.: Second cancers following *in situ* carcinoma of the breast. Int. J. Cancer: 77, 392 – 395 (1998)
4. Frenkel Y. a kol.: Second primary cancres in cohort of Israeli women with primary gynekologic malignancies. Gynekol - Oncol. 61(1):61 – 7 1996
5. Levi F. a kol.: Second primary tumors after prostate carcinoma. Cancer October 15, 1999 /Volume 86/ Number 8
6. Mellemgaard A. a kol.: Risk of kidney cancer and other second solid malignancies in patients with chronic lymfotic leukemia. Eur–J–Haematol. 53(4):218-22 1994
7. Ripley D. a kol: Increased incidence of second malignancies associated with small bowel adenocarcinoma. .Can–J–Gastroenterol. 11(1):65-8 1997.
8. Robinson E. a kol.: Clinical characteristic of second primary tumors following breast cancer. Isr-J-Med-Sci. 31(2 – 3):169-71 1995
9. Sankila R. a kol.: Risk of subsequent malignat neoplasmas among 1641 Hodgkin's disease patients diagnosed in childhood and adolescence: a population cohort study in the five Nordic countries. J-Clin-Oncol. 14(5):1442-6 1996
10. Tashiro K. a kol.: Double cancer observed from bladder cancer. Nippon – Hinyokika –Gakkai – Zasshi. 90(4):509-13
11. Travis L. B. a kol.: Risk of second malignant neoplasms among long – term survivors of testicular cancer. J-Natl-Cancer-Inst. 89(19):1429-39 1997.

KONTROVERZE V MODERNÍ LÉČBĚ POKROČILÉHO OVARIÁLNÍHO KARCINOMU

CONTROVERSIES IN THE MODERN TREATMENT OF THE ADVANCED OVERIAN CANCER

TESAŘÍK Z.
GYNEKOLOG – BRNO

Abstrakt: Ovariální karcinom (OC) je stále prognosticky nejhorší gynekologickou malignitou. Optimální léčba pokročilého OC spočívá v optimální operaci - pokud možno bez ponechání rezidua a v optimální chemoterapii. Tou je dnes režim Taxol + karboplatina event. Taxol + cisplatina. V léčbě však stále existuje řada problémů a nejasností. Je hledána případná tříléková kombinace pro 1. linii, není jasné, zda 6 cyklů adjuvantní léčby opravdu stačí. Bylo opuštěno rutinní provádění second look operace, stejně tak není jasné postavení intraperitoneální chemoterapie. Hledá se vhodný režim pro konsolidační léčbu. Stále je pozornost věnována možnému využití vysokodávkované chemoterapie. Jasné není ani optimální sledování tumormarkerů po léčbě. V budoucnu snad bude možno využívat výsledků testování rezistence na cytostatika a výsledek využít především pro volbu režimu druhé linie. V oblasti operativy se razí IDS (interval debulking surgery), i když její začlenění do léčby rovněž vyžaduje další studie. Další možností je u vhodných pacientek podat neoadjuvantní chemoterapii a operovat následně. Léčba recidiv je stále svízelná a obvykle paliativní. Zatímco u Pt senzitivních žen lze podat opět předchozí režim, u Pt rezistentních žen stále nemáme velkou šanci na dobré léčebné výsledky. Je diskutována role chirurgického řešení recidiv.

Klíčová slova: ovariální karcinom, chemoterapie, Taxol, interval debulking surgery, dose-density chemoterapie, neoadjuvantní chemoterapie, recidivující OC

Summary: Ovarian carcinoma (OC) remains the gynecological malignancy with the worst prognosis. Optimal OC treatment still consists of competent surgical procedure - preferably without leaving a tumor residue - and optimal chemotherapy, which is currently represented by the Taxol/Carboplatin or Taxol/Cisplatin regimens. However, the OC therapy is continually associated with a number of uncertainties and problems. The search goes on for a three drug combination to be employed as first line chemotherapy and it remains unclear whether six cycles of adjuvant chemotherapy are sufficient. Routine use of the second look operation has been abandoned and the place of intraperitoneal chemotherapy in the OC treatment is uncertain. A proficient regimen for consolidation therapy is yet to be discovered. Even the role of tumor marker monitoring after the treatment remains unclear. Testing of resistance to cytostatic agents might be used in the future especially in designing the regimens for second line chemotherapy. Interval debulking surgery (IDS) is being asserted, although its embodiment in the therapeutic process needs to be further investigated. In a certain group of patients, neoadjuvant chemotherapy followed by radical surgery appears to be another valid therapeutic approach. The therapy of OC relapse remains problematic and largely palliative. Whereas in the Pt sensitive patients the previous regimen can be applied repeatedly, chances to affect the recurrent disease in Pt resistant women remain dim. The place of surgical intervention in treatment of recurrent OC is still being discussed.

Key words: ovarian cancer, chemotherapy, Taxol, interval debulking surgery, neoadjuvant chemotherapy, dose-dense chemotherapy, relapsed ovarian cancer

Úvod

I přes značné pokroky v léčbě ovariálního karcinomu (OC) v posledních desetiletích zůstává prognóza pokročilého onemocnění nejistá. Udává se, že až 75 % žen přichází s onemocněním ve stadiu, kdy šance na pětileté přežití je pouze 15 - 20 %[1]. Tento fakt odráží skutečnost, že dosud neexistuje screeningová metoda, která by umožnila efektivně vyšetřovat širokou populaci žen a zachytit OC v časném stadiu[2,3]. Současně platí, že mnoho žen léčených pro pokročilý OC i po dobrém efektu primární léčby posléze relabuje a umírá na recidivu onemocnění. Platí nicméně, že největší šanci na dobré léčebné výsledky mají ženy optimálně léčené. Za optimální považujeme takovou léčbu, kdy po optimální operaci následuje optimální adjuvantní chemoterapie.

Optimální operace

Optimální operační výkon je takový, kdy je žena operována radikálně bez ponechání nádorového rezidua. Znamená to tedy, že při operaci byly odstraněny všechny orgány, které podle protokolu mají být odstraněny (děloha, obě adnexa, kompletní omentum a appendix)[4,5,6] a současně, že v dutině břišní nezůstává žádná nádorová tkáň. Pětileté přežití (PLP) je úměrné velikosti nádorového rezidua[7,8,9]. Podle Annual Reportu (1990-92) je PLP u rezidua většího než 2 cm v průměru udáváno 13,1 %, u rezidua s průměrem menším než 2 cm 32,5 %, u žen bez makroskopického rezidua 38,2 % a u žen bez mikroskopického rezidua 56,5 %. Velikost nádorového rezidua přitom závisí na rozsahu primárního tumoru a na erudici onkochirurga. Víme ovšem, že zhruba u 50 % žen s OC stadia IIIc a IV není optimální chirurgický výkon možný. Současně ovšem platí, že vedle velikosti rezidua se na prognóze nemocné podílejí i jiné nezávislé prognostické faktory (1).

Optimální adjuvantní léčba resp. optimální chemoterapie 1. linie

Za optimální chemoterapii pro léčbu pokročilého OC je dnes považován režim Taxol 175 mg/m^2 ve tříhodinové i.v. infúzi následovaný karboplatinou počítanou podle Calverta pro AUC = 5 - 7,5. Výpočet podle Calverta umožňuje lépe individualizovat dávku karboplatiny podle funkční schopnosti ledvin (10). Obvykle je podáváno 6 cyklů po 21 dnech [4, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21]. Tento režim byl stanoven jako efektivnější než dřívější DDP/CFA dnes již klasickou studií GOG 111, jejíž výsledky byly posléze potvrzeny dalšími nezávislými trialy (EORTC-GCCG, NOCOVA, NCI-C and Scottish intergroup experience) a později studií GOG 158, která prokázala

stejnou efektivitu CBDCA a DDP při příznivějším spektru toxicity a lepší toleranci pro ambulantní podání u CBDCA.

Kontroverze

I přesto, že potud se zdá schéma optimální léčby pokročilého OC vcelku jasné, praxe přináší řadu problémů a kontroverzí týkajících se jak léčby chirurgické, tak i chemoterapie či eventuálně uplatnění jiných léčebných modalit.

Otazníky kolem adjuvantní chemoterapie (chemoterapie 1. linie)

Stačí 6 cyklů?

Většina autorů se shoduje v tom, že pokračování adjuvantní chemoterapie po více než 6 cyklech již nemá smysl a nezvyšuje šanci nemocné na trvalé vyléčení[20,21,23,50]. Nicméně přesto probíhá italská multicentrická studie, která se pokouší odpovědět na otázku, zda lze prodloužením primární chemoterapie zabránit recidivě procesu. Pacientky s pokročilým OC po operaci a 6 cyklech základní chemoterapie Taxol / platina jsou rozděleny do 3 skupin podle nálezu při second look operation (SLO)[22]:

1. pacientky v kompletní remisi (CR) jsou randomizovány:
   A) pokračují v léčbě Taxolem 175 mg/m^2 v monoterapii po dalších 6 cyklů à 21 dní
   B) jsou ponechány bez další léčby
2. pacientky s mikroskopickým reziduem dostávají Taxol 60 mg/m^2 weekly po 21 týdnů
3. pacientky s makroskopickým reziduem jsou randomizovány:
   A) dostávají Taxol weekly 60 mg/m^2 do progrese nebo projevů toxicity
   B) dostávají chemoterapii 2. linie (topotecan atd.) do progrese nebo toxicity.

Tato studie se jeví jako zajímavá z toho důvodu, že má logicky provedenou stratifikaci nemocných a že ve větvích s reziduem používá moderního pojetí dose density chemoterapie při weekly podání Taxolu.

Máme podklady pro tříčlékové kombinace?

Přidání dalšího cytostatika k dvojkombinaci Taxol / platina zvyšuje na jedné straně efektivitu kombinace, na druhé straně ale samozřejmě také její toxicitu. To s sebou nese riziko nedodržení časového rozvrhu léčby či nutnost redukce dávek, což je samozřejmě nepřijatelné. Jindy je nutná intenzivní podpůrná léčba pomocí stimulačních faktorů (CSF), antibiotik apod. a samozřejmě také hrozí výrazné zhoršení kvality života nemocných. Nejvíce dat je k dispozici o přidání antracyklinů (doxorubicin nebo epirubicin) k základní dvojkombinaci [15,24,25,28]. Ačkoliv údaje z 80. let neukazovaly na benefit této trojkombinace, pozdější metaanalýzy dokladovaly, že přidání antracyklinů zlepšilo dlouhodobé výsledky léčby o 7 až 10 %[26,27]. V MOÚ jsme trojkombinaci Taxol + antracyklin + platina používali velmi často u mesonefroidních nebo endometroidních ovariálních karcinomů[29]. V současné době je intenzivně studována možnost přidání topotecanu, gemcitabinu, lipozomálního doxorubicinu, etopozidu nebo ifosfamidu k základní kombinaci[13,15,26]. Hlavním problémem je nalezení takového režimu podání trojkombinace, při němž by byla přijatelná toxicita.

Je zde místo pro intraperitoneální chemoterapii?

Intraperitoneální chemoterapie se zdá být logickou možností regionální léčby, kdy cytostatikum podané do peritoneální dutiny zde dosahuje vysokých koncentrací a je jen zvolna eliminováno do systémové cirkulace. Díky tomu je celková expozice peritoneální dutiny mnohonásobně vyšší než při systémovém podání. Navíc pak v druhé fázi cytostatikum působí i systémově poté, co dojde k jeho průniku do cévního řečiště. Zvláště cytostatika s velkou molekulou a pomalou clearance z peritoneální dutiny jsou vhodnými kandidáty pro i.p. podání. Udává se, že peritoneální expozice po podání platiny (DDP nebo CBDCA) je 10x - 20x vyšší než u systémového podání a u paclitaxelu je tato „výhoda“ až tisícinásobná[30]. Na druhé straně ale cytostatikum z peritoneální dutiny proniká do tumoru pouhou difúzí, a proto je toto regionální podání zřejmě vhodné pouze u žen s minimální reziduální chorobou[31] nebo snad jako konsolidační léčba u pacientek v kompletní histopatologické remisi. Právě skutečnost, že i.p. chemoterapie byla často podávána i u žen s objemnějším reziduálním tumorem je zřejmě důvodem, proč v klinické praxi zatím nebyl prokázán benefit tohoto regionálního podání pro delší DFI nebo větší celkové přežití[13,15,32,33,34,35]. Na ASCO 2000 bylo referováno skupinou kolem P. Benedetti-Panici z Říma o skupině pacientek s mikroskopickou nebo minimální reziduální chorobou po předchozí chemoterapii založené na platině (a event. paclitaxelu), kterým byl podáván intraperitoneálně Taxol 60 mg/m^2 po celkem 16 týdnů nebo po 4 cykly následující po normalizaci CA 125[36]. V současnosti je nicméně doporučováno, aby až do ukončení prospektivních randomizovaných trialů byla i.p. chemoterapie ponechána jen do studií[22].

Může se v léčbě OC uplatnit vysokodávkovaná chemoterapie?

High dose (HD) chemoterapie byla navržena do léčby OC s představou, že by mohla pomoci překonat rezistenci nádorových buněk na cytostatika při standardním dávkování. Velká pozornost byla věnována zejména HD chemoterapii s následnou transplantací periferních kmenových buněk (PBPC). Většina pacientek ve studiích dostala HD chemoterapii jako konsolidační léčbu v době navození kompletní remise, jiné ovšem také při parciální remisi, další v době přítomnosti „bulky“ onemocnění. Nejčastěji byla používána HD karboplatina. V prvním období podstupovaly nemocné obvykle autologní transplantaci kostní dřeně, později spíše PBSCT. Souhrnně lze konstatovat, že získaná data ukazují vyšší procenta léčebných odpovědí u HD chemoterapie, nebylo však prokázáno prodloužené přežití u takto léčených žen. Řada trialů (např. GOG 164) narazila na nedostatečný počet žen zařazených do studií. V současnosti probíhají evropské trialy, které mají posoudit HD chemoterapii s následnou PBPC transplantací buď jako součást primární chemoterapie nebo jako léčbu konsolidační po operaci a indukční chemoterapii. Až do výsledků těchto trialů je HD chemoterapie u OC považována za metodu experimentální[15,34,35,36,37,38,39,40].

Nastal čas pro změnu časového schématu chemoterapie?

Dlouhou dobu panovalo přesvědčení, že kombinovaná chemoterapie v třítýdenních intervalech představuje optimální režim. V poslední době se ovšem ukazuje, že při použití kombinované léčby typu AB AB AB dochází v intervalu mezi jednotlivými cykly k repopulaci nádorových buněk a k postupnému vzniku rezistence. Proto je dnes za vhodnější považováno podání sekvenční typu AAA BBB, při němž lze předpokládat, že spíše dojde k úplné eliminaci buněčných klonů citlivých na cytostatikum A a posléze na cytostatikum B[41]. Tento Nortonův-Hudisův princip sekvenční chemoterapie se začíná postupně prosazovat v léčbě řady malignit[42] a je zřejmě jen otázkou času, kdy bude uplatněn i v chemoterapii ovariálního karcinomu[21].

Velká pozornost je v poslední době věnována i dose density režimům[43], v nichž je cytostatikum podáno obvykle 1x týdně v nižší dávce. Jestliže dřívější 3týdenní intervaly odrážely spíše toleranci krvetvorných buněk, dose density režimy jsou více zaměřeny na kinetiku buněčné populace nádoru. I v praxi se ukazuje, že např. při weekly podání Taxolu lze mnohdy dosáhnout odpovědi i tam, kde se nádor při standardním časovém režimu chemoterapie jevil již jako resistentní[44]. Zřejmě se zde uplatňuje skutečnost, že mezi jednotlivými aplikacemi lze udržet jistou permanentní hladinu cytostatika v organismu a tím přivést podstatně větší procento buněk do G2 a M fáze cyklu, v nichž jsou buňky nejvíce vulnerabilní. Kromě toho se zde může uplatnit i indukce apoptózy, inhibice neoangiogenezy a sekundárně zvýšená reoxygenace tumoru[45].

Adjuvantní intraperitoneální radioimunoterapie?
Teoreticky se jako perspektivní ukazuje možnost dopravit cytostatikum nebo radiofarmakum selektivně přímo k nádorové buňce tím, že jej navážeme na protilátku, která jej dopraví k nádorově asociovanému antigenu na povrchu nádorové buňky[46].
Epenetos[47] referuje o skupině 52 nemocných s OC stadia Ic - IV, které po ukončení standardní chemoterapie založené na platině buď v kompletní remisi nebo s reziduální chorobou podstoupily intraperitoneální aplikaci monoklonární protilátky s navázaným ^{90}Yttriem. Ve skupině žen v kompletní remisi medián přežití zatím nebyl dosažen, přičemž desetileté přežití dosahuje více než 78%. Je předpoklad, že u této podskupiny žen může intraperitoneální radioimunoterapie navodit dlouhodobé přežití. Nicméně na ASCO 2000 bylo referováno o předběžných výsledcích několika trialů s ^{90}Ytriem navázaným na monoklonární protilátku, která byla aplikována nemocným v kompletní remisi při ukončení standardní léčby. Dosavadní předběžné výsledky však neukazují na lepší prognózu takto léčených pacientek[48,49].

Co potom?
Při ukončením primární chemoterapie vyvstává řada otázek kolem dalšího postupu. Ty se týkají jednak možné konsolidační léčby, jednak průkazu kompletní remise a dalšího sledování nemocné.

Second look operace?
V 80. a 90. letech panovala představa, že operace druhého pohledu, second look operation, je nezbytným předpokladem k posouzení výsledku dosavadní léčby a k jejímu případnému ukončení. Praxe však ukázala, že ani průkaz kompletní histopatologické remise (pCR), kdy v žádném z mnohočetných vzorků laváží a biopsií z dutiny břišní nebyly nalezeny nádorové buňky, ještě neznamená nutně definitivní vyléčení ženy. Naopak, často po delším či kratším období bez tumoru (DFI) došlo k recidivě onemocnění. Tato skutečnost vedla postupně k opuštění SLO jako postupu doporučovaného rutinně při ukončení terapie. Vzhledem k tomu, že provedení SLO nepřineslo žádný efekt ve smyslu prodloužení přežití nebo delšího DFI a znamená jen další zátěž nemocné, je její provedení v současnosti ponecháno pouze do klinických studií[4,6,20,50,51].

Konsolidační léčba?
Skutečnost, že ani prokázaná pCR neznamená ještě nutně trvalé vyléčení nemocné, vede v posledních letech ke snaze podat po ukončení primární standardní chemoterapie ještě další léčbu[4,23].
Na ASCO 2000 v New Orleansu byla prezentována řada prací zabývajících se touto problematikou. Italská skupina z Neapole referovala o sekvenčním podání 4 cyklů Topotecanu po dosažení odpovědi na primární léčbu Taxol/CBDCA[52]. Je testována možnost konsolidační high-dose chemoterapie s podporou periferními kmenovými buňkami[15,35,36,37,38,39].
Podobný smysl má i výše uvedená italská multicentrická studie podávající u pacientek v pCR dalších 6 cyklů Taxolu v monoterapii[22] a probíhající studie s intraperitoneální konsolidační léčbou[31].
Jinde je testována konsolidační terapie altretaminem[53] či tamoxifenem[54] nebo dokonce udržovací léčba interferonem alfa[55] a existují také pracoviště testující konsolidační ozáření dutiny břišní po ukončené primární chemoterapii[1,67].
Zatím však neexistuje doklad, že by jakýkoliv typ dodatečné léčby měl vliv na prodloužené přežití[50], a to včetně podání dalších cyklů stejné chemoterapie, vysokodávkované chemoterapie, intraperitoneální chemoterapie nebo velkoobjemového ozáření celé dutiny břišní[1,17].

Sledování tumormarkerů?
Vyšetřování nádorových markerů, zejména CA 125, se stalo rutinní součástí sledování nemocných s karcinomem ovaria v průběhu léčby a po jejím ukončení[1,26,57,58]. Výrazný pokles CA 125 v průběhu léčby je považován za příznivý prognostický znak a přetrvávání negativity po léčbě za doklad trvající remise[7,59]. Jsou ovšem časté případy, kdy ani objemný tumor nevede k vysokým hodnotám CA 125 a nebo pozdější recidiva není doprovázena jejich elevací. Vezmeme-li v úvahu řadu nenádorových procesů vedoucích k elevaci CA 125, je interpretace zejména nižších nebo středních hodnot mnohdy svízelná. Vedle toho je stále přetřásána otázka, zda „laboratorní recidivu", tedy vzestup CA 125 bez nálezu nádorového ložiska máme nebo nemáme léčit. Vesměs panuje názor, že samotné zvýšení CA 125 není indikací k zahájení další terapie [7,11,68]. Vezmeme-li v úvahu, že zejména pro časné recidivy ovariálního karcinomu máme jen velmi omezené léčebné možnosti, nabízí se otázka, zda vůbec má smysl v období navazujícím bezprostředně na ukončení primární léčby CA 125 sledovat a v jakých intervalech[4].

Dosažení optimální cytoredukce
Je nepochybné, že nemocné operované optimálně mají výrazně lepší prognózu než ženy s ponechaným nádorovým reziduem[9]. Uvádí se, že u pokročilého ovariálního karcinomu po optimální operaci je medián přežití 39 měsíců, zatímco po suboptimální operaci pouze 17 měsíců[1]. Současně ale víme, že u řady žen není operační výkon bez ponechání nádorového rezidua technicky možný. Existují přitom práce, které dokladují, že pacientky operované specializovaným onkogynekologem mají lepší léčebné výsledky než nemocné operované chirurgem bez onkologické erudice[60].

Interval debulking surgery
Z výše uvedených důvodů je v posledních letech ražen pojem „Interval debulking surgery" (IDS) jako operační výkon předcházený a následovaný chemoterapií[1,4,6,15,50,61]. I když je tento koncept vcelku logický, doposud nemáme k dispozici jednoznačné důkazy, že IDS opravdu poskytuje benefit proti samotné pooperační chemoterapii. Odpověď na tuto otázku měla přinést studie EORTC z roku 1993, v níž pacientky s reziduem větším než 1 cm po primární operaci dostaly 3x chemoterapii platina/cyklofosfamid a poté byly randomizovány:
A) absolvovaly další 3 cykly stejné chemoterapie CP
B) podstoupily IDS a poté dokončily chemoterapii 3 cykly CP.
Výsledek studie ukázal, že pacientky, které podstoupily IDS měly dobu bez progrese o 6 měsíců delší a pravděpodobnost úmrtí na recidivu v průběhu 2 let o 33% nižší než ženy, které IDS neabsolvovaly. Tento výsledek ovšem nelze bezvýhradně vztahovat i na dnešní dobu, kdy standardní chemoterapií je režim Taxol / platina. Proto probíhá studie GOG 152, která má stejný design jako výše uvedená studie EORTC s tím rozdílem, že chemoterapii zde představuje režim Taxol / platina[1].

Problémy kolem IDS
Má být chemoterapie po IDS stejná jako před ní nebo jiná?
Navození léčebné odpovědi primární chemoterapií ukazuje, že chemoterapie byla zvolena dobře a uplatnil se její cytotoxický efekt. Nabízí se tedy možnost pokračovat i po chirurgickém výkonu v podávání stejného režimu s představou, že doposud efektivní režim bude dobře působit i na zbytkovou nádorovou populaci v době, kdy většina tumoru byla již odstraněna a kdy jsou naopak vytvořeny podmínky pro dokonce lepší účinnost chemoterapie - zejména odstraněním velkého objemu tumoru, odstraněním jeho hypoxických a tedy chemorezistentních částí a vytvořením podmínek pro větší přechod buněk z chemorezistentní G_0 fáze do cyklu.
Na druhé straně je ale možný i opačný výklad: dosavadní chemoterapie vyhubila chemosenzitivní klony a jelikož v podstatě každý nádor je heterogenní, je vysoká pravděpodobnost, že je již tvořen klony na předchozí chemoterapii rezistentními. Nabízí se tedy opačné řešení - v další léčbě podat chemotera-

pii s jiným mechanizmem účinku.

Můžeme využít při volbě další chemoterapie testování rezistence in vitro?

Na problém nastolený v předchozím odstavci by mohlo přinést odpověď testování rezistence nádorové populace na cytostatika in vitro[62,63]. Bohužel se již dávno ukázalo, že testování citlivosti analogicky jako v mikrobiologii je v onkologii nepoužitelné. Proto se dnes hovoří právě o testování rezistence: citlivost prokázaná in vitro se nemusí z řady důvodů uplatnit in vivo, naopak lze ztěží předpokládat, že nádorové buňky rezistentní in vitro by byly in vivo citlivé. Navíc se zatím v praxi daří testovat pouze některá cytostatika (ta, u kterých nedochází k bioaktivaci až v těle pacienta) a navíc zatím neumíme testovat kombinace látek. Proto je testování rezistence zatím pouze experimentální metodou. V praxi lze k jejím výsledkům přihlédnout nejspíše tak v léčbě recidiv nebo v léčbě tumorů, které jsou všeobecně považovány za rezistentní a kde volíme mezi několika - v podstatě stejně špatnými - variantami. V žádném případě zatím nelze na základě testování rezistence nasazovat nebo měnit primární léčbu tam, kde existují standardní postupy založené na řadě klinických studií. Jedinou výjimkou by mohlo být rozhodování mezi režimy, které jsou považovány za rovnocenné - např. Taxol / DDP nebo Taxol / CBDCA. Není totiž výjimkou, že test rezistence ukáže na citlivost k jednomu a resistenci ke druhému platinovému cytostatiku.

Pokud pak jde o volbu režimu použitého po předchozí chemoterapii a IDS, dosavadní výsledky naznačují, že se nejspíše uplatňuje varianta uvedená jako druhá, tedy, že zbytková nádorová populace je již rezistentní na léčbu podanou před IDS [64].

Až tři operační výkony v průběhu primární léčby?

Za určitých okolností by při použití IDS mohla pacientka v průběhu primární léčby absolvovat až 3 operační výkony:

1. Primární neradikální / suboptimální operační výkon
   + chemoterapie 1. linie
2. Interval debulking surgery
   + pokračování v chemoterapii
3. 3rd look operation - analogicky jako second look k posouzení výsledku terapie
   - zejména u pacientek v klinických trialech
   + eventuálně další chemoterapie

Je zřejmé, že takový postup by znamenal extremní zátěž nemocných, která by znamenala výrazné zhoršení kvality života už v důsledku samotné léčby (1). Z toho důvodu se v určitých případech jeví jako efektivnější využití neoadjuvantní chemoterapie.

Neoadjuvantní chemoterapie

Neoadjuvantní chemoterapie znamená použití cytostatické léčby jako první před operací jako hlavní léčebnou modalitou a odložení operace až na dobu, kdy se vlivem cytostatické léčby vytvoří lepší podmínky pro úspěšnou radikální operaci [1,15,20,65,66,67]. Předpokladem takového postupu je jednak stanovení diagnózy a jednak konstatování inoperability procesu v daný okamžik. Histologii lze v těchto případech získat nejsnadněji vyšetřením punktátu ascitu nebo fine needle biopsií, nejlépe pod UTZ nebo CT kontrolou. V ascitu bývá přítomno takové množství nádorových elementů ať už volných nebo v trsech, že stanovení diagnózy je pro zkušeného patologa obvykle snadné. Jinou možností stanovení diagnózy je odběr histologie při probatorní laparotomii nebo diagnostické (obvykle otevřené) laparoskopii (DGL). Při použití těchto postupů ovšem ztrácíme výhodu úspory jednoho operačního výkonu, což je jedním z hlavních smyslů neoadjuvantní chemoterapie. Ignac Vergot definoval v roce 2000 pacientky, které by měly být hlavními kandidátkami na neoadjuvantní chemoterapii[65]. Jsou to

– pacientky se stadiem IV ovariálního karcinomu
– pacientky, u nichž se předpokládá tumor hmotnosti nad 1000 g
– pacientky s předpokladem mnohočetných plošných peritoneálních metastáz
– pacientky v celkově špatném stavu

K posouzení jednotlivých případů můžeme využít zobrazovacích metod, zejména UTZ a CT. Definitivní posouzení a rozhodnutí v jednotlivých případech však vždy bude ležet na onkogynekologovi, nejlépe pak na tom, kdo má velké zkušenosti s onkologickou operativou.

Léčbu v těchto případech zahajujeme obvykle 3-4 cykly chemoterapie režimem, který je v daný okamžik považován za maximálně efektivní. Proto obvykle zahajujeme kombinací Taxol 175 mg/m^2 ve 3 hodinové i.v. inf. + CBDCA (AUC 5 - 7,5). V MOÚ jsme v těchto případech často a s dobrými efekty používali trojkombinace s přidáním doxorubicinu nebo epirubicinu[29].

Po 3 cyklech chemoterapie dochází obvykle k velmi výraznému efektu, který lze demonstrovat zmenšením objemu tumoru, jeho ohraničením a větší pohyblivostí a enormním, někdy až exponenciálním poklesem hodnot CA 125. Samozřejmě ovšem existují i případy, kde odpověď není tak výrazná nebo nález dokonce progreduje. Tam je pak prognóza mimořádně špatná. Obvykle však lze po 3 cyklech přistoupit k operaci a mnohdy pak bez větších problémů provést radikální a optimální operační výkon, tedy extirpovat celý tumor bez ponechání nádorového rezidua. Po operaci následuje další chemoterapie, doposud se obvykle podává stejný režim jaký byl použit v neoadjuvanci. Alternativou je použití jiného režimu, stejně tak není jednoty v tom, zda po optimální operaci podat 3 nebo více cyklů další chemoterapie. V každém případě jsou tyto případy velmi vhodné k odběru materiálu a testování rezistence na cytostatika in vitro, i když, jak už bylo uvedeno, mají tyto práce především experimentální charakter[64].

Přináší neoadjuvantní chemoterapie opravdu benefit pro nemocné?

K posouzení, zda výše uvedený postup je skutečně přínosem pro pacientky, byla zahájena studie EORTC, protokol 55971 [1,65,66]. Pacientky s ovariálním karcinomem stadia IIIc a IV jsou po potvrzení diagnózy na základě histologie odebrané pomocí fine needle nebo při DGL randomizovány:

A) podstoupí primární operační cytoredukci, primární chemoterapii 3 cykly platiny s Taxolem a posléze IDS s eventuálním pokračováním chemoterapie
B) podstoupí „chemický debulking" - tedy neoajduvantní chemoterapii 3 cykly platiny s Taxolem, poté primární operaci a léčbu dokončí 3 cykly stejné chemoterapie.

Velký důraz je v této studii kladen na exaktnost a preciznost operačního výkonu, proto je povoleno zařazovat pouze nemocné, které operoval zkušený onkochirurg a postupoval podle exaktních onkogynekologických guidelines. Hodnoceno bude celkové přežití, doba do progrese, pooperační morbidita a kvalita života.

Recidivy ovariálního karcinomu

Přes skutečnost, že ovariální karcinom je nádor chemosenzitivní a že jeho léčba udělala v posledních desetiletích značné pokroky, stále platí, že až 80 % žen s pokročilým ovariálním karcinomem recidivuje a dokonce 50 % žen, u kterých byla primární léčbou navozena kompletní remise, relabuje v období 14 - 32 měsíců po provedení SLO a nakonec na chemorezistentní onemocnění umírá[22]. Zřejmě se v těchto případech jedná o recidivu z perzistujících nádorových buněk, které byly rezistentní na předchozí léčbu. Ročně tak v České republice máme kolem 750 žen s recidivou či progresí ovariálního karcinomu.

Recidivy ovariálního karcinomu obvykle dělíme do 3 skupin, a to podle odpovědi na primární léčbu. Na kongresu ISGO v září 1999 došlo k upřesnění definice jednotlivých skupin, takže dnes je doporučováno následující dělení[20]:

– pacientky refrakterní: při primární léčbě progrese nebo stable disease nebo recidiva do 4. měsíce od ukončení primární léčby
– střední skupina (intermediate group): recidiva mezi 4.- 12. měsícem po ukončení primární léčby
– pacientky senzitivní: recidiva po více než 12 měsících

Jindy se užívá dělení na pacientky Pt resistentní (progrese nebo relaps do 6 měsíců) a na Pt sensitivní (relaps po více než 6 měsících)[21]. Všeobecně platí, že prognóza je tím příznivější, čím delší doba uplynula od ukončení léčby do objevení recidivy. Vedle toho se v prognóze recidivy uplatňuje i histologický typ, počet a objem ložisek recidivy[67].

Současné možnosti chemoterapie recidivujícího ovariálního karcinomu

V současnosti panuje skepse ohledně kurability recidiv ovariálního karcinomu. Všeobecně je přijímán názor, že další léčba je již jen paliativní a že pacientka dříve nebo později onemocnění podlehne[69]. Přesto však existují zásadní rozdíly v prognóze a způsobu léčby podle typu senzitivity k platině. U pacientek s Pt senzitivním onemocněním, tedy tam, kde DFI byl delší než 12 měsíců, se obvykle doporučuje návrat k původní chemoterapii. Jestliže se dnes již považuje za samozřejmé, že primární léčba byla vedena kombinací Taxol/platina, znamená to návrat k těmto cytostatikům buď v monoterapii nebo v téže dvojkombinaci[11,22,68,72]. Rozhodneme-li se pro monoterapii Taxolem, máme možnost podávat cytostatikum 1x za 3 týdny nebo v dose density režimu 1x za týden[44,70,71]. Druhá možnost se jeví jako výhodnější jednak pro vynikající toleranci léčby a také proto, že tak lze mnohdy navodit odpověď i u pacientek, které na standardní třítýdenní podání již neodpovídají. Rozhodneme-li se pro platinu v monoterapii, můžeme zvolit platinový derivát nepoužitý v primární léčbě (DDP nebo CBDCA). Existuje jistá pravděpodobnost, že změnou dosáhneme lepšího výsledku. V podstatě však není jednotného názoru na to, zda je lepší u těchto Pt senzitivních žen léčit monoterapií nebo dvojkombinací[11,68].

Zcela jiná situace je u žen ze střední nebo rezistentní skupiny. Jejich prognóza je špatná a šance na dosažení odpovědi není veliká[4]. V podstatě dnes existuje řada cytostatik, která mohou být u těchto žen použita, žádné z nich však nedává velkou pravděpodobnost účinku. Platí to pro topotecan, gemcitabin, lipozomální doxorubicin, ifosfamid, orální etopozid[4,11,15,68]. I zde lze použít weekly Taxol[68,69,70,71]. V poslední době je velká pozornost věnována lipozomálnímu doxorubicinu a existuje i teorie o tom, že topotecan jako inhibitor topoizomerázy I by mohl být podán k prodloužení „Pt free" intervalu, čímž by se zvětšila šance na efekt pozdějšího podání platiny[22,26,69]. Na výsledky těchto studií je ale ještě třeba nějaký čas počkat. Nadále je studována i možnost salvage high-dose chemoterapie u pacientek s refrakterním či recidivujícím OC[34].

V každém případě platí, že na chemoterapii recidiv musíme dnes pohlížet jako na léčbu paliativní, a proto musíme mít na zřeteli především kvalitu života nemocné. Mezi jednotlivými cytostatiky budeme tedy volit především s ohledem na jejich toxicitu respektive na toleranci chemoterapie 2. linie[4,69].

Jaká je role chirurga v léčbě recidiv ovariálního karcinomu?

Úloha chirurgického řešení recidiv OC není stále přesně definována[22]. Z praxe víme, že opakované pokusy o chirurgickou léčbu recidiv se často míjejí účinkem, protože i po velmi radikálním výkonu obvykle brzy dochází k další recidivě. Přesto lze však zřejmě souhlasit s tvrzením, že efekt sekundární cytoredukce je tím větší, čím delší doba uplynula od ukončení primární léčby do vzniku recidivy. Naopak pacientkám s časnými recidivami, tedy s platina - rezistentním typem onemocnění, další chirurgický debulking benefit nepřináší. Naprosto však nelze dát jednoznačnou odpověď na to, zda je pravda, že čím menší reziduum zůstává po sekundárním debulkingu, tím delší je přežití. Výsledky dosavadních studií na toto téma jsou totiž značně rozporuplné[22,72].

Jiná je situace ohledně chirurgického řešení střevní neprůchodnosti. Velmi často jsme u pokročilého či recidivujícího ovariálního karcinomu svědky ztížené nebo úplně zablokované pasáže tenkým nebo tlustým střevem. Chirurgický výkon spočívající v resekci a anastomóze nebo v založení stomie přináší pacientce úlevu a může na určitou dobu pomoci udržet přijatelnou kvalitu života[20, 61].

Závěr

Poslední desetiletí přinesla do léčby karcinomu ovaria mnoho nového. Byla definována úloha a postavení chirurgické léčby, byla zavedena nová cytostatika schopná dosáhnout ve vysokém procentu případů léčebnou odpověď. Byly vypracovány podrobné diagnosticko-terapeutické protokoly, které přesně definují léčebné postupy pro jednotlivé případy. Časná stadia dnes již dokážeme ve vysokém procentu případů trvale vyléčit, léčebné výsledky se zlepšily i u pokročilých onemocnění. Přesto však právě léčba pokročilého ovariálního karcinomu zůstává nadále plná problémů a nejasností. V současnosti lze tedy shrnout úkoly onkogynekologa zhruba do 3 bodů:

– maximálně se snažit o co nejčasnější záchyt ovariálních karcinomů
– maximálně využít dnešních poznatků o moderní léčbě OC
– sledovat probíhající studie, které snad postupně přinesou odpovědi alespoň na některé z výše nastolených otázek.

Literatura

1. Pecorelli S. et al.: Ovarian cancer: best timing and applications of debulking surgery Educational Book of the 25th ESMO Congress, Annals of Oncology, Vol 11, 2000, Supplement 3, pp 141 - 143
2. Rosenthal A. et al.: Ovarian Cancer Screening. Seminars in Oncology, Vol 25, No 3 (June), 1998, pp 315 - 325
3. Fishman D.A.: The present and future of biomarkers for the early detection of epithelial ovarian carcinoma. CME Journal of Gynecologic Oncology, Vol 4, No 1, March 1999, 33-36
4. Rob L. et al.: Zhoubné nádory rodidel, Moderní gynekologie a porodnictví 9 / 2000 č. 4, str. 679 - 705
5. Trimbos J.B.: Staging of early ovarian cancer and the impact of lymph node sampling. Int J Gynecol Cancer 2000, 10, Supplement 1, 8-11
6. Boente M.P. et al.: The Role of Surgery in the Management of Ovarian Cancer: Primary and Interval Cytoreductive Surgery. Seminars in Oncology, Vol 25, No 3 (June), 1998, pp 326 - 334
7. Friedlander M.L.: Prognostic Factors in Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 25, No 3 (June), 1998, pp 305-314
8. Pickel H.: Prognostic factors in ovarian cancer. CME Journal of Gynecologic Oncology, Vol 4, No 1, March 1999, 8-12
9. Margina J.F.: Surgery as a prognostic factor in epithelial ovarian cancer. CME Journal of Gynecologic Oncology, Vol 4, No 1, March 1999, 41-46
10. Calvert A.H. et al.: Carboplatin and Paclitaxel, Alone and in Combination: Dose Escalation, Measurement of Renal Function, and Role of the p53 Tumor Supresor Gene.Seminars in Oncology, Vol 26, No 1, Suppl 2 (February), 1999, pp 90-94
11. McGuire W.P. et al.: Chemotherapy of Advanced Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 25, No 3 (June), 1998, pp 340 - 348
12. Ozols R.F.: Paclitaxel (Taxol) / Carboplatin Combination Chemotherapy in the Treatment of Advanced Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 27, No 3, Suppl 7 (June), 2000, pp 3 - 7
13. Vermorken J.B.: Optimal treatment for ovarian cancer: taxoids and beyond. Educational Book of the 25th ESMO Congress, Annals of Oncology, Vol 11, 2000, Supplement 3, pp 131 - 138
14. Thigpen J.T.: Chemotherapy for Advanced Ovarian Cancer: Overview of Randomized Trials. Seminars in Oncology, Vol 27, No 3, Suppl 7 (June), 2000, pp 11 - 16
15. Ozols R.F.: Chemotherapy for Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 26, No 6, Suppl 18 (December), 1999, pp 34 - 40
16. Piccart M.J. et al.: A new standard of care for treatment of ovarian cancer. European Journal of Cancer 36 (2000) 10-12
17. Ozols R.F.: Optimum chemotherapy for ovarian cancer. Int J Gynecol Cancer 10, Supplement 1, 33-37
18. McGuire W.P. et al.: The Gynecologic Oncology Group experience in ovarian cancer. Annals of Oncology 10, (Suppl 1) S29-S34, 1999
19. du Bois A. et al.: First line chemotherapy with carboplatin plus paclitaxel in advanced ovarian cancer - a new standard of care. Annals of Oncology 10, (Suppl 1) S35-S41, 1999

20. Berek J.S. et al.: Advanced epithelial ovarian cancer: 1998 consensus statement. Annals of Oncology 10, (Suppl 1) S87-S92, 1999
21. Kaye S.B.: Intravenous chemotherapy for ovarian cancer - the state of art? Int J Gynecol Cancer 10, Supplement 1, 19-25
22. Conte P.F. et al.: Ovarian cancer: optimal chemotherapy in relapsed disease. Educational Book of the 25th ESMO Congress, Annals of Oncology, Vol 11, 2000, Supplement 3, pp 145 - 148
23. Bertelsen K. et al.: How long should first-line chemotherapy continue? Annals of Oncology 10, (Suppl 1) S17-S20, 1999
24. Hill M. et al.: Taxane/Platinum/Anthracycline Combination Therapy in Advanced Epithelial Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 24, No 1, Suppl 2 (February), 1997, pp S2-34 - S2 - 37
25. Kristensen G.B. et al.: Patients With Carboplatin, Paclitaxel, and Epirubicin Combination as First-Line Chemotherapy in Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 26, No 1, Suppl 2 (February) 1999, p 96
26. Trimble E.L.: Innovative Therapies for Advanced Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 27, No 3, Suppl 7 (June), 2000, pp 24 - 30
27. Nardi M.et al.: Cisplatin and Escalating Doses of Paclitaxel and Epirubicin in Advanced Ovarian Cancer. Proc ASCO 1999, abstr. 1472
28. Vermorken J.B. et al.: The role of anthracyclines in epithelial ovarian cancer. Annals of Oncology 10, (Suppl 1) S43-S50, 1999
29. Tesařík Z.: Výsledky léčby pokročilého karcinomu ovaria u pacientek gynekologického oddělení Masarykova onkologického ústavu v Brně. Zkušenosti s Taxolem z let 1994 -1998. Praktická gynekologie 6/98, s 5 - 18
30. Kuhn J.G.: Pharmacology and Pharmacokinetics of Paclitaxel. The Annals of Pharmacotherapy, 1994 May, Volume 28, S 15
31. Vermorken J.B.: The role of intraperitoneal chemotherapy in epitelial ovarian cancer. Int J Gynecol Cancer 10, Supplement 1, 26-32
32. Markman M.: Intraperitoneal Therapy of Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 25, No 3 (June), 1998, pp 356 - 360
33. Markman M. et al.: Is There a Role for Intraperitoneal Chemotherapy in the Management of Ovarian Cancer? Oncology, Vol 15, No 1 (Jan 2001), pp 93 - 105
34. Ozols R.F. et al.: Intraperitoneal treatment and dose-intense therapy in ovarian cancer. Annals of Oncology 10, (Suppl 1) S59-S64, 1999
35. McGuire W.P.: High-Dose Chemotherapeutic Approaches to Ovarian Cancer Management. Seminars in Oncology, Vol 27, No 3, Suppl 7(June), 2000, pp 41-46
36. Benedetti-Panici P.: Intraperitoneal Paclitaxel in Ovarian Cancer Patients with Small or Microscopic Residual Disease. Proc ASCO 2000, abstr. 1525
37. Cure H. et al.: Randomized Phase II Study of Periferal Blood Progenitor Cells Mobilization in Patients with Advanced Ovarian Cancer Treated with High-Dose Consolidation Chemotherapy: Comparison of Filgrastim Used Alone or in Combination with Cyclophosphamide. Proc ASCO 2000, abstr. 1560
38. Russell J.S. et al.: Multiple Cycles of High-Dose Chemotherapy for Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 25, No 3 (June), 1998, pp 349-355
39. Sapunar F. et al.: Prognostic and predictive factors in high-dose chemotherapy for epithelial ovarian cancer. CME Journal of Gynecologic Oncology Vol 4, No 2, September 1999, pp 272 - 276
40. Ledermann J.A.: High-dose chemotherapy with peripheral blood stem cell transplantation in ovarian cancer. Int J Gynecol Cancer 10, Supplement 1, 53-56
41. Klener P.: Protinádorová chemoterapie. Galén 1996, str. 141-142
42. Norton L.: Kinetic Concept in the Systemic Drug Therapy of Breast Cancer. Seminars in Oncology, Vol 26, No 1, Suppl 2 (February), 1999, pp 11-20
43. Markman M.: Weekly Paclitaxel in the Management of Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 27, No 3, Suppl 7 (June), 2000, pp 37 - 40
44. Fennelly D.: Weekly Paclitaxel Therapy: Current Status and Future Directions in Advanced Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 26, No 1, Suppl 2 (February) 1999, p 97
45. Choy H. et al.: Taxanes and Radiation Therapy in Solid Tumours. Klasterski: Taxanes in the Treatment of Lung Cancer, pp 181 - 194
46. Hajdúch M. et al.: Monoklonární protilátky v onkologii. Mediforum 2000
47. Epenetos A. A. et al.: Long term survival of patients with advanced ovarian cancer treated with intraperitoneal radioimmunotherapy. Int J Gynecol Cancer 10, Supplement 1, 44-46
48. Nicholson S. et al.: A Randomised III Trial of Adjuvant Intraperitoneal Radioimmunotherapy in Ovarian Cancer. Proc ASCO 2000, abstr. 1514
49. Epenetos A.A. et al.: Safety of Radioimmunotherapy in International Ovarian Cancer Study. Proc ASCO 2000, abstr. 1533
50. Ozols F.R.: Management of Advanced Ovarian Cancer Consensus Summary. Seminars in Oncology, Vol 27, No 3, Suppl 7 (June), 2000, pp 47-49
51. Chi D.S.: Laparoscopy in Gynecologic Malignancies. Oncology June 1999, pp 773 - 796
52. Pignata S. et al.: Topotecan vs Nihil Following Response to Carboplatin + Paclitaxel in Advanced Ovarian Cancer. Early Data on Compliance and Toxicity of Topotecan from the Multicenter Italian Trials in Ovarian Cancer. Proc ASCO 2000, abstr. 1619
53. Alberts D.S. et al.: Altretamine Consolidation for Patients with Stage III Epithelial Ovarian Cancer in Clinical Complete Remission: a Southwest Oncology Group Trial. Proc ASCO 2000, abstr. 1520
54. Rohl J.T.: Experience with Tamoxifen Use in Ovarian Cancer in the Clinical Practice Setting. Proc ASCO 2000, abstr. 1623A
55. Hall G. et al.: Maintenance Treatment with Interferon for Advanced Ovarian Cancer. Proc ASCO 2000, abstr. 1529
56. Lanciano R. et al.: Update on the Role of Radiotherapy in Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 25, No 3 (June), 1998, pp 361-371
57. Rustin G.J.S. et al.: Use of tumour markers in monitoring the course of ovarian cancer. Annals of Oncology 10, (Suppl 1) S21-S27, 1999
58. Napier M.P. et al.: CA 125 as prognostic factor. CME Journal of Gynecologic Oncology, Vol 4, No 1, March 1999, 24-29
59. Markman M.: High-risk and low risk patients based on prognostic factors: definition of hihg-risk and low-risk in terms of management. CME Journal of Gynecologic Oncology 259-261
60. Junor E.: The impact of specialist training for surgery in ovarian cancer. Int J Gynecol Cancer 10, Supplement 1, 16-18
61. Talač R. et al.: Hodnocení lékové rezistence in vitro a její klinické implikace. Klinická onkologie, Zvláštní číslo 2/2000, s 2-9
62. Berek J.S. et al.: Surgery during chemotherapy and at relapse of ovarian cancer. Annals of Oncology 10, (Suppl 1) S3-S7, 1999
63. Ludková A. et al.: Střední hodnoty citlivosti na jednotlivá cytostatika u nádorů různého histogenetického původu. Klinická onkologie 13, 2000, zvláštní číslo 2, s. 33-36
64. Cwiertka K. et al.: Chemoterapie ovariálního karcinomu s ohledem na stanovení in vitro chemosensitivity – vybrané kasuistiky. Klinická onkologie 13, 2000, zvláštní číslo 2, s. 58-61
65. Vergote I.B. et al.: Neoadjuvant Chemotherapy Versus Primary Debulking Surgery in Advanced Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 27, No 3, Suppl 7 (June), 2000, pp 31 - 36
66. Pecorelli S. et al.: Surgical versus chemical upfront debulking in advanced ovarian cancer. Int J Gynecol Cancer 10, Supplement 1, 12-15
67. Eisenhauer E.A. et al.: Ovarian cancer: should we be managing patients with good and bad prognostic factors in the same manner? Annals of Oncology 10 (Suppl. 1), s 9 - s 15, 1999
68. Rose P.G.: Chemotherapy for Recurrent Ovarian Cancer: Recent Approaches and Future Directions. Bristol-Myers Squibb Oncology Medical Services, May 1999
69. Ozols R.F.: Comparison of Taxol (paclitaxel) Injection, Hycamtin (topotecan), and Doxil (liposomal doxorubicin) in Recurrent Ovarian Cancer. Bristol-Myers Squibb Oncology Medical Services, September 2000
70. Fennelly D. et al.: Phase I and Pharmacologic Study of Paclitaxel Administered Weekly in Patients With Relapsed Ovarian Cancer. Journal of Clinical Oncology, Vol 15, No 1 (January), 1997, pp 187-192
71. Abu-Rustum N.R. et al.: Salvage Weekly Paclitaxel in Recurrent Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 24, No 5, Suppl 15 (October) 1997, pp S 15-62 - S 15-67
72. Rose P.G.: Surgery for Recurrent Ovarian Cancer. Seminars in Oncology, Vol 27, No 3, Suppl 7 (June), 2000, pp 17 - 23
73. Novotvary 1996 ČR. ÚZIS ČR 1999

OPTIMALIZACE DISTRIBUCE DÁVKY PŘI RADIKÁLNÍ LOKOREGIONÁLNÍ RADIOTERAPII KARCINOMU PRSU

OPTIMALIZATION OF DOSIS DISTRIBUTION IN RADICAL LOCOREGIONAL RADIOTHERAPY OF BREAST CARCINOMA

KULHAVÝ M., KINDLOVÁ E., SEDLÁČEK A., KAISLEROVÁ J., BRYCHTA M., KOVAŘÍK J.

KLINIKA RADIOTERAPIE A ONKOLOGIE FNKV

Souhrn: Autoři popisují modifikaci lokoregionální radioterapie karcinomu prsu s použitím moderní techniky- listového kolimátoru, nezávislých clon a třídimenzionálního plánovacího systému. Prs a hrudní stěna jsou ozářeny běžnými tangenciálními poli. Identická dávka do obou spádových lymfatických oblastí je zajištěna kombinací tří polí o jediném izocentru (společně s tečnými poli). Ze dvou ventrálních polí je jedno otevřené a jedno s částečným vykrytím listovým kolimátorem, tvarem přesně odpovídajícím dorzálnímu axilárnímu poli. V porovnání s klasických „dozářením" axily dorzálním polem, kde pravidelně dochází k předávkování ventrální části axilární oblasti, zajišťuje uvedená technika velmi uspokojivou homogenitu dávky. Přídatné provozní zatížení pracoviště je minimální.

Klíčová slova: Karcinom prsu, radioterapie, homogenita dávky

Summary: The authors describe a modified technique of locoregional radiotherapy in patients with breast cancer. Modern equipment is used- multi-leaf colimator (MLC), asymmetrical fields and full 3D planning system. The breast and chest wall are irradiated through usual tangential fields. With the same isocentre, axillary and supraclavicular lymphnodes are treated through three fields. Identical dose into both of the lymphatic drainage areas is achieved by the combination of two anterior fields- one open, the other with a MLC block exactly corresponding with the shape of the dorsal axillary field. In comparison to classical „filling-up" of axilla through an additional dorsal field, which regularly causes overdosing the ventral parts of axilla, the presented technique achieves a very satisfactory dose homogeneity. The additional planning-time is minimal.

Key words: Breast carcinoma, radiotherapy, dose homogeneity

Úvod

Několik let se na základě představy o primárně systémovém charakteru karcinomu prsu považovala lokální nebo lokoregionální radioterapie pouze za metodu, oddalující lokální recidivu. Teoretická možnost, nahradit lokoregionální radioterapii systémovou léčbou v eliminaci primární malignity a postižení spádových lymfatických uzlin, se ovšem v praxi nepotvrdila[1]. Nyní je všeobecně přijato, že radioterapie významně zvyšuje kurativní potenciál kombinované terapie, tedy že je nejen účinnou terapeutickou modalitou v prevenci lokoregionální recidivy, ale i ve zlepšení výsledků celkového přežití[2]. Důležitost optimalizace této léčebné modality je tedy zřejmá[3].

Závislost dávka záření - účinek

Terapie subklinického nádorového onemocnění se řídí odlišnými zákonitostmi v porovnání s makroskopickým onemocněním. Nejdůležitějším rozdílem je to, že určité, ale obtížně stanovitelné procento nemocných skutečně nepotřebuje adjuvantní lokoregionální terapii, protože původní chirurgický zákrok byl z hlediska lokoregionálního onemocnění dostatečně efektivní. Tento fakt podstatně oplošťuje křivku závislosti konečného efektu radioterapie na dávce záření. Proto je v v adjuvantním podání obtížněji prokazatelný negativní dopad nedokonalého rozložení aplikované dávky. V terapii makroskopické choroby se situace výrazně mění. Při omezené radiosenzitivitě karcinomu prsu je nutno aplikovat relativně vysoké dávky a nehomogenita aplikované dávky se může výrazně negativně projevit.

„Klasická" technika lokoregionální radioterapie

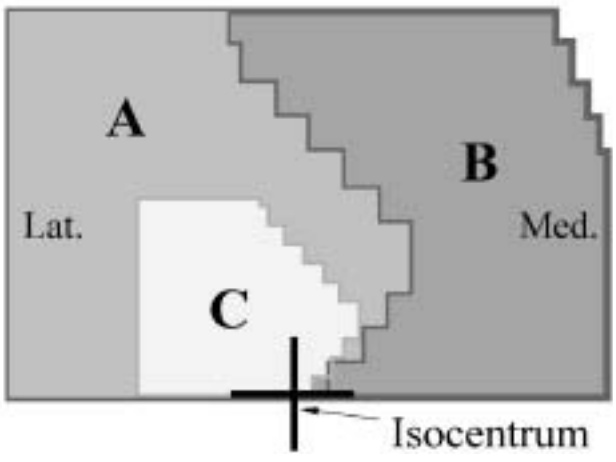
Velmi rozšířenou ozařovací technikou při aplikaci dávek nad 50 Gy je kombinace ventrálního (AP) pole, pokrývajícího společně nadklíčkovou a axilární spádovou lymfatickou oblast a přídatného posteroanteriorního (PA) pole, směrovaného pouze na axilu. Dorzální pole je použito za účelem tzv. „dosycení" axilární lymfatické oblasti, aby dávka v polovině ventrodorzálního průměru axily dosáhla žádané hodnoty.

Při aplikaci předepsané dávky do obou spádových lymfatických oblastí dochází k výrazné dávkové nehomogenitě- ventrální axila obdrží dávku asi o 20% vyšší (vlastní zkušenosti, literatura např. v [4]). Při použití koeficientu $\alpha/\beta = 3$ (pro pozdní efekt záření) a standardní frakcionaci je biologicky účinná dávka vyšší o dalších 5-10%. Jednoduchým výpočtem docházíme při předepsané fyzikální dávce např. 64,0 Gy k celkové radiobiologicky ekvivalentní dávce téměř 80,0 Gy[5]. Tato dávka může být již významně toxická- indurace podkoží, osteoradionekróza klavikuly apod.[6]. Nutno poznamenat, že 64,0 Gy je skutečné minimum rozmezí dávek kurativní radioterapie v podobné indikaci a často je nutno aplikovat dávku vyšší.

Popis nové techniky

Na našem pracovišti jsme navrhli modifikaci techniky, používající částečně propustný blok v axilárním/nadklíčkovém poli[7]. Cílem byla podstatně vyšší homogenita dávky, než je výše uvedeno, aniž by bylo nutno neúměrně komplikovat plánovací proces. I vlastní ozáření by mělo být prodlouženo jen nepatrně.

Radikální radioterapii vyšší dávkou než 50 Gy u pacientek s karcinomem prsu provádíme na lineárním urychlovači Vari-



Obr. 1. Pohled supraklavikulárním polem (pohled beam's eye view- BEV), pravá strana. A- axilární oblast, B- nadklíček, C- zadní axilární pole. Zdánlivě menší rozměr pole C v porovnání s plochou A je způsoben prostorovou projekcí

an 2100C fotonovým svazkem 6 MV (u ventrodorzálního rozměru nad cca 20 cm energií 16 MV), vybaveném listovým kolimátorem (MLC) a nezávislými clonami. Polohování pacientky je klasické z hlediska omezení velikostí gantry CT přístroje- elevace ipsilaterální paže a odklon hlavy na opačnou stranu. Výhodný je individuálně nastavitelný přípravek k elevaci hrudníku pacientky (klín, tzv. „breast-board"…). Plánování probíhá na plně třídimenzionálním systému Cadplan (verze R.6.0.8., 1999) stejného výrobce.

Izocentrum je společné pro všechna pole a je umístěno na rozhraní nadklíčkového a tangenciálních polí, většinou v oblasti střední axilární čáry, v kraniokaudálním směru pod klavikulou a v hloubce přibližně 2 cm (Obr. 1). Používáme tangenciální ozařovací svazky na hrudní stěnu a přímé (popřípadě odkloněné o cca 10° laterálně) ventrální pole na nadklíček a axilu. Dorzální axilární pole je nastaveno vždy kontralaterálně k ventrálnímu. Použití klínů v tangenciálních polích se řídí standardním způsobem podle požadované distribuce dávky v oblasti prsu, popř. hrudní stěny.

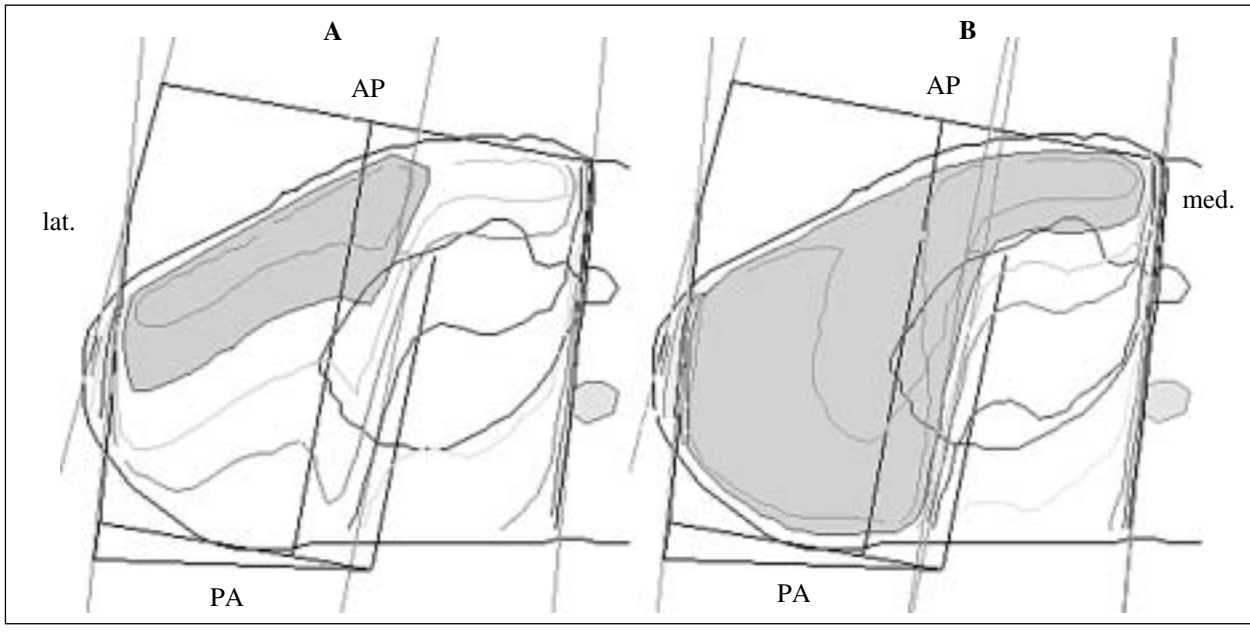
Při návrhu nové techniky jsme vycházeli z předpokladu, že příspěvek do střední axilární roviny musí být zhruba poloviční z AP i PA polí. Proto jsme do části AP pole, která leží přesně kontralaterálně k PA svazku, vložili polopropustný blok o vhodné tloušťce, který snižuje dávku záření na stejnou úroveň jako příspěvek PA pole. Tím je zaručeno, že axila obdrží stejnou dávku jako oblast superficiálně uložených nadklíčkových uzlin. Vzhledem ke stejnému zatížení axily z ventrálního i dorzálního směru je homogenita velmi uspokojivá. V další fázi vývoje jsme nutnost výroby polopropustného bloku nahradili kombinací plného bloku v AP poli (pomocí MLC) a volného pole. Pro základní výpočet váhy jednotlivých polí jsme vytvořili jednoduchý algoritmus, založený na trojčlence, kde vstupními faktory jsou relativní hloubkové dávky jednotlivých polí v oblasti nadklíčku a střední rovině axily. Pro snadnější použití je vhodné tento výpočet provádět např. v tabulkovém procesoru, popřípadě (jako v našem případě) vytvořit zvláštní program, spouštěný pod běžnými Windows. Tento program jsme ochotni případným zájemcům bezplatně poskytnout. Plánovací program umožňuje jenoduchým způsobem vytvořit naprosto identický tvar plného bloku v AP poli s dorzálním axilárním polem. Postup spočívá v okopírování MLC dorzálního axilárního pole do pole AP a jeho změnu na „negativ" individuálním přetažením jednotlivých listů MLC.

Výsledný plán tedy používá pět polí o jediném izocentru, což zvyšuje přesnost a usnadňuje aplikaci. Kromě vložení klínů do tangenciálních a dorzálního axilárního pole, polí probíhá celé ozáření bez dalších vstupů laborantky do ozařovny. Na pracovištích, která mají k dispozici dynamické klíny, není další zásah nutný vůbec.

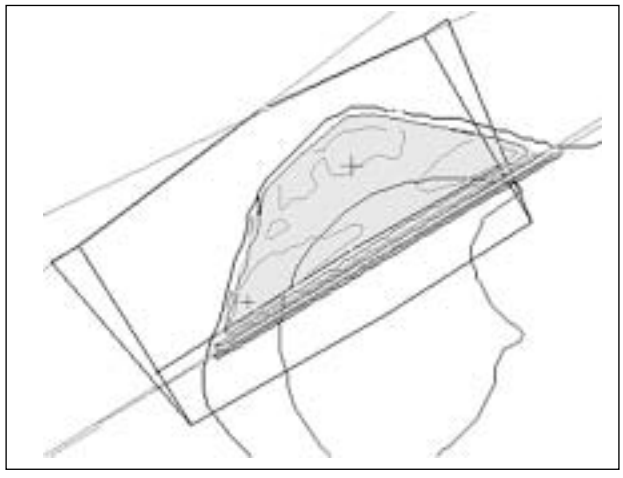
Použití MLC při plánování a aplikaci radioterapie výše uvedeným způsobem s sebou přináší ještě další výhodu oproti polopropustným blokům- pomocí MLC je možno snadno odstranit laterokaudální část PA svazku, která by mohla sumací s tangenciálními poli způsobit předávkování v oblasti hrudní stěny/prsu.

Výsledky

Na je znázorněno rozložení dávky „klasickou" technikou a novým způsobem. Je zřejmé, že klasická technika nezajišťuje aplikaci dostatečné dávky do oblasti nadklíčkových uzlin ani do dorzální části axily. V případě, že bychom tímto způ-



Obr. 2. Rozložení dávky v transverzální rovině axily a nadklíčkové oblasti 2 cm kraniálně od izocentra. Vyplněná plocha- dávka 90%-100%. A- „klasický" způsob, B-nová technika. Kromě malého přesahu do plicní tkáně odpovídá vyplněná plocha na části B prakticky ideálnímu cílovému objemu. Pro názornost normalizováno k maximu v řezu.



Obr. 3. Rozložení dávky ve střední transverzální rovině prsu. Vyplněná plocha- dávka 90%-100%. Pro názornost normalizováno k maximu v řezu.

sobem přesto ozářili uvedené oblasti do žádané dávky, překročili bychom celkovou dávku v maximu o 30%. V rozložení dávky v oblasti prsu a hrudní stěny není mezi oběma technikami rozdíl a je naprosto uspokojivé (Obr. 3).
Dále uvádíme naměřené hodnoty prvních deseti žen s karcinomem prsu, u kterých byla na naší klinice radioterapie prsu/hrudní stěny a spádových lymfatik naplánována novou technikou (Tab. 1). Dosažená homogenita dávky v oblasti axily a supraklavikulárních uzlin se pohybovala v rozmezí 7,9%-13,9% (měřeno v transverzálním řezu 2 cm kraniálně od roviny izocentra a vztaženo k max. dávce rovné 100%). Vzhledem ke komplikovanému tvaru cílového objemu a „horkému bodu" o často velmi malé velikosti je to homogenita velmi příznivá. Hodnoty v tabulce svědčí o dobré reprodukovatelnosti metody.

Tab. 1. Hodnoty vypočítaných dávek v axilární/nadklíčkové oblasti a prsu (popř. hrudní stěně).

	Minimum	Maximum	Průměr	Medián
Minimální dávka v axilární/nadklíčkové oblasti (%)	86,1	92,1	89,8	90,0
Kolísání dávky v axilární/nadklíčkové oblasti (%)	7,9	13,9	10,2	10,0
Maximální dávka v prsu (%)	97,9	102,0	100,1	100,4

Pozn.: Dávka normalizována k maximální dávce v oblasti spádových lymfatik.

Časová náročnost při plánování se zvýšila o zhruba 10% (subjektivní odhad). Delší doba aplikace nového způsobu oproti původní technice je dána pouze přidáním jednoho ozařovacího pole s MLC. V případě, že se jedná o pole bez klínu, je časový rozdíl daný jen zadáním dalšího pole do řídícího počítače ozařovače v ovladovně. U plánů s použitým klínem pro dorzální axilární pole musí laborantka navíc jednou vstoupit do ozařovny (na pracovištích, kde jsou k dispozici dynamické klíny toto odpadá). Rozdíl v „propustnosti" radioterapeutického pracoviště, kde je v současné době naprostá většina nemocných ozařována adjuvantně, je tedy zcela zanedbatelný.

Závěr

Popsaná technika radikální radioterapie prsu, nadklíčkových a axilárních spádových lymfatik, představuje významné zlepšení kvality radioterapie v této indikaci. Pro pracoviště, která disponují potřebným technickým vybavením, přitom nepředstavuje podstatnou změnu pracovního zatížení. Zkušenosti z běžného klinického provozu jsou příznivé.

Literatura

1. Bruckman JE, Harris JR, Levene MB, Chaffey JT, Hellman S. Results of treating stage III carcinoma of the breast by primary radiation therapy. Cancer 1979;43:985-993.
2. Petera J, Jandík P. Současný pohled na postavení radioterapie v komplexní léčbě karcinomu prsu. Klin onkol 2001;14:14-19.
3. Smitt MC, Goffinet DR. Utility of three-dimensional planning for axillary node coverage with breast-conserving radiation therapy: early experience. Radiology 1999;210:221-226.
4. Saw CB, Darnell B, Korb LJ, Frich JC Jr. Dose distributions through the supraclavicular-axillary region of patients undergoing breast cancer treatment. Med Dosim 1996;21:133-137.
5. Van der Kogel AJ, Ruifrok ACC. Calculation of isoeffect relationship. V: Basic Clinical Radiobiology, ed. Steel GG, Edward Arnold Publishers,1993,s.72-79.
6. Spanos WJ Jr, Montague ED, Fletcher GH. Late complications of radiation only for advanced breast cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1980;6:1473-1476.
7. Rajasekar D, Datta NR, Das KJ, Kumar S, Ayyagari S. Partial transmission block for optimization of anterior supraclavicular-posterior axillary boost in the radiation therapy of carcinoma breast. Med Dosim 1998;23:105-108.

NEOADJUVANTNÍ REŽIM S MITOXANTRONEM V LÉČBĚ LOKÁLNĚ POKROČILÉHO KARCINOMU PRSU

NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY WITH MITOXANTRONE IN TREATMENT OF LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER

BUSTOVÁ I.

ONKOLOGICKÉ ODDĚLENÍ ČESKÉ BUDĚJOVICE

Souhrn: Neoadjuvantní chemoterapie je indikována jako úvodní léčba u lokálně pokročilého karcinomu prsu. Cíle neoadjuvantní léčby jsou: 1. redukce a devitalizace primárního tumoru, 2. snížení diseminace tumorozních buněk při operaci, 3. časné zničení mikrometastáz, 4. individuální test senzitivity pro chemoterapii s možností pokračovat v léčbě u odpovídajících pacientů. Soubor zahrnuje 53 žen s lokálně pokročilým karcinomem prsu, které byly léčeny neoadjuvantním režimem – mitoxantron 12 mg/m^2 –1. den, cyclophosfamid 500 mg/m^2 - 1.den, fluorouracil 500mg/m^2 - 1. a 8. den ve 21 denních intervalech, celkem 3-4 cykly. Měření tumoru mamografii bylo užito jako hodnocení efektu chemoterapie. Kompletní odpověď (CR) byla u 2 pacientek, tj. 3,8%, parciální odpověď u 4 pacientek, tj. 7,6%. Stabilizace onemocnění u 47 pacientek, tj. 88,6%. Po neoadjuvantní chemoterapii byla radikální modifikovaná mastectomie provedena u 37 pacientek, t.j 69,8%, parciální mastectomie u 13 pacientek, t.j 24,5%, neoperovány byly 3 pacientky, tj. 5,7%. Z hematologicky nežádoucích účinků byla pozorována leukopenie, 1 pacientka G4, z nehematologických nežádoucích účinků pocit na zvracení, zvracení, zánět dutiny ústní, kardiotoxicita G1-G2 a alopecie - 1 pacientka G3. V celém souboru přežívá 5 let 58% pacientek.

Klíčová slova: neoadjuvantní chemoterapie, mitoxantror

Summary: Neoadjuvant chemotherapy has been used as initial treatment in locally advanced breast cancer. The aims of neoadjuvant treatment are: l. Reduction and devitalisation of the primary tumor. 2. Decrease of intraoperative tumor cell dissemination. 3. Early eradiation of micrometastases by systemic chemotherapy. 4. Individual clinical chemotherapy sensitivity testing with the possibility to continue this treatment in responding patients. 53 women with locally advanced breast cancer were treated with neoadjuvant regime: mitoxantrone 12 mg/m^2 - 1 day, cyclophosphamide 500 mg/m^2 – 1 day, fluorouracile – 500 mg/m^2 1+8 day, every 21 dayś three or four cycles. Measurement of tumor by mammography was used to asses the efect of chemotherapy. The response to neoadjuvant chemotherapy: 2 patients with comlete (CR) – 3,8%, 4 patients partiae response (PR) – 7,6%, 47 patients with stable disease (SD) – 88,6%. 69,8% for those having mastectomy and 24,5% for those having breast conservation. Leukopenia was the most frequent hematological toxicity – 1 patients had G4. Nause and vomiting, was the most frequent non-hematological toxicity. I observed mucositis, diarrhoea, cardial toxicity G1-G2, and alopecia, 1 patients G3. The disease – free 5-year survival rate was 58% for all patients.

Key words: neoadjuvant chemotherapy, mitoxantrone

Úvod

Neoadjuvantní chemoterapie se stala od prvního zařazení do klinických trialů a potvrzení správnosti postupů v klinické praxi, standardní léčebnou modalitou v léčbě lokálně pokročilého karcinomu prsu. Racionální podklady pro neoadjuvantní chemoterapie jsou následující: 1. redukce a devitalizace primárního tumoru. 2. snížení předoperační disseminace tumorózních buněk. 3. časné zničení mikrometastáz systémovou chemoterapií. 4. test individuální senzitivity na chemoterapii s možností pokračování léčby u odpovídajících pacientů. Optimální kombinace není zatím známa. Neoadjuvantní chemoterapie, kde v cytostatických režimech jsou použity antracykliny, je nejčastěji používanou kombinací.

Mitoxantron – podobně jako antracykliny – patří k látkám s anthrachinonovou strukturou, které byly donedávna rozvíjeny výlučně v souvislosti s barvivy. Anthrachinonové sloučeniny přírodní, včetně antracyklinů, se vyznačují přítomností hydroxylových skupin, které do nich vnášejí podle počtu a polohy barevnost od žluté do červené a hnědé. Výrazného prohloubení a zesílení odstínů se dosáhne, když na anthrachinonové jádro zavedeme aminové skupiny. V přírodě se aminoanthrachinony nevyskytují. Diaminoderiváty s aminoskupinami v polohách l,4 – jsou modré. Protinádorová účinnost derivátů l,4 - diaminonantrachinonu je závislá na stavbě bočného řetězce. Kategorickou podmínkou účinnosti je sekundární aminoskupina uprostřed, tj. alespoň s jedním atomem vodíku k vytváření vodíkových vazeb při interkalaci. Tato středová aminoskupina musí být od aminoskupiny na jádře vzdálena právě o dvě skupiny methylenové. Obměny terminální vždy aktivitu různou měrou snižují – u mitoxantronu je stavba řetězce optimální (1).

Charakteristika souboru:

Od l. l. l99l do 31. 12. 1997 byla 53 ženám s lokálně pokročilým karcinomem prsu III. klinického stádia (do souboru nebyly zavzaty ženy s inflamatorním karcinomem prsu, jehož léčba vyžaduje speciální přístup) podána neoadjuvantní chemoterapie ve složení cyklofosfamid 500 mg/m^2 l. den, mitoxantron 12 mg/m^2 l. den, fluorouracil 500 mg/m^2 l. a 8. den (CNF) ve 21 denním intervalu. Performans status dle Karnofského stupnice byl u žen souboru v rozmezí 90-100%. Věk pacientek se pohyboval od 33-74 let s mediánem 53,5 let. Nejpočetněji byla zastoupena věková skupina žen v rozmezí 50-59 let, tj. 32,1%

Tab. č. 1 - Rozdělení souboru dle věku

Věk	Počet	Procento
< 30	0	0
30-39	6	11,3
40-49	15	28,3
50-59	17	32,1
60-69	12	22,6
> 70	3	5,7
Celkem	53	100,0

Největší procento pacientek – 86,7% bylo klasifikována jako T3, Nl, MO (tab. č. 2).

Tab. č. 2 - Rozdělení souboru dle TNM

	Počet	Procento
T2 N2 M0	1	1,9
T3 N1 M0	46	86,7
T3 N2 M0	2	3,8
T4 N1-2 M0	4	7,6

U všech pacientek byla provedena histologická verifikace k potvrzení nádorového onemocnění.U 60,4% pacientek se tumor nacházel v horním zevním kvadrantu prsu (tab. č. 3).

Tab. č. 3 - Lokalizace tumoru v jednotlivých kvadrantech prsu

Kvadrant	Počet	Procento
50.0	4	7,5
50.1	6	11,3
50.2	6	11,3
50.3	0	0
50.4	32	60,4
50.5	3	5,7
50.9	2	3,8
Celkem	53	100,0

Cíl práce:
Cílem práce bylo ověřit možnost začlenění mitoxantronu - cytostatika ze skupiny antrachinonů - do neoadjuvantního chemoterapeutického režimu, posoudit účinnost režimu a toxicitu režimu. Mitoxantron byl zařazen pro srovnatelnou účinnost s antracykliny (viz tab. č. 5) a dobrý toxický profil (nízká kardiotoxicita, příznivý stupeň alopecie, mírnou hematologickou toxicitu. (1)

Metody práce a způsob aplikace protinádorové chemoterapie
- TNM – bylo stanoveno na základě klinického – palpačního vyšetření (měření kaliperem) a mammografického vyšetření před a po podání neoadjuvantní chemoterapie. K vyloučení metastáz byl u všech pacientek proveden rtg S+P, UZ jater a scintigrafie skeletu.
- Hodnocení účinnosti neoadjuvantního režimu bylo posuzováno na základě léčebné odpovědi dle kritérií UICC. Kompletní odpověď (CR), parciální odpověď (PR), stabilizace onemocnění (SD), progrese onemocnění (PD) a patologická kompletní remise (pCR). Součtem CR a PR byla hodnocena objektivní odpověď
- Nežádoucí účinky byly hodnoceny dle WHO kritérií stupni od 0-4.

Výsledky:
Soubor zahrnoval 53 pacientek s lokálně pokročilým karcinomem prsu st. III. Celkem 77,5% pacientek dostalo 3 cykly neoadjuvantní chemoterapie, 7,5% pacientek dostalo 4 cykly, 15% pacientek dostalo 2 cykly.
■ Objektivní hodnocení účinnosti neoadjuvantního režimu posuzovaného na základě mammografického nálezu v souboru před operací je následující: CR u 2 pacientek tj. 3,8%, PR u 4 pacientek, tj. 7,6%, SD byla v souboru u 47 pacientek, tj. 88,6%, PD u žádné pacientky, objektivní odpověď je 11,4%.
■ Radikální modifikovaná mastectomie byla provedena u 69,8% pacientek. Parciální operační výkon byl proveden u 24,5% pacientek.Rozbor velikosti tumoru po operaci ukazuje následující tabulka:

Tab. č. 4 - Rozbor velikosti tumoru po operaci

	Počet	Procento
P T2	28	52,9
P T1	10	19,0
P T0	3	5,7
P T3	9	16,7
Neoperováno	3	5,7

■ Patologická kompletní remise (pCR) byla zaznamenána u 3 pacientek, tj. v 5,7%. Dvě pacientky přežívají bez známek choroby, 196 měsíců, druhá 59 měsíců. Třetí pacientka umírá na generalizaci onemocnění do jater a plic za 7 měsíců od zjištění diagnosy. V prsu nebyl nádor nalezen.
■ Zhodnocení nežádoucích účinků neoadjuvantního režimu v souboru: Všechny pacientky souboru dostaly před podáním neoadjuvantní chemoterapie preventivně antiemetikum, z toho 36 pacientek dostalo antiemetikum ze skupiny setronů (Zofran, Kytril, Navoban).

a) hematologické nežádoucí účinky: Z hematologické toxicity se objevila v souboru: leukopenie Gl u 4 pacientek, tj. 7,5%, G2 u 13 pacientek, tj. 24,5%, G3 u 2 pacientek, tj. 3,8%, G4 u l pacientky, tj. 1,9%, trombopenie Gl se objevila u 1 pacientky, tj. 1,9%.
Hematologická toxicita byla pouze v jednom případě (leukopenie-G4) řešena pomocí hemopoetického růstového faktoru G-CSF – Neupogenu. V ostatních případech byla upravena bez růstových faktorů. Trombocytopenie nebyla u pacientky léčebně řešena, došlo ke spontánní úpravě.

b) nehematologické nežádoucí účinky: toxicita gastrointestinální – nausea Gl se objevila u 13 pacientek, tj.24,5%, vomitus G2 u 3 pacientek, tj. 5,7%, diarrhoea G2 u 2 pacientek, tj. 3,8% , stomatitida G2 u l pacientky, tj 1,9%. Alopecie G3 u 1 pacientky, tj. 1,9%. Kardiotoxicita se objevila u 1 pacientky: poruchy rytmu G2, tj. 1,9%, tachykardie Gl u 1 pacientky, tj. 1,9% , fibrilace síní G2 u l pacientky, tj. 1,9%. Kardiotoxicita byla monitorována pouze EKG záznamem. Zavedení monitorace pomocí echokardio vyšetření a sledování ejekční frakce nebylo v souboru provedeno. Ostatní toxicita nebyla v souboru pozorována. Vzhledem k tomu, že šlo o kumulativní toxicitu ze 3 podávaných cytostatik, hodnotím toxicitu režimu neoadjuvantní chemoterapie, podané v sledovaném souboru, jako velmi příznivou.

■ Soubor byl hodnocen z pohledu přežívání: 3 roky přežívá 70% pacientek, 5 let přežívá 58% pacientek.
■ Doba do první progrese: 3 roky bez progrese 63% pacientek, 5 let bez progrese 55% pacientek. Po neoadjuvantní chemoterapii a operaci pacientky pokračovaly v léčbě pro diagnostikovaný lokálně pokročilý karcinom prsu III. klinického stádia standardním postupem dle prognostických faktorů.

Na základě zhodnocení výsledků získaných v tomto souboru konstatuji závěr:

- neoadjuvantní režim ve složení mitaxantron, cyklofosfamid, fluorouracil je alternativou
- pro pacientky vyšší věkové skupiny
- pro pacientky s kardiovaskulárním onemocněním v anamnéze
- pro pacientky vyšší věkové skupiny s komorbiditou
- pro pacientky vyšší věkové skupiny, kde je následně plánována aktinoterapie jizvy na levé straně hrudníku.

Diskuse

Neoadjuvantní chemoterapie, jako součást multidisciplinárního přístupu byla poprvé indikována v r. 1973 v milánském institutu pro nádory u žen s karcinomem prsu st. III. Tento přístup dosáhl odpovědi tumoru po několika chemoterapeutických cyklech a zlepšil jak lokoregionální kontrolu, tak prodloužil přežívání. (2). Na základě těchto prvních zkušeností začínají v roce 1980 klinické trialy, nejprve s cytostatiky v monoterapiích, následovanými randomizovanými i nerandomizovanými studiemi s neoadjuvantními kombinovanými cytostatickými režimy. Klinické trialy hodnotící neoadjuvantní chemoterapii začínají v r. 1980 v Paříži, v Edinburgu a Londýně. Neoadjuvantní chemoterapie byla podávána na základě zjištění aktivity u jednotlivých cytostatik. Metotrexat, fluorouracil, doxorubicin (Henderson 1987), epirubicin (Mouridsen et al. 1990), mitoxantron (Andersson a Mouridsen 1987), mitomycin (Hortobagyi 1985). Odpověď se pohybovala mezi 20-40% a trvala 3-9 měsíců při podávání jmenovaných cytostatik v monoterapii.

Z pohledu cíle práce jsou důležité následující trialy s mitoxantronem: 3 randomizované trialy, podávající CAF x CNF (Bennett et al. 1988, Buyukunal et al. 1987, Grohn 1988) (cyklofosfamid, doxorubicin, fluorouracil x cyklofosfamid, mitoxantron, fluorouracil). Odpověď u 231 pacientů byla 37% : 27%, (CAFxCNF), doba do progrese 147:125 dnům a doba trvání odpovědí 254:171 dnům, přežívání 385:375 dnům. Rozdíly výsledků mezi oběma režimy nejsou statisticky signifikantní. Další 2 randomizované trialy, srovnávající účinnost CEF x CNF (cyklofosfamid, epirubicin, fluorouracil x cyklofosfamid , mitoxantron, fluorouracil) zahrnovaly 56 pacientek v trialu Perti et al. 1989 a 117 pacientů v trialu Robustelli Della Cuna et al. 1990. Data potvrzovala stejnou odpověď pro oba režimy 48%:41% ve studii z roku 1989 a lepší odpověď ve studii z roku 1990 (42% : 26%) pro režim CEF. Poslední 2 trialy, Jodrell et al. 1991 (MMM x CMF) (mitomycin, metotrexát, mitoxantron x cyklofosfamid, metorexát, fluorouracil) a trial Powles et al. 1991 (MMM : CMF : VAC) (mitomicin, metotrexát, mitoxantron : cyklofosfamid metotrexát, fluorouracil : vincristin, doxorubicin, cyklofosfamid). Závěr byl, že všechny 3 režimy jsou účinné a dobře tolerovány. Podání neoadjuvantní chemoterapie je standardním krokem v léčbě lokálně pokročilého karcinomu prsu. Léčebná strategie směřuje k prodloužení intervalu bez nemoci a k prodloužení přežívání. Jeden z možných předpokladů, jak se k tomuto cíly přiblížit, je navozeni pCR. A to nejenom u pokročilých stádií, ale i v časných stádiích karcinomu prsu. (3) K zabezpečení tohoto cíle jsou sestavovány nové kombinace cytostatik v nových sekvencích podávání. Jedny z posledních studií se zabývají zařazením taxanů do neoadjuvantních režimů(4). V novějších trialech není již opomenuta otázka hormonálního stavu pacientů, objevuje se neoadjuvantní podání antiestrogenů i inhibitorů aromatáz buď samostatně, nebo v kombinaci s chemoterapií (5). I když 3 až 4 cykly neoadjuvantní chemoterapie jsou podávány standardně, objevil se názor, že pokud nedojde k dostatečné odpovědi, měla by neoadjuvantní chemoterapie pokračovat cytostatiky s jiným mechanismem účinku (6). Celá problematika kolem neoadjuvantní léčby karcinomu prsu má řadu otázek, jejichž odpovědi lze formulovat až na základě budoucích poznatků v oblasti výzkumu a schopnosti jejich přenesení do klinické praxe.

Tab. č. 5 - Srovnávací studie mitoxantron versus doxorubicin v monoterapii - % odpovědí

Autor	Mitoxantron	Doxorubicin
De Jager 1982	20	27
Neidhard 1986	27	40
Henderson 1989	25	35

Literatura

1) Havlíčková L., Koloničný A. – Československý Mitoxantron, Výzkumný Ústav organických syntéz Pardubice ; Antracykliny, Sborník přednášek, str. 162-163,Brno, 28. ledna 1998.
2. Bonadona G. – Evolving concepts in the systemic adjuvant treatment of breast cancer; Cancer Res. 52: 2127-2137, 1992.
3. Kuerer H.M. et al. – Clinical course of breast cancer patients complete pathologick primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy – Clin. Oncol. 1999, Feb; 17(2):441-4
4. Gianni L. et al. – Putting taxanes to work in operable breast cancer: a search for selective indications from empirical studies – Recent Results in Cancer Research; 152: 314-22, 1998.
5. Dixon J.M. et al. – The effects of neoadjuvant anastrozole (Arimidex) on tumor volume in postmenopausal women with breast cancer; a randomized, double-blind, single-center study – Clinicla Cancer Research 6 (6): 2229-35, 2000.
6. Khayat D. et al. – Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer: Simple Prognostic, or Useful Predictive Factor? - ASCO, San Francisco, 2001, str. 510-515.
7- Bartelink H. et al. – Hormonal Therapy Prolongs Survival in Irradiated Locally Advanced Breast Cancer: A European Organization for Research and Treatment of Cancer Randomized Phase III Trial – Journal of Clinical Oncology, Vol. 15, No 1 (January), 1997: pp 207-215.
8. Powles T.J. et al. – Randomized Trial of Chemoendocrine Therapy Started Before or After Surgery for Treatment of Primary Breast Cancer – Journal of Clinical Oncology, Vol. 13, No 3 (March), 1995: pp 547-552.
9. Bonadonna G. et al. – Primary Chemotherapy in Operable Breast Cancer – Seminars in
Oncology, Vol 23, No 4 (August), 1996: pp 464-474.
10. Bonadonna G. et al. – Primary Chemotherapy in Operable Breast Cancer: Eight -Year Experience at the Milan Cancer Institute – Journal of Clinical Oncology, Vol 16, No 1 (January), 1998: pp 93-100.
11. Fisher B. et al. – Effect of Preoperative Chemotherapy on Local-Regional Disease in Women With Operable Breast Cancer: Findings From National Surgical Adjuvant Breast and Bowel project B-18 – Journal of Clinical Oncology, Vol 15, No 7 (July), 1997: pp 2483-2493.
12. Fisher B. et al. – Effect of Preoperative Chemotherapy on the Outcome of Women With Operable Breast Cancer – Journal of Clinical Oncology, Vol 16, No 8 (August), 1998: pp 2672–2685.

MALT LYMFOM S PLICNÍ LOKALIZACÍ

MALT LYMPHOMA WITH PULMONARY LOCALIZATION

POZNAROVÁ A.[1], MAISNAR V.[1], REŠL M.[2], KREJSEK J.[3], ŽÁK P.[1], MALÝ J.[1]

[1] ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE, [2] FINGERLANDŮV ÚSTAV PATOLOGIE,
[3] ODDĚLENÍ KLINICKÉ IMUNOLOGIE A ALERGOLOGIE FN HRADEC KRÁLOVÉ

Souhrn: MALT lymfom, poprvé popsán v roce 1983 Isaacsonem a Wrightem, byl uznán REAL klasifikací (A Revised European – American Classification of Lymphoid Neoplasms) v roce 1994 za samostatnou jednotku Ne-Hodgkinových lymfomů vznikajících maligní transformací B-buněk marginální zóny MALT systému periferní extranodální tkáně. V současné době je definován na základě specifických morfologických, fenotypových, genotypových a klinických znaků. Jeho plicní lokalizace je méně častá a ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové byly diagnostikovány v průběhu posledních 10 let pouze dva případy, z nichž u jednoho dosud přetrvávají diagnostické rozpaky. Popisována je kazuistika 62-leté nemocné s progredující dušností, kašlem, úbytkem hmotnosti a nočními poty. Rtg vyšetření hrudníku prokázalo rozsáhlou expansi v plicním parenchymu vpravo se stejnostranným pleurálním výpotkem. CT vyšetření plic verifikovalo postižení všech tří laloků pravé plíce s indukovaným výpotkem. Přes suspekci na TBC proces či karcinom byla explorativní thorakotomií nakonec stanovena diagnóza plicního MALT-lymfomu. V laboratorním nálezu přítomna v úvodu anémie, vyšší hladina LD, beta2-mikroglobulinu, současně byl prokázán paraprotein IgM lambda. Staging onemocnění neprokázal diseminaci procesu. Bylo aplikováno základní schéma chemoterapie, následně provedený restaging onemocnění potvrdil dosažení kompletní remise. Pro úvodní rozsah onemocnění byla zahájena udržovací imunoterapie interferonem alfa.

Klíčová slova*:* MALT lymfom (Mucosa Associated Lymphoid Tissue), plicní lokalizace, diagnóza, terapie

Summary: MALT lymphomas, described by Isaacson and Wright in 1983 for the first time, was recognized by the REAL classification in 1994 as an independent low grade NHL lymphoma unit originating by malignant transformation of B-cells from the marginal zone of MALT system of peripheral extranodal tissue. At present lymphoma is defined on the base of specific morphological, phenotypic, genotypic and clinical symptoms. Its pulmonary localization is less frequent and two cases have been diagnosed in the course of the last ten years in the Teaching Hospital in Hradec Králové, one of them has remained still a diagnostic puzzle. A case of a 62 year-old patient suffering from progressing breathlessness, cough, weight loss, and night perspiration. CT lung examination verified affliction of all three lobes with exudate induction on the right.There was a suspicion of TBC or carcinoma. In the end pulmonary MALT lymphoma was diagnosed by explorative thoracotomy. At the beginning anaemia, increased LD level, beta2-microglobuline were revealed in laboratory finding. In disease staging dissemination was not proved. The basic schema of chemotherapy was applied. Complete disease restaging was carried out to reach complete remission. Conservation immunotherapy by interferon alpha started due to initial extends of the disease.

Key words: MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) lymphoma, pulmonary involvement, diagnosis, therapy

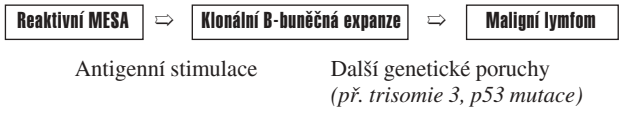
Úvod:
MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) lymfom v plicní lokalizaci se řadí k lymfoproliferativním chorobám plicním, kam dle WHO (World Health Organization) dále patří lymfoidní intersticiální pneumonie (LIP), nodulární lymfoidní hyperplazie a lymfomatoidní granulomatóza (1,2,3,4).
MALT lymfomy obecně tvoří 5% všech NHL (Ne-Hodgkinových lymfomů) a 30-40% všech extranodálních lymfomů (11). Často jsou asociovány s autoimunitními chorobami, chronickou antigenní stimulací a častěji se vyskytují u imunosuprimovaných lidí (3,6,11). Převládá názor, že dlouhotrvající zvýšený obrat B-buněk u nemocných s autoimunitními chorobami se může podílet na lymfomagenezi a že imunosuprese je možným přídatným faktorem. Patogeneza onemocnění není zcela objasněna, ale extrapolují se získané výsledky při analýze MALT lymfomu slinných žláz u nemocných se Sjögrenovým syndromem - viz schéma (10,12).
MALT lymfomy bývají lokalizovány jak v primárním, tak v sekundárním MALT systému, více však v sekundárním (9). Nejčastěji se vyskytují v trávicím traktu, ale byly popsány téměř ve všech anatomických lokalizacích - viz tabulka, (5). Plicní lokalizace MALT lymfomu se řadí k méně častým až vzácným lokalizacím. Antigenní stimulace chronickými infekty bronchopulmonálními, autoimunitní onemocnění pojiva, kouření, fibrotizující alveolitida se podílejí na hyperplazii BALT systému (Bronchus-Associated Lymphoid Tissue-MALT systému v plicích) a podporují tak vznik lymfomu. Vzácně byly pozorovány transformace z lymfoidní intersticiální pneumonie. MALT lymfom v plicní lokalizaci tvoří 75-90% všech primárních plicních lymfomů, méně než 4% všech extranodálních lymfomů a méně než 1% primárně lokalizovaných extranodálních lymfomů. Maximum výskytu je v 6. dekádě života, o něco vyšší je prevalence u mužů. K základní klinické symptomatologii se řadí kašel (39%), vasculitis s kryoglobulinémií (31%), dušnost (21%), hemoptýza (10%) a bolest na hrudi (10%). Častá je přítomnost systémových příznaků jako jsou noční poty, febrilie či pokles hmotnosti (2,6,7,8).
Diagnóza bývá obvykle stanovena po kompletizaci výsledků řady vyšetřovacích metod. Mnohdy je ale nevyhnutelné provedení explorativní thorakotomie s odběrem vzorku k histologickému vyšetření (2,3,4,6,12). K zahájení vyšetřovacího postupu dochází ve většině případů na základě patologického nálezu na RTG snímku plic, definitivní rozsah a typ postižení plicní tkáně určí až následné provedení CT vyšetření (6,8,14). K diagnóze může v některých případech přispět i funkční vyšet-

ření plic, při němž bývá častěji obstruktivní než-li restriktivní porucha (9). Bronchoalveolární laváž a diagnostická bronchoskopie přispívají k objasnění diagnózy pouze výjimečně. V laboratorním nálezu bývá přítomna vysoká sedimentace, zvýšená hladina LD a beta2-mikroglobulinu, anémie chronických onemocnění, v některých případech byla prokázána přítomnost paraproteinu v séru. Nelze opomenout ani diagnostický přínos imunofenotypizačního a cytogenetického vyšetření (3,6,7,8,12).
Dříve byl léčbou volby chirurgický zákrok (12), v současné době se uplatňují méně invazivní metody jako je chemoterapie (mono- či kombinovaná) a cílená radioterapie (3,5,9).

Vlastní zkušenost
Popisována je kazuistika 62-leté nemocné, v jejíž rodině se dosud nevyskytlo žádné hematologické onemocnění. Otec zemřel na karcinom plic v 58 letech, sestra zemřela v 59 letech na tumor mozku. Nemocná žije s maminkou, děti nemá, dříve pracovala jako úřednice. Nikdy vážněji nestonala, až v červnu r. 1999 se objevila postupně narůstající námahová inspirační dušnost, která později přetrvávala i v klidu. Přidružil se neproduktivní dráždivý kašel, únava a slabost. Z celkových příznaků byly přítomny intermitentně subfebrilie do 37,2 °C, noční poty a úbytek hmotnosti 2kg za 3 měsíce.
Vstupní fyzikální vyšetření prokázalo vymizelé dýchání vpravo s výpotkem poklepově až do výše plicního hrotu. V laboratorním nálezu dominovala vysoká sedimentace erytrocytů metodou podle Westergreena (FW 70/100), postupně došlo k vývoji anémie chronického onemocnění (Hb 107..94g/l) a trombocytémie (trombo 267..447.10/9/l). Dále byla vyšší hodnota LD 8.93 mmol/l, beta2-mikroglobulinu 4.12mg/l. Na základě patologických hodnot elektroforézy bílkovin séra byla provedena imunofixace, při níž prokázán paraproteinu IgM lambda v kvantitě 12.06 g/l. Na RTG snímku hrudníku byla patrna 2 rozsáhlá ložiska ve středním a dolním plicním poli vpravo s průvodním výpotkem (viz obr. 1). CT vyšetření potvrdilo postižení části horního a středního laloku, dolní lalok byl plně infiltrován (viz obr. 2). Pro dušnost bylo nutné opakovaně punktovat pleurální výpotek charakteru exsudátu s vyšší hodnotou adenosindeaminázy, cytologicky se jednalo o lymfocytární typ výpotku. Pro suspekci na TBC proces byla nemocná přeléčena 7-týdenní léčebnou dávkou antituberkulotik, kultivačně však TBC proces nebyl prokázán. Pro rozsah procesu v diferenciální diagnostice pomýšleno i na bronchogenní karcinom, nádorové markery však byly negativní. Bronchoskopie ukázala pouze zánětlivé změny, proto byla k diagnostickému objasnění zvolena explorativní thorakotomie s odběrem histologického materiálu. Na základě typických znaků morfologických a imunologických byla poté stanovena diagnóza B-buněčného low grade lymfomu, tzv. MALT lymfomu (viz obr. 3). K dokončení stagingu bylo následně provedeno CT vyšetření břicha, kde diseminace nebyla prokázána, vyšetření kostní dřeně bylo též bez známek infiltrace lymfomem. Při galiovém scanu byl vyšší záchyt galia pouze v místě primárního postižení plic vpravo (viz obr. 4).
Pro terapii byla vzhledem k úvodnímu rozsahu onemocnění zvolena kombinovaná chemoterapie dle schématu CHOP (Cyclofosfamid 1.2g, Adriamycin 80mg, Vincristin 2mg 1.den i.v., Prednison 80mg 1.-5. den p.o.). Po 3 cyklech chemoterapie byl proveden kontrolní RTG snímek hrudníku (viz obr. 5), kde došlo k výrazné regresi nálezu. Po 6 cyklech chemoterapie bylo restagingem základního onemocnění potvrzeno dosažení kompletní remise (viz. obr. 6,7). Došlo k poklesu sedimentace, normalizoval se fyzikální, RTG a CT nález na plicích, na galiovém scanu se v oblasti plic nezobrazila ložiska patologického záchytu. Subjektivně došlo k výraznému zlepšení nemocné. Pro přetrvávající vyšší hodnotu LD a pro úvodní rozsah onemocnění byla zahájena udržovací léčba ve formě imunoterapie interferonem alfa v dávce 3x3 MU (million units) týdně s.c.

Obr. 1: RTG hrudníku

Schéma: model MALT lymfomageneze ve slinné žláze:



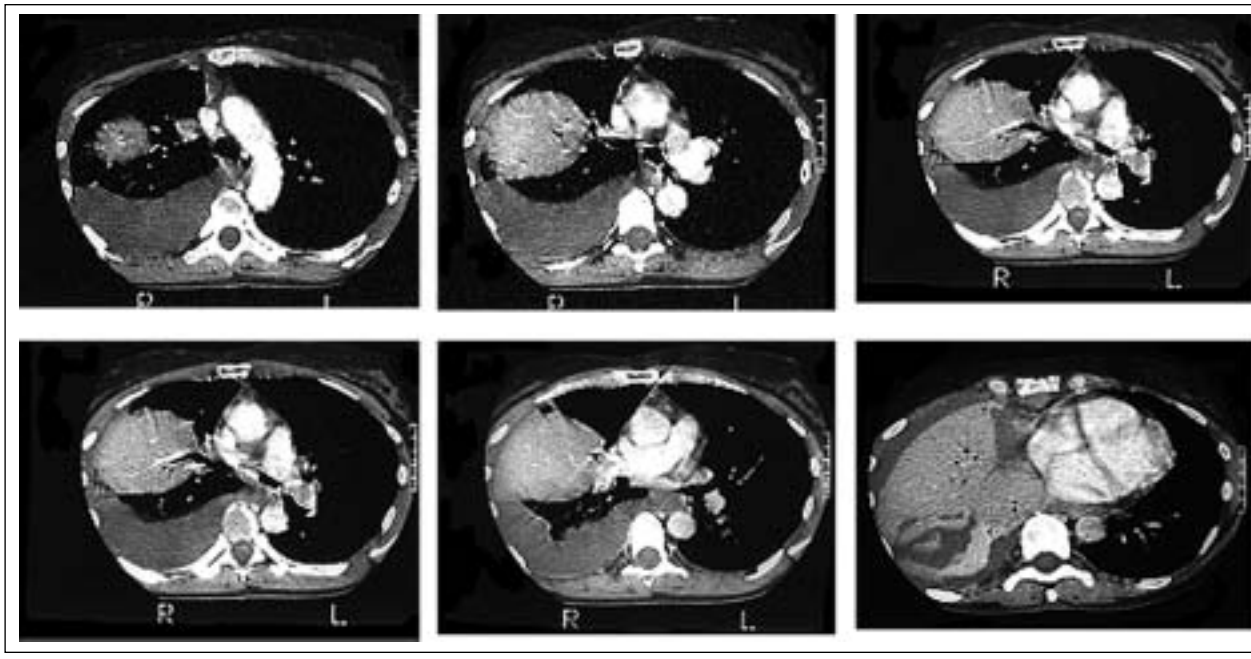
Vysvětlivky: **MESA** - myoepiteliální sialadenitis (reaktivní infiltráty ve slinné žláze)
p 53 - antionkogen

Tabulka: MALT lymfom –přehled lokalizace a diseminace dle Thieblemont C. et al., 1987-1999 (5)

Jednoorgánové postižení: N=140=89%			Víceorgánové postižení: N=18=11%		
Stage:	I-IIE	III-IVE	Stage:	I-IIE	III-IVE
Žaludek	**44%**	13%	Žaludek + střevo	1%	**10%**
Střevo	8%	7%	Plíce + orbita	0	**1.7%**
Plíce	***8%***	13%	Plíce + orbita + kůže	0	**1.7%**
Mamma	**3%**	4%	orbita + hlava/krk	0	**1.7%**
Orbita	11%	7%	orbita+hlava/krk+mamma	0	**1.7%**
Hlava a krk	12%	9%	GIT+ne GIT		
ŠŽ	6%	0%	GIT + plíce	0	**10%**
Kůže	7%	**17%**	Žaludek+hlava/krk	0	4%
%	**99**	**70**		**1**	**30**

Vysvětlivky: ***N:*** *počet ,* ***ŠŽ:*** *štítná žláza,* ***GIT:*** *gastrointestinální trakt*

Obr. 2: CT hrudníku

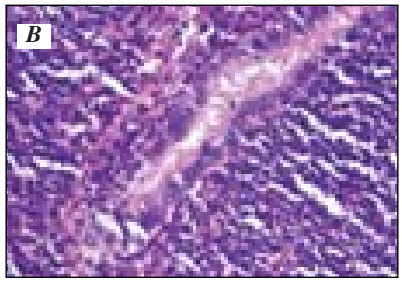


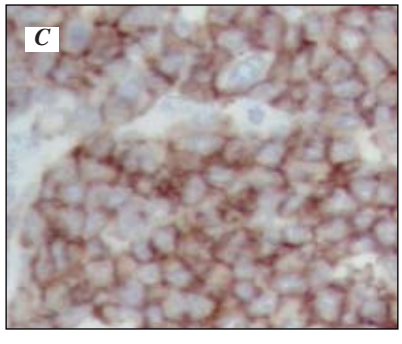
LEGENDA K OBRÁZKŮM

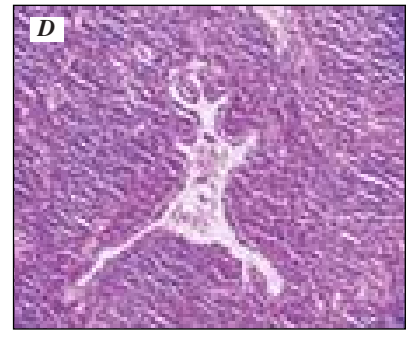
TABULKA:

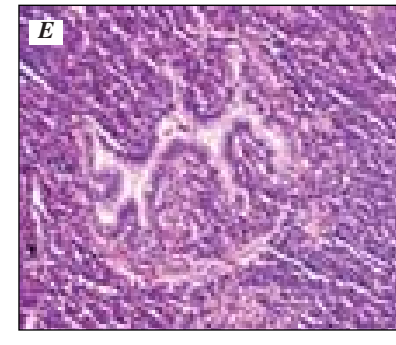
Závěr: **Overall survival:** 5- leté přežití: 86%, 10-leté přežití: 80%.
Disease free survival: 5,6 let pro obě skupiny.
Exitus: 11%, příčina: progrese s diseminací 60% , jiná 40%

Obr. 3: Makroskopické a mikroskopické preparáty









OBR. 1: **RTG hrudníku (12/99)**
Ve středním plicním poli vpravo je velké kulovité zastínění o velikosti 7 cm, dobře ohraničené, bez vzdušného bronchogramu, dále vpravo je cípaté zastínění v dolním plicním poli. Pravá polovina bránice a oblast lateropulmonální je zastřena výpotkem o minimálním množství 500 ml.

OBR. 2: **CT hrudníku (8/99)**
Konsolidace pravé plíce se vzdušným bronchogramem od ventrálního a dorsálního segmentu pravého horního laloku přes zevní segment středního laloku do dolního laloku, který je z větší části plně infiltrován. V oblasti horního plicního laloku dominuje výpotek, který je patrný i v oblasti laloku středního.

OBR. 3:

A) Makroskopický preparát
Tumorózně infiltrovaná část plicní tkáně získaná explorativní thorakotomií.

B) Mikroskopický preparát
Detail znázorňující stěnu bronchiolu s invazí nádorových lymfocytů do epitelu (lymfoepiteliální léze-LEL).

C) Imunohistochemie
Převaha CD20 pozitivity dokazuje dominanci B-malých zralých lymfocytů.

D) Mikroskopický preparát
Centrálně uložený bronchiolus, jehož stěna je infiltrována nádorovými lymfocyty stírajícími strukturu plicní tkáně.

E) Mikroskopický preparát
Detail s vyniknutím nádorové infiltrace lamina muscularis mucosae.

OBR. 4: **Galiový scan:**
Ložisko patologického záchytu o velikosti 7x7x10cm v dolní 1/3 pravé plíce, dále ložisko ve střední 1/3 pravé plíce 5x5x6cm a drobné ložisko o velikosti 2 cm v dolní 1/3 levé plíce.

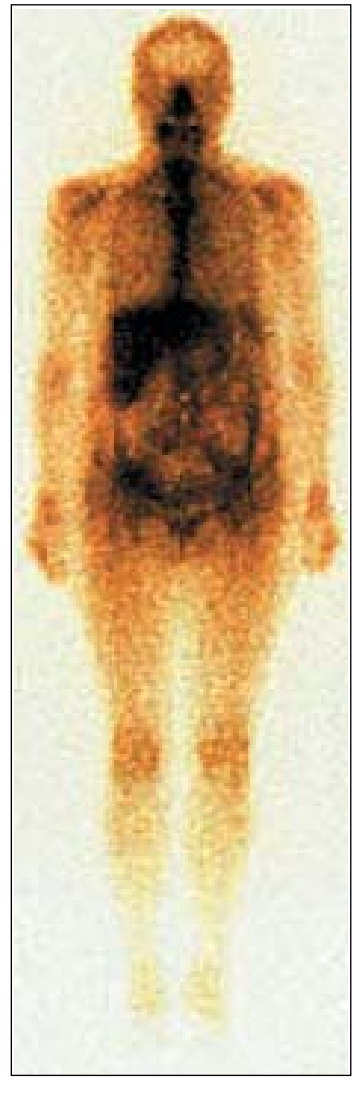
OBR. 5: **RTG hrudníku 2/00:**
Plíce rozepjaty, v pravém plicním křídle došlo k výraznému zmenšení expanze ve středním plicním poli, zvětšila se transparence a je naznačen vzdušný bronchogram. Podobné změny ve smyslu regrese jsou v dolním plicním poli vpravo. Pleurálního výpotku je mnohem méně. Levá plíce je bez infiltrace. Závěr: regrese nálezu na pravé plíci ve srovnání s 12/99 včetně velikosti pravostranného fluidothoraxu.

OBR. 6: **CT hrudníku 6/00:** Vpravo dorsobasálně minimální výpotek. V centru pravého horního laloku je infiltrát se vzdušným bronchogramem velikosti 5x3 cm. Podobný infiltrát s jizevnatými změnami je i ve středním laloku. Závěr: lokalizace infiltrací odpovídá původní lokalizaci onemocnění. Zřejmě se jedná o vazivové změny v plicním parenchymu po léčbě. Nález nemá jistě expanzivní charakter a vzhledem k nahloučení bronchů je postižená plíce spíše retrahována.

OBR. 7: **Galiový scan:**
V oblasti plic se se nezobrazila ložiska patologického záchytu.

Obr.4: Galiový scan

Obr. 7: Galiový scan



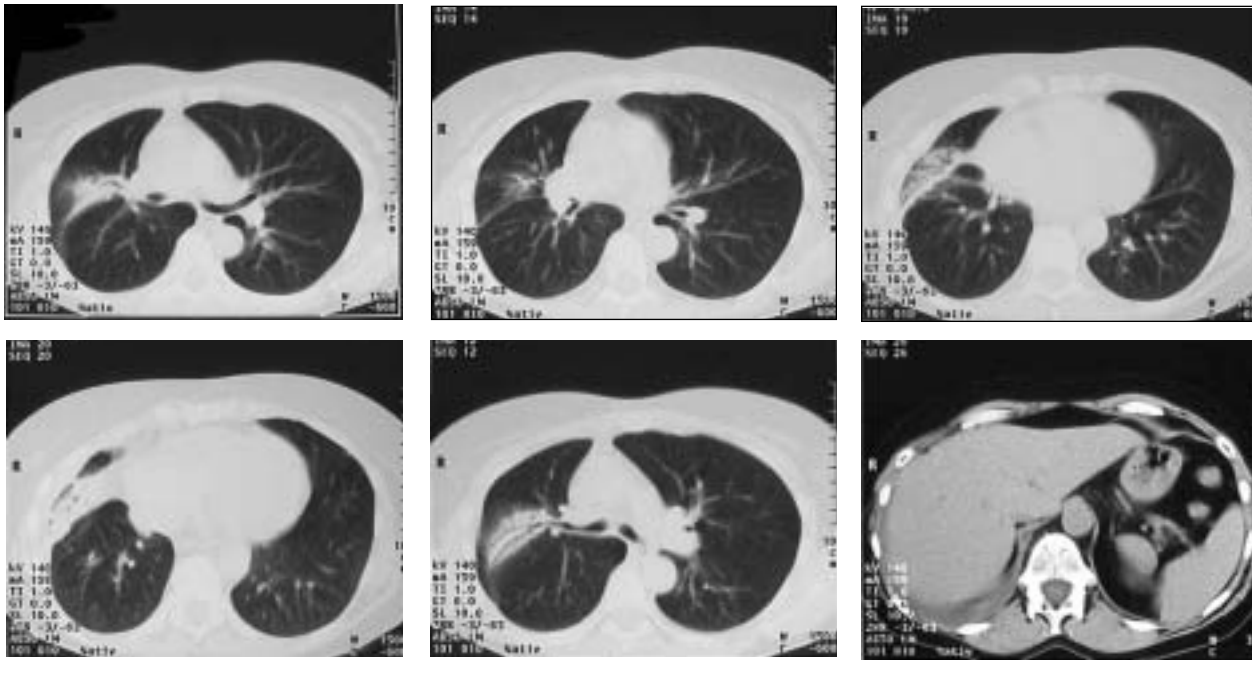
Obr. 5: Kontrolní rtg hrudníku

Diskuse

Po přijetí WHO klasifikace lymfoproliferativních onemocnění plic, kam v současnosti patří pouze čtyři jednotky, se rozdělení lymfoproliferací v plicní tkáni stalo jednodušším a přehlednějším. MALT lymfomy obecně probíhají indolentně a není výjimkou přežití delší než 10 let, ze všech Ne-Hodgkinových lymfomů tak mají nejlepší prognózu. Bývají dlouhodobě lokalizovány v jedné oblasti a k diseminaci dochází dle literatury jen asi v 10% případů. Stejně tak k transformaci do high-grade lymfomu (diffuse large B-cell lymphoma) může dojít u 10% nemocných.

Až polovina nemocných s MALT lymfomem v plicní lokalizaci nemá žádné obtíže a patologie plic se zjistí při náhodně provedeném RTG vyšetření. Rentgenologický nález nejčastěji představuje solitární či multifokální parenchymatózní konzolidace podobající se pneumonii s air bronchogramem. Přítomny mohou být i pleurální nálety s následnou indukcí výpotku. Diagnostická bronchoskopie, transbronchiální, transthorakální a endobronchiální plicní biopsie bývají přínosné pro diagnózu pouze výjimečně, neboť často

Obr. 6: CT hrudníku – kontrolní



se jedná o difuzní submukózní tumor ve spojení s intrathorakálním nálezem. Proto je velmi často nutné provést explorativní thorakotomii. Histologické rysy, zejména šíření podél lymfatických cest a podél bronchovaskulárního svazku, expanze a destrukce alveolárních sept, dále pak heterogenní buněčné zastoupení s predomimancí centrocyt-like buněk, možným výskytem plasmatických buněk často provázeným tvorbou paraproteinu a typické lymfoepiteliální léze (LEL), přispívají k diagnóze nejvíce.

V diferenciální diagnostice činí největší problém rozlišení low grade MALT lymfomu a lymfoidní intersticiální pneumonie (LIP). Symptomy obou jednotek bývají často shodné. K rozlišení je nutné provedení imnunohistochemického vyšetření, které usnadní určení lokalizace a charakteru buněčných infiltrátů. U LIP jsou agregáty B-buněk často lokalizovány peribronchiálně nebo septálně s predominancí T-lymfocytů, nebývá monoklonalita a restrikce lehkých řetězců. Lymfoepiteliální léze či infiltrace cévní jsou častější u lymfomů, ale nejsou specifickým markerem malignity.

U MALT lymfomů byla dříve léčebným postupem volby chirurgická intervence s resekcí postižené plíce. Pokud byl tumor resekabilní, provedla se resekce s možným navozením dlouhodobé remise. Při progresi onemocnění následovalo podání chemoterapie-např. monoterapie chlorambucilem. V současnosti jsou alternativou chirurgické léčby i méně invazivní metody jako chemoterapie a radioterapie. Léze jsou často vysoce citlivé na obě metody, ale aplikace radioterapie je limitovaná tolerancí plicní tkáně (low dose radiation therapy). Ačkoliv jsou do klinické praxe zaváděny neustále nové léky z řad cytostatik, basální cytostatická léčba plicních MALT lymfomů se v průběhu posledních 30 let nemění. Dispenzarizace a „watch and wait" je snad nejlepším postupem pro nemocné s low grade lymfomem, kteří jsou asymptomatičtí a pro nemocné, u kterých byla předchozí léčbou navozena alespoň parciální remise. Pokud jsou však přítomny příznaky (lokální či systémové), musí být započato buď monoterapií (alkylační-chlorambucil), či kombinovanou neantracyklinovou chemoterapií (COP-Cyclofosfamid, Oncovin, Prednison à 3 týdny 6-8 cyklů). V pokročilejších stadiích s velkou tumorózní masou nebo histologicky prokázanou větší příměsí buněk mladších vývojových forem je indikováno podání režimu chemoterapie obsahujícího antracykliny (CHOP či CHOP-like). Nelze opomenout ani studie, které prokázaly výborný terapeutický efekt 2-chlorodeoxyadenosinu (Leustatin). Pacienti, kteří jsou léčeni agresivnější chemoterapií dosáhnou remise sice dříve, tato remise však není dlouhodobá a neprodlužuje se ani celková doba přežití. Jestliže je možno diagnózu stanovit bez resekce plicní tkáně, léčbou volby je chemoterapie, ačkoliv nebyly provedeny srovnávací studie mezi léčbou chirurgickou a cytostatickou. Pokud byla diagnóza stanovena až po resekci, podává se následně ještě adjuvantní chemoterapie.

S imunoterapií nejsou v klinické praxi příliš velké zkušenosti. Probíhají experimentální studie s využitím MabThery (rituximab, anti-CD 20) převážně v kombinaci s chemoterapií, jako udržovací léčba se často používá interferon alfa. Je prokázáno, že antitumorozní efekt interferonu alfa je vhodné využít jako udržovací terapie po chemoterapii CHOP u klinicky a histologicky agresivních nízce maligních lymfomů v pokročilém stadiu III a IV a že se prodlužuje trvání remise a celkového přežití bez snížení kvality života (vzhledem k pozorovaným nevážným vedlejším účinkům interferonu) (14, 15, 16). Jsou však k dispozici i studie, které neprokazují benefit interferonu alfa po aplikaci chemoterapie u nízce maligních lymfomů v pokročilých stadiích po indukční intenzivní chemoterapii - Pro-MACE-MOPP (prednisone, methotrexate, doxorubicin, cyclophosphamide, etoposide / mechorethamine, vincristine, procarbazine, prednisone) (17).

Závěr

MALT lymfom v plicní lokalizaci představuje pro lékaře velmi obtížně diagnostikovatelnou jednotku, která je však spojena s poměrně dobrou prognózou pro nemocného.

V našem případě se jednalo o ojedinělý případ tohoto typu Ne-Hodgkinova lymfomu, a to jak svou lokalizací, tak rozsahem nálezu. Diagnóza byla stanovena na základě typických morfologických a imunologických znaků pro MALT lymfom. Onemocnění bylo charakterizováno velmi dobrou chemosenzitivitou, která umožnila dosažení kompletní remise onemocnění při použití běžného schématu chemoterapie.

Literatura

1. Travis W.D., Colby T.V.et al.: World Health Organization, International histological classification of tumors, histological typing of lung and pleural tumours. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 3th ed., 1999: pp. 26
2. Katzenstein and Askin: Surgical pathology of non-neoplastic disease lung disease, 3th ed., W.B. Saunders company a division of Harcourt Brace Company, 1997: pp. 223-246
3. Nicholson A. G. in Brayn Corrin: Lymphoproliferative lung disease-Pathology of lung tumors, 1st ed., Churchill Livingstone, 1997: pp. 213-224
4. Colby T.V. in David H. Dail, Samuel P. Hammar: Lymphoproliferative diseases-Pulmonary pathology, 2nd ed., Springer Verlag, 1993: pp. 1097-1122
5. Thieblemont C.: Mucosa-associated lymfoid tissue lymphoma is a disseminated disease in one third of 158 patients analyzed, Blood, February 2000, 95(3): pp. 802-806
6. Fishman A.P.: Pulmonary Disease and Disorders, Lymphoproliferative and hematologic diseases involving the lung, 3rd ed., Mc Graw-Hill Company 2, 1998: pp. 1861-1879
7. Isaacson P.G.: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma, Seminars in Hematology, 36, 1999: pp. 139-147
8. Habermann T.M. et al.: Primary pulmonary lymphoma, Seminars in Oncology, 26, 1999: pp. 307-315
9. Mendenhall N.P., Lynch W. J.: The low - grade lymphomas, Seminars in Radiation Oncology, 5, 1995: pp. 254-266
10. Bahler W.D., Swerdlow S.H.: Clonal salivary gland infiltrates associated with myoepithelial sialadenitis (Sj gren s syndrome) begin as nonmalignant antigen-selected expansions, Blood, 91, 1998: pp. 1864-1872
11. Hudeček J.: Léčba lymfomů MALTu trávicího traktu, Vnitřní lékařství, 43, 1997: pp. 302-306
12. Banks P.M. et al.: MALT lymphomas in 1997, Am J Clin Pathol, 111 (Suppl.1), 1999: pp. 75-83
13. Knisely L.B. et al.: Pulmonary mucosa - associated lymphoid tissue lymphoma:CT and pathologic findings, AJR, 172, 1999:pp.1321-1326
14. Aviles A. et al.:Ibterferon alpha 2b as maintenance therapy in low grade malignant lymphoma improves duration of remission and survival, Leuk Lymphoma, 5-6, 1996: pp. 495-9
15. Zinzani P.L. et al.: Nongastrointestinal low-grade mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma,J Clin Oncol,1254, 1999
16. Haase-Statz S. et al.: Role of interferon-alfa inNHL: still controversial?, Oncology, 8, 1999: pp.1147-59
17. Fisher R.I. et al.:Interferon alpha consolidation after intensive chemotherapy does not prolong the progression-free survival of patients with low-grade non-Hodgkins lymphoma, J Clin Oncol, 10, 2000, pp: 2010-6

ZPRÁVA Z 39. KONGRESU AMERICKÉ SPOLEČNOSTI KLINICKÉ ONKOLOGIE

REPORT OF THE 39th CONGRESS OF THE AMERICAN SSOCIETY FOR CLINICAL ONCOLOGY

KOCÁK I., PETRÁKOVÁ K., MACKOVÁ D.
MOÚ Brno

Na letošním 39. kongresu Americké společnosti klinické onkologie, který se konal od 18. – 21. května v Orlandu, byla publikována řada přehledných sdělení či sdělení s úzkou tematikou prakticky ze všech oblastí onkologie.

V oblasti urologických malignit publikovala Německá kooperativní skupina pro léčbu adenokarcinomu ledviny vedená J. Atzpodienem výsledky paliativní léčby pokročilého renálního karcinomu. Tyto závěry jsou pro nás významné, protože i řada našich pracovišť používá obdobná schémata v ambulantní terapii generalizovaného renálního karcinomu. Celkem 341 pacientů bylo randomisováno do tří ramen:

A. interferon alfa, interleukin 2, 5-FU
B. interferon alfa, interleukin 2, 5-FU, 13-cis retinová kyselina
C. interferon alfa a vinblastin

Dosažené celkové odpovědi v jednotlivých ramenech byly 31%, 26% a 20%. V rameni B, nikoliv v rameni A bylo prokázáno statisticky významné prodloužení času do progrese ve srovnání s ramenem C ($p<0,0248$). Při srovnání mediánů celkového přežití bylo dosaženo v rameni A (25 měsíců, $p<0,0440$) i B (27 měsíců, $p<0,0227$) signifikantně lepších výsledků než u skupiny pacientů C (16 měsíců), léčených interferonem a vinblastinem.

Často diskutovanou otázkou je význam withdrawal fenoménu (WF)u karcinomu prostaty. Dosud získaná data byla z jednotlivě probíhajících lokálních studií. Letos na ASCO byly zveřejněny údaje z multiinstitucionálního SWOG 9426 trialu. Celkem bylo hodnoceno 259 patientů z období od 3/1995 do 6/2001. U pacientů s karcinomem prostaty byla v době zařazení do studie stanovena progrese onemocnění pomocí PSA kritéria, kdy minimální hodnota PSA musela být 4, nebo progrese pomocí radiologických kritérií. Všichni pacienti měli nasazenu kombinovanou androgenní blokádu (antiandrogen plus orchiectomie nebo LHRH analog). 46% procent pacientů přijímalo flutamid, 48% pacientů bicalutamid, 6% nilutamid. 70% zařazených pacientů bylo klinické stádium D2 v době diagnózy. 218 pacientů bylo hodnoceno pro odpověď. Podobně jako v lokálních studiích celkem asi 15% pacientů odpovědělo po vysazení androgenní blokády při progresi onemocnění PSA kritériem (snížení o 50% a více od výchozí hodnoty). Nebyla zaznamenána žádná radiologická odpověď. Medián přežití při WF byl 20 měsíců. Tato data demonstrují relativně malý vliv WF na dobu přežití, ale doba do progrese onemocnění byla relativně prodloužena na dobu jednoho roku u 23% pacientů.

Stran terapie karcinomu močového měchýře bylo publikováno několik zajímavých studií. Německá skupina prezentovala studii fáze II s gemcitabinem (Gem) a paclitaxelem(Pac) s udržovací léčbou nebo bez ní u pacientů refrakterních na cisplatinu. Celkem bylo ve studii randomisováno 30 pacientů, s lokální progresí nebo s metastazujícím onemocněním, do dvou skupin: třítýdenně podávaný Gem/Pac a dvoutýdenně podávaný Gem/Pac. Celková odpověď byla 44%, CR byly zaznamenány u 8 pac., PR bylo u 4 pac. Medián doby do progrese byl 5,1 měsíců, medián přežití 7,9 měsíců. U schematu A bylo zaznamenáno významně vyšší počet CR než u schematu B (7 vs. 1). Terapie u všech pacientů probíhala ambulantně. Závěrem lze konstatovat, že kombinace Gem/Pac je účinným režimem u pacientů refrakterních na cisplatinu. Schema A poskytlo vyšší počet objektivních odpovědí. Dále se prokázalo, že tzv. udržovací léčba pomocí dvoutýdenní režimu je možná. Zda dokáže prodloužit přežití je otázka pro budoucí trialy fáze III.

U superficiálního karcinomu močového měchýře byla publikována studie fáze I s aplikací gemcitabinu u BCG refrakterního onemocnění. U pacientů nebylo možno provést cystectomii. Gemcitabin byl podáván intravesikálně dvakrát týdně po dobu jedné hodiny po 3 týdny. Po týdenní pauze byla aplikována druhá série a zhodnocení.

Léčbu dokončilo celkem 18 pacientů. Gem se projevil jako značně účinný lék u takto předléčených pacientů. Sedm pacientů dosáhlo CR (negativní cytologie a kontrolní biopsie po léčbě). 4 pacienti měli smíšenou odpověď (negativní biopsie močového měchýře s pozitivní cytologií). Léčba byla dobře tolerována, minimální iritace močového měchýře. Při dávce 2 000 mg byla pozorována myelosuprese 3. stupně. Pro studii II. fáze byla doporučena dávka 2 000 mg/100 ml roztoku.

Zavedení nových cytostatik v léčbě kolorektálního karcinomu přineslo této problematice nový rozměr. V edukační lekci podal By lan Chau a Eric Van Cutsem hezký přehled současného přístupu v léčbě kolorektálního karcinomu. Nejpoužívanějšími režimy v adjuvantním podání jsou týdenní bolusový režim FU/FA Roswell Park a 5-ti denní bolusový režim Mayo Clinic. Přínos adjuvantní chemoterapie u starších pacientů (starších 65 let) nebyl zcela jasný. Poslední metaanalýza 3351 pacientů prokázala stejný benefit adjuvantní léčby jako u mladších pacientů s obdobnou toxicitou. Věk by tedy neměl být jediným kritériem pro vynechání adjuvantní chemoterapie.

Irrinotecan zlepšuje celkové přežívání pacientů s kolorektálním karcinomem v první i druhé linii léčby pokročilého onemocnění. S ohledem na dobrý efekt u pokročilého onemocnění probíhají nyní dvě zásadní studie, které testují jeho přínos v adjuvantním podání - CALGB C89803 (irrinotecan / týdenní bolusové podání FU/FA) a PETACC 3 Irrinotecan / kontinuální FU/FA v dvoutýdenních intervalech). Kombinaci bolusového podání FU/FA preferují USA, na rozdíl od Evropy, která preferuje kontinuální podání. Ve studii CALGB C89803 byl zaznamenán vyšší počet úmrtí spojených s léčbou během prvních 60 dní, který byl až 3 násobně vyšší než počet úmrtí ve srovnávajícím rameni. Překvapivě nebyla pozorována vyšší úmrtnost kombinace irrinotecan/FU/FA ve studii PETACC 3.

Na základě těchto skutečností prezentoval L. Miller z Memorial Sloan-Kettering přehled všech randomizovaných studií 1. línie léčby pro metastazující kolorektální karcinom (MKK). Celkem 9 randomizovaných studií sledovalo efekt a toxicitu režimu FU/FA nebo FU/FA/irrinotecan bolusově nebo v kontinuálním podání. Režimy s irrinotecanem měly výrazně vyšší léčebnou odpověď (RR) a nižší úmrtnost během prvních 60 dní léčby. Nebyl pozorován signifikantní rozdíl v úmrtnosti mezi bolusovými a kontinuálními režimy. Úmrtnost z různých příčin během prvních 60 dní léčby chemoterapií se jeví být užitečným faktorem ve sledování mortality nových chemoterapeutických režimů.

M. Goldberg prezentoval předběžné výsledky toxicity randomizované studie u MKK, která srovnává tři léčebné ramena: rameno A: Saltzův režim (FU/FA bolus v týdenním podání + irrinotecan) vs rameno B: FOLFOX (FU/FA kontinuálně v dvoutýdenních intervalech + oxaliplatina) vs rameno C: Wassermanův režim(oxaliplatina + irrinotecan). Nejvíce úmrtí z různých příčin během prvních 60 dní bylo v rameni A (15 úmrtí proti 5 úmrtím v dalších dvou ramenech). Co se týká ostatní toxicity (GIT toxicity a hematologické toxicity) nejpříznivější profil byl v rameni C.

Podobně studie III. fáze srovnávající dvě léčebná ramena: rameno A: Mayo režim (242 pacientů) vs rameno B: FUFOX (vyšší dávky FU/FA v kontinuálním podání + oxaliplatina- 238 pacientů). Výrazně vyšší RR (48% vs 22%) a vyšší medián přežívání (38% vs 24%) a nižší hematologická toxicita (neutropenie G3/4 6,7% vs 23%) byla pozorována v rameni B. Navíc v rameni B nebylo zaznamenáno ani jedno úmrtí během prvních 60 dní léčby ve srovnání s 6 úmrtími v rameni A. Nehematologická toxicita byla podobná v obou ramenech.
V poslední době se často diskutují výhody týdenních režimu podávání irrinotecanu ve srovnání s třítýdenním režimem. Zajímavá byla proto prezentace studie III. fáze, která srovnává oba zmíněné režimy jako chemoterapie další řady po selhání režimu FU/FA při léčbě MKK. Medián sledování byl 12,9 měsíce. V rameni s týdenním podáním bylo zařazeno 95 pacientů a v rameni s třítýdenním podáním 196 pacientů. Mezi oběma režimy nebyl rozdíl v 1 ročním přežívání, v době do progrese a ani v kvalitě života. Navíc byl třítýdenní režim spojen s signifikantně nižší výskytem průjmů G 3/4 ale mírně vyšším počtem neutropenií.
Dvě studie fáze III se zabývají léčbou lokálně pokročilého operabilního karcinomu jícnu. První studie (H.Burmeister) srovnává neoadjuvantní chemoradioterapii následovanou resekcí vs samotná resekce. V neoadjuvanci byl použit režim FU/DDP. Celkové přežívání pacientů a doba do relapsu byly identické v obou ramenech. Jediným přínosem kombinované léčby byla delší doba do relapsu u spinocelulárního karcinomu, která se ale nepromítla do celkového přežívání pacientů. Podobné výsledky dosáhla randomizovaná studie fáze III., která srovnává radiochemoterapii následovanou resekcí vs radiochemoterapii samotnou u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem jícnu. Pacienti, kteří dosáhli léčebnou odpověď po neoadjuvantní chemoterapii (3 cykly FU/DDP+ radioterapie- 20 Gy) byli randomizováni do dvou ramen: rameno A: pokračování v chemoradioterapii vs rameno B: resekce. Na základě výsledků obou studií lze říct, že chemoradioterapie je dobrou alternativou k operačnímu řešení lokálně pokročilého karcinomu jícnu. Doporučuje se primárně zvolit terapeutický postup- chemoradioterapie nebo operační řešení. Po dosažení remise po chemoreadioterapii není nutné operační řešení.

Kontraverse v adjuvantní léčbě Ca prsu
Ve své edukační přednášce uvedla M.Picart základní pravidla doporučené adjuvantní léčby.
Při rozhodování o adjuvantní léčbě se doporučuje řídit konsensem tří hlavních iniciativ ve světě.
1. Oxfordskými přehledy.
Oxfordské přehledy je iniciativa vzniklá v r.1980 a od té doby každých 5 let doplňována o nové doporučené postupy.Poslední přehledy byly publikovány v r.2000 a řídí se výstupem z 290 klinických studií.
2. NIH/National Institutes of Health/konsensem.
Poslední konsensus byl vydán také v r.2000. Je určen pro lékaře, kteří se zajímají o léčbu Ca prsu, ale nejsou experty v problematice týkajících se diagnostických a léčebných postupů a kteří nejsou schopni rozlišit, které postupy jsou založeny na ověřených důkazech a které vyžadují další zkoumání.
3. St.Gallen konsensem.
Ve švýcarském St.Gallenu se každé 2 až 3 roky scházejí experti,kteří se zabývají výzkumem, studiemi a léčbou u Ca prsu a dle posledních ověřených postupů vydávají svůj konsensus.Poslední byl předložen v r.2001.

Základní akceptovaná data u hormonoterapie:
Adjuvantní podávání Tamoxifenu redukuje relapsy onemocnění u žen jakéhokoliv stadia o 28% v případě pozitivních hormonálních receptorů. Doporučená délka adjuvantního podávání Tamoxifenu je 5 let. Prozatím probíhají studie, které chtějí ověřit, zda 10 leté podávání Tamoxifenu v adjuvanci má svůj benefit (studie ATLAS).
Je také prokázáno, že adjuvantní podávání Tamoxifenu redukuje výskyt kontralaterálního Ca prsu u hormondependentních nádorů o 28%.

Základní akceptovaná data u chemoterapie:
Dle Oxfordských přehledů 3 až 6 cyklů adjuvantní chemoterapie (CMF nebo na bázi antracyklinů) signifikantně redukuje u žen do 50 let riziko smrti na nádorové onemocnění v horizontu 15 let bez ohledu na stav axillárních uzlin a hormonální citlivost. Antracykliny redukují o 4% riziko recidivy a smrti na nádor v porovnání s CMF chemoterapií. Významnější úlohu hrají antracykliny u pacientek s N+.

Prognostické a prediktivní faktory:
V současné době nabývají na významu prognostické a prediktivní faktory. Dle těchto údajů lze pacientce „ušít na míru" i terapii.
NIH konsensus 2000 udává prognostické a prediktivní faktory již akceptované

A. týkající se pacientky	– věk
	– rasa
B. týkající se onemocnění	– velikost tumoru
	– histologický typ tumoru
	– axillární nodální status
	– patologický grade
C. biomarkery	– stav hormonálních receptorů
	– mitotický index

a prognostické a prediktivní faktory nové

B. týkající se onemocnění	– histologicky prokázaná vaskulární invaze
	– kvantitativní parametry angioinvaze
C. biomarkery	– HER 2 neu
	– P53

St.Gallen konsensus rozděluje rizikové kategorie Ca prsu zcela jednoduše na
1. minimální a nízké riziko:
   hormonální pozitivita, pT menší 2 cm, grade l, pacientky starší než 35 let,N–
2. střední a vysoké riziko:
   hormonální pozitivita a minimálně jedno z následujících-pT větší než 2 cm, grade 2-3, mladší než 35 let, N+
   hormonální negativita a jakýkoliv další parametr, N+.

Adjuvantní léčba u pacientek s negativními hormonálními receptory:
Jedinou systémovou adjuvantní léčbou je pro tyto pacientky v r. 2002 chemoterapie. U pacientek s pozitivtou HER 2 neu potvrzenou FISH metodou je v běhu několik adjuvantních studií, kdy k chemoterapii je přiřazen trastuzumab. Jeho adjuvantní podání je přísně podmíněno zařazením do jedné ze 4 probíhajících studií.

Jaký je optimální chemoterapeutický režim?
Dle názorů ze St.Gallenu je chemoterapie CMF stále vhodná pro pacientky s nízkým rizikem. Antracyklinová chemoterapie je obecně lepší než chemoterapie CMF, zvláště u pacientek s N+ a u vysocerizikových pacientek s N-.
V USA se nejčastěji podává antracyklinová chemoterapie režimem AC (doxorubicin, cyclophosphamid). NIH konsensus se snaží zodpovědět otázku, zda je nutné do této kombinace připojit i 5-fluoro-uracil. Názory na taxany v adjuvantní léčbě jsou prozatím rezervované.

Který antracyklin je optimálnější?
Tato otázka zní doxorubicin versus epirubicin. Obě látky jsou semisintetické deriváty daunorubicinu s podobnou farmakokinetikou. Doxorubicin byl do klinické praxe zaveden v r.1970 zprvu pro metastatické onemocnění a poté i do adjuvantní léčby v Evropě i v USA.
Epirubicin byl zaveden v Evropě v r.1980 a v USA až v r.1990. Potvrdilo se, že obě látky mají stejný léčebný účinek v ekviva-

lentních dávkách s potvrzenou menší toxicitou Epirubicinu při metastatických stadií onemocnění.

Jak dlouho podávat adjuvantní chemoterapii?
EBCTCG (Early Brest Cancer Trialists Collaborative Group) analyzovala výsledky 11 trialů, kterých se zúčastnilo 6000 žen. Byla nastolena otázka, zda je efektivní podávat adjuvantní chemoterapii déle než 6 měsíců. Všeobecně nebyla potvrzena signifikantní redukce rekurence a mortality u více než 6 měsíčního podávání adjuvantní chemoterapie.

Adjuvantní systémová léčba u pacientek s Ca prsu s pozitivními hormonálními receptory:
Celosvětová zkušenost s adjuvantním podáváním tamoxifenu byla potvrzena. EBCTCG analyzovala 55 randomizovaných studií zahrnujících 37000 žen a dokumentovala výborný účinek Tamoxifenu u žen spozitivními hormonálními receptory. Účinek Tamoxifenu je limitován u žen s negativními hormonálními receptory a u žen, kterým se podával méně než 5 let v adjuvantní terapii.
Léčebný postup u postmenopausálních pacientek:
V posledních 10 letech je jasně zřetelný rozvoj léčby s pomocí selektivních inhibitorů aromatas. Klinicky zkoušeny jsou anastrozol, letrozol a exemestan. První studie poukazovaly na léčbu těmito inhibitory aromatas, které jsou srovnatelné nebo lepší při podávání jako II.linie hormonoterapie u metastatického onemocnění v porovnání s progestiny. Druhá generace studií demonstruje účinek selektivních inhibitorů podávaných jako primární hormonoterapie u metastatického onemocnění. V porovnání s Tamoxifenem se jeví jejich léčba jako srovnatelná nebo lepší. Vzhledem k vedlejším účinkům Tamoxifenu i selektivních inhibitorů aromatas je vhodné při riziku trombembolické nemoci nabídnout ženě inhibitory aromatas a v případě rozsáhlé osteoporsy dáme přednost Tamoxifenu.
Léčebný postup u premenopausálních pacientek:
EBCTCG potvrzuje, že ovariální ablace nebo suprese (chirurgická, radiační, chemická) jako samostatná léčebná metoda redukuje roční rekurenci choroby o 25%.
NIH + St.Gallen konsensus odsouhlasili ovariální ablaci nebo supresi jako adjuvantní léčebnou modalitu u žen s hormonální pozitivitou tumoru. LHRH analoga se doporučuje podávat 2 až 5 let k další hormonoterapii.
Tamoxifen má význam i pro mladší pacietnky, pokud mají pozitivní hormonální receptory.
U premenopausálních žen s nízkým rizikem a vysokou hormonální pozitivitou můžeme v případě, že si žena nepřeje nebo nemůže mít nasazenu chemoterapii, nabídnout hormonoterapii, která v těchto případech má stejný účinek jako CMF chemoterapie.
Role ovariální ablace s nebo bez Tamoxifenu je důležitou otázkou u všech premenopausálních žen, včetně těch, které obdržely chemoterapii. Zvláště je důležitá u mladých pod 35 let, které mají špatné výsledky, když jsou léčeny pouze samotnou chemoterapií.

Které ženy nemusí být léčeny?
Otázkou zůstávají ženy nad 70 let s tumorem s prokázanými negativním hormonálními receptory. Zvláště ženy bez interkurentních chorob, často nazývané „fit" ženy. Studie prozatím neexistují, je nutné v těchto případech postupovat vždy individuálně.
Literární údaje udávají DFI 90% po 10 letech sledování u žen s T menším než 1 cm, N- a negativními hormonálními receptory bez adjuvantní terapie.
Výběr několika zajímavých abstrakt:
III fáze porovnávající TAC versus FAC v adjuvantní léčně u pacientek s N+. (Nabholtz a spol.)
U pacientek s N+ v adjuvantní léčbě se porovnává TAC (doxetaxel 75, doxorubicn 50, cyclophosphamid 500) podaný v intervalu 3 týdnů celkově 6x s chemoterapií FAC (500/50/500) po 3 týdnech celkově 6x. Do studie bylo zahrnuto přes 1400 pacientek. Tyto byly rozděleny po chirurgické intervenci na N1-3 a N4+, u SR pozitivních byl podán adjuvantně Tamoxifen v délce 5 let od zakončení chemoterapie, radioterapie byla lokoregionální. DFI byl v rameni TAC signifikatně vyšší o 8%. OS u pacientek s N1-3 byl také signifikantně vyšší v rameni s TAC. Zajímavé prozatím zůstává, že pacientky s N4+ nemají žádný rozdíl v OS při podání TAC nebo FAC.

Multicentrická tříramenná randomizovaná studie HD weekly Taxol versus standardní týdenní dávka u pacientek s MBC. M.Sikov a spol.
261 pacientek s MBC bylo léčeno 3 dávkami TAXOLU weekly (150 / 175 nebo 80 mg/m2). V remisi nebo stabilisaci onemocnění pokračovaly v léčbě 80 mg/m2. Při porovnání jednotlivých dávek se doporučuje týdenní optimální dávka Taxolu 80 mg/m2. Bylo dosaženo stejných účinků s podstatně menší toxicitou.

ZPRÁVA ZE SYMPOZIA EACR 17 V GRANADĚ - 8.–11. ČERVNA 2002

REPORT FROM THE 17th MEETING OF THE EUROPEAN ASSOCIATION OF CANCER RESEARCH, GRANADA, SPAIN, JUNE 8–1, 2002

BOUDNÝ V.
Masarykův onkoligický ústav, Brno

NOVÉ SIGNÁLNÍ MOLEKULY A NOVÉ PŘÍSTUPY K TERAPII NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Ve dnech 8. - 11. června 2002 se konalo ve španělské Granadě již XVII. sympozium mezinárodní společnosti EACR („European Association for Cancer Research"). Samotný vědecký program byl rozdělen do mnoha sekcí, z nichž nejvýznamnější se věnovaly nádorové epidemiologii, epigenetice, buněčné proliferaci a buněčnému cyklu, apoptóze, angiogenezi, mechanizmům invaze a metastázování, novým přístupům v terapii, signální transdukci a signálním dráhám, expresi genů a regulaci transkripce, opravným mechanizmům DNA, imunoterapii a monoklonálním protilátkám, genomice a proteomice, mechanizmům nádorové rezistence, farmakogenomice, prediktivním a prognostickým markerům, molekulární onkologii, klinické onkologii a nádorové imunologii.
Sobotní dopolední předprogram byl zahájen sympoziem španělských onkologických center (10:00–13:00) s názvem „Přítomnost a budoucnost výzkumu rakoviny ve Španělsku". Celkem zde hovořilo 11 čelních představitelů těchto domácích ústavů. Dále následovalo ASEICA („Asociación Espoñola de Investigación sobre el Cáncer") edukační sympozium (14:00–15:30) s názvem *„Drug resistance and molecular target technology"*, kde zazněly na toto téma celkem 3 příspěvky. V těsné návaznosti následovalo satelitní sympozium firmy Merck (16:00–18:00), které mělo 2 sekce. V první části zaměřené na bioterapii nádorových onemocnění referovali Dr. Yarden z Izraele a Dr. Baselga ze Španělska o pokrocích v signálních mechanizmech rodiny EGF receptorů a o protinádorové terapii zacílené právě proti EGFR. Druhá část byla zaměřena na nádorovou angiogenezi (Dr. Kerbel z Kanady) a na antagonisty integrinu (Dr. Mitjans ze Španělska).
Teprve v podvečer byl slavnostně zahájen vlastní kongres (18:30–19:00). Následovala „Mühlbock Memorial Lecture" (19:00–20:00) profesora Bodmera z Velké Británie na téma „Somatická evoluce nádoru kolorekta". Po zformulování Knudsonovy hypotézy, předložené před více než 30 lety, která vztahovala nádorové supresorové geny a dominantně dědičnou náchylnost k rakovině, bylo možno ukázat, že gen označovaný jako APC, mutovaný v rodinách FAP („familial adenomatous polyposis"), je klíčový první krok u 80 % všech sporadických kolorektálních karcinomů. To přináší nový pohled na porozumění základních mechanizmů tvořících základ vývoje nádorových onemocnění, ze kterých budou plynout nové přístupy k prevenci, časné detekci a vývoji lépe cílených léčebných přístupů,

ne pouze pro kolorektum, ale rovněž pro mnoho dalších onkologických onemocnění. Po skončení této přednášky následoval krátký koncert a nakonec slavnostní recepce.

Od neděle až do úterý byla struktura sympozia následující: odborný program byl každé ráno zahájen plenární přednáškou významných světových odborníků (8:30–10:00) a v těsné návaznosti pokračovala přednáška udělená za významné objevy na poli výzkumu rakoviny a to včetně mladých vědců (10:00–10:30). Po krátké přestávce následovalo paralelně „Basic Science Symposium" a „Translational Research Symposium" (11:00–13:00), která probíhala rovněž i odpoledne (17:45–19:45). Ve 13:15–14:00 byl pravidelný čas na hlavní přednášku dne („Keynote lecture"). Kromě toho v odpoledních hodinách probíhalo paralelně několik dalších akcí (např. „Proffered papers, Microarray technology workshop, ASEICE symposium, Satellite symposium"). Nebyl problém si vybrat zajímavou přednášku, ale často spíše býval problém si „nevybrat".

V sekci věnované výzkumu signálních drah Dr. Aznar Benitah z Madridu, který byl nakonec po zásluze oceněn „EACR-MSD Meeting Award", prezentoval nové výsledky v oblasti regulace STAT 3 transkripčního faktoru pomocí Rho GTP-as. Rho GTP-asy patří mezi rodinu Ras, o které je známo že je zahrnuta v kritických buněčných funkcích jako je buněčný růst, vývoj, apoptóza, buněčná cytoarchitektura a buněčná adheze. Tyto enzymy byly rovněž spojeny jak s tumorigenními tak metastatickými procesy. Autoři zkoumali modulaci aktivity transkripčního faktoru STAT 3 v onkogenních buňkách transformovaných Rho a jeho význam při transformaci. Našli novou signální dráhu, kterou Rho A indukuje tyrozinovou a serinovou fosforylaci proteinu STAT 3, přičemž obě tyto aktivace jsou nutné pro jeho úplnou transkripční aktivitu. Tyrozinová fosforylace STAT 3 pomocí Rho A je nutná pro jeho DNA vazebnou aktivitu a je využívána jak JAK-2 tak i členem rodiny Src, Lck. Serinová fosforylace STAT 3 indukovaná Rho A je využita JNK-1, avšak ne Erk-1/2 ani p38 MAPK, a je nepostradatelná pro jeho maximální transkripční aktivitu. Navíc společná exprese „wild-type" netransformovaného STAT 3 společně s Rho A významně zvyšuje onkogenní potenciál buněk. Podobně dominantně negativní mutanty STAT 3 narušily transformaci indukovanou Rho A. Vycházejíce ze zapojení obou těchto proteinů do vzniku a vývoje lidských nádorů, tak by dráha mezi nimi mohla představovat pravděpodobný směr pro vývoj nových léčiv s antineoplastickou aktivitou.

V sekci „Cell proliferation and cell loss" se Dr. Real ze španělského Santanderu věnoval na STAT 3 závislé zvýšené expresi proteinu Bcl-2, která může učinit metastatické nádorové prsní buňky rezistentní k taxolem indukované apoptóze. Zatím je však málo známo o molekulárních drahách, které aktivují příslušné geny na specifických místech metastáz. Autoři analyzovali lidskou nádorovou buněčnou linii prsu MDA-MB 435 a 2 metastatické linie odvozené z nádoru plic (435 L) a mozku (435 B). Hladiny Bcl-2, jak na úrovni proteinu tak i na úrovni mRNA, byly vyšší v metastatických liniích než v rodičovské linii, přičemž nejvyšší hladina byla detekována v linii 435 B. Naopak exprese Bcl-XL byla pouze mírně zvýšená a hladiny Mcl-1, Bad a Bax byly buď snížené anebo nezměněné. Exprese Bcl-2 korelovala s aktivací STAT 3, ale ne s hladinou nebo aktivací známých Bcl-2 transkripčních faktorů jako jsou CREB a WT1. V linii odvozené od nádoru mozku (435 B) byly indukovány jak hladina Bcl-2 tak i aktivace STAT 3 epidermálním růstovým faktorem (EGF) a byly přerušeny po působení inhibitorů tyrozinkináz specifických pro EGF receptor nebo JAK-2. Navíc transfekce buněk 435 B dominantně negativním STAT 3 významně snížila hladinu Bcl-2. Kromě toho inhibice STAT 3 aktivace působením EGF receptoru a inhibitorů JAK-2 kináz nebo transfekce dominantně negativním STAT 3 senzibilizuje buňky 435 B k taxolem indukované apoptóze. Zvýšená aktivace STAT 3/Bcl-2 dráhy v metastatických prsních nádorových liniích může zajistit výhodu v přežívání těchto buněk a přispět k jejich chemorezistenci nebo metastatickému fenotypu.

V sekci věnované novým terapeutickým přístupům v léčbě nádorových onemocnění vynikla přednáška Dr. Armanda z Francie, který referoval o nových protinádorových léčivech pocházejících z moře. Jako výsledek intenzivního výzkumu a preklinické vývojové strategie byl realizován klinický program zahrnující 3 produkty získané z moře. Od května 1996 do března 2001 vstoupilo do klinických zkoušek ve fázi I a II celkem 1148 pacientů s nádorovým onemocněním, kteří byly léčeni Ecteinascidinem-743 (ET-743), Aplidinem (APL) nebo Kahalalidem F (KF). ET-743, alkaloid izolovaný z *„tunicate E. turbinata"*, je nové agens interagující s DNA, které je rovněž modelem nové třídy látek, jež interagují s nukleárními proteiny. Fáze I prokázala, že ET-743 vykazuje dlouhodobou odpověď u pacientů s pokročilými sarkomy prsu, nádory vaječníku a melanomy. Předběžné výsledky na pokročilých prsních nádorech prokázaly aktivitu u pacientů rezistentních na antracykliny a taxany. APL je nový peptid izolovaný ze středozemního *„tunicate A. albicans"*. Jeho protinádorová aktivita koreluje s inhibicí syntézy proteinů a s interakcí s VEGF dráhou. APL je první přírodní protinádorová látka s antiangiogenními účinky. Klinické zkoušky ve fázi I prokázaly jeho aktivitu u pacientů s pokročilým nádorem kolorekta a ledvin. KF je nový cyklický peptid izolovaný z *„molluse E. rubefescens"*. Zdá se, že lyzozómy jsou buněčným cílem tohoto léčiva. Nejnovější výsledky prokázaly interakci s dráhou HER-2/neu.

V sekci „Imunoterapie a monoklonální protilátky" hovořil Dr. Groner z Frankfurtu na téma „Bifunkční rekombinantní proteiny v terapii onkologických onemocnění". Informace o deregulované expresi receptorů růstových faktorů na povrchu nádorových buněk vedly k zavedení nových tříd léčiv. Monoklonální protilátky specifické pro extracelulární doménu (např. EGF nebo erbB-2 receptorů) interferují se signální transdukcí a růstem nádorových buněk *in vitro* a *in vivo*. Inhibiční potenciál takovýchto protilátek může být zvýšen jejich spojením s bakteriálními toxiny. Biotechnologické metody umožnily získat bifunkční fúzní proteiny, ve kterých je specificita rozpoznávací domény protilátky kombinována se schopností bakteriálních toxinů inhibovat buněčnou syntézu bílkovin. Takové proteiny mohou být exprimovány v baktériích ve velkých množstvích a rovněž bylo prokázáno, že zabíjejí lidské nádorové buňky prsu a vaječníku. Pro specifickou interferenci s regulací protein-proteinových interakcí byly zavedeny peptidové aptamery, což jsou bílkoviny, do kterých byla vložena peptidová doména s afinitou pro určitý protein. Purifikované bílkoviny mohou být dopraveny s vysokou účinností do buněk a inhibovat signální dráhy. V poslední době byly nalezeny peptidové aptamery specifické pro STAT 3 a EGF receptor, které jsou schopny zastavit růst nádorových buněk.

Velice zajímavá byla „Mike Price lecture" profesora Mendelsohna z texaského Houstonu, který podal přehled o budoucnosti vývoje protinádorových léčiv. EGF receptory jsou exprimovány ve zvýšených hladinách asi u 1/3 epitheliálních nádorů a autokrinní aktivace EGFR se zdá být kritická pro růst mnoha nádorů. Autoři hypotetizují, že blokáda vazebných míst pro EGF a TGF-alfa na EGF receptoru pomocí antireceptorové monoklonální protilátky (mAb) by mohla být efektivní protinádorová terapie. Myší mAb 225 blokovala funkci EGFR a inhibovala buněčný růst v kultuře i v myších xenograftech. C 225 je lidská- myší chimérická verze mAb 225.

Z výsledků výzkumu naší laboratoře bylo na sympoziu prezentováno sdělení:

Boudný V., Chumchalová J., Fait V., Kovařík J.: DEFECTS IN STAT 1-MEDIATED INTERFERON SIGNALLING IN CANCER CELLS. Rev. Oncol., 4, suppl. 1, p. 61-62, 2002.

Příští sympozium pod označením EACR 18 (18th Meeting of the European Association for Cancer Research) se bude konat ve dnech 3. – 6. července 2004 v Innsbrucku, v nádherném okolí Tyrolských Alp.

VYDÁVÁNÍ OBČASNÍKU JAKO JEDNA Z FOREM KOMUNIKACE S PACIENTEM

ŠACHLOVÁ M., KOSOVÁ M.
Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

Nemocný člověk se zabývá mnoha otázkami, které se většinou týkají jeho nemoci, způsobu léčby, budoucnosti. Jak žít během nemoci? Jak překonávat různé formy strachu? Jaký zvolit životní styl, stravování? Pacient hledá pro tato i jiná témata partnera k dialogu. Z psychologie je známé, že problém začínáme často zvládat, když o něm dokážeme komunikovat. V opačném případě může nastat v nemocném ztráta integrity. Důležitost komunikace mezi pacientem a ošetřujícím personálem je všeobecně známá.
„I v českých podmínkách platí, že otevřeně a zároveň citlivě podaná informace o diagnóze a prognóze vede k lepšímu vyrovnání s nemocí ze strany pacienta i jeho rodiny, k posílení jeho autonomie a důvěry v lékaře a povzbuzení realistických očekávání a plánů." (Panelová diskuse, Onkologická péče 3/2001, s.21-22)
Na aspekt vývoje vztahu mezi lékařem a pacientem upozorňuje Dr. Slabá. „ Vztah mezi lékařem a pacientem se neustále vyvíjí. S nemocným je třeba otevřeně hovořit, poznat i jeho subjektivní vztah onemocnění, což pomůže v léčbě a pacientovi přinese úlevu."
Kocábová upozorňuje, že při terapeutickém setkání spolu komunikují dvě bytosti, z nichž každá má v něčem náskok před druhou: terapeut je v předstihu svou odbornou erudicí, pacient svou specifickou zkušeností.
Je důležité při každé komunikaci pamatovat na to, abychom pacienta nepřivedli k pocitu zahanbení. Významnou charakteristikou zdravé komunikace je zprostředkování zájmu o druhého. Náš zájem je patrný tehdy, když pozorně naslouchám, jsme trpěliví, máme přátelský hlas, angažujeme se v rozhovoru. Přítomnost humoru pomáhá fixovat komunikované obsahy lépe, než převládá-li pouze vážnost a informace jsou podávány suše, věcně. Čím více způsobů komunikace můžeme pacientům nabídnout, tím lépe. Jedna z možných komunikačních forem, která se osvědčila v Masarykově onkologickém ústavu (MOÚ) je vydávání občasníku pro pacienty. Smysl této komunikace spočívá v tom, že pacient má možnost porozumět nejen své nemoci, terapii, ale dostává i nabídku, jak se vyrovnat s doprovodnými obtížemi. Pacient získává prostřednictvím občasníku povzbuzení i důležité odreagování humorem. Informace nás tvarují, rozšiřují naše poznatky, které mají často nemalý vliv na změnu našich emocí. Možnost komunikovat o těžkostech snižuje pocit opuštěnosti, stesk, úzkost. Komunikací „ občasníkem" lze budovat pocit sounáležitosti na dálku.
Cíle občasníku:

- nabízí pacientům informace z medicínské, psychologické, sociální oblasti, které jsou podány srozumitelným způsobem
- podněcuje v pacientech jejich vlastní reflexe k tématům, rozšiřuje možnosti, jak o problému , nemoci přemýšlet
- pacient není osloven osobně, může snadněji odmítnout než v přímém kontaktu, čím se sám nechce zabývat
- podporuje aktivitu pacientů tím, že v občasníku vycházejí jejich příspěvky
- hospitalizovaní pacienti se mohou ve výtvarné dílně podílet na přípravě výtisků k distribuci

Časopis, který dostal název ONKO OKNO, vychází pravidelně každé dva měsíce od června 1995. Nejprve byl vydáván ve spolupráci s občanským sdružením Podpora zdraví a onkologická prevence, pak Světlo pro život, nyní vychází pod patronátem Ligy proti rakovině v Brně. Nejprve jsme vydávali 500 výtisků, nyní již poslední roky 1500 výtisků. Časopis je zdarma a je volně dostupný v čekárnách, v Informačním centru MOÚ a na lůžkových odděleních. Časopis lze i objednat za poplatek poštovného. Této možnosti využívá asi 100 našich pacientů. Posíláme je i na několik pracovišť v České republice i na Slovensku. Pacienti mají o časopis zájem, navzájem si čísla půjčují, xeroxují si některé články apod.
Dosud vyšlo 42 čísel časopisu. Autoři jednotlivých článků jsou lékaři a sestry MOÚ, psychologové, pacienti, pracovníci zájmových sdružení a klubů. Během let se podílela na jednotlivých číslech řada spolupracovníků. Dostáváme řadu pozitivních ohlasů od našich čtenářů, pro některé z nich se časopis stal nezbytným společníkem a průvodcem. Mnohá čísla jsou přístupná na internetových stránkách MOU, připravujeme kvalitnější a dostupnější elektronickou podobu časopisu.
Každé číslo obsahuje část odbornou, kde nabízíme informace o vyšetřovacích metodách, nežádoucích účincích léčby, diety, slovníčky pojmů. Zveřejňujeme články z oblasti preventivní medicíny. Dále každé číslo obsahuje slova psychologa, někdy sociální pracovnice nebo sester. Nedílnou součást tvoří zajímavosti, aby byl časopis čtivý. Otiskujeme vlastní tvorbu našich pacientů-básně, články, autobiografické povídky, výtvarné pokusy. Uveřejňujeme informace z výtvarné dílny, výtvarné galerie MOÚ , rekondičních pobytů atd.

Pro lepší přehled vybíráme alespoň některé články:
Odborné se vztahem k základnímu onemocnění
Leukopenie
Je rakovina dědičná?
Sexuální problémy u mužů
Potřebujete kosmetickou náhradu?
Kožní a slizniční reakce u ozařovaných nemocných
Indikace lázeňské léčby u onkologických pacientů
Stomik v manželství

Slovo lékárníka
Jak uchovat léky
Pomůcky pro terapii lymfedému

Dieta
Výživa pacientů s nádorovým onemocněním
Alternativní diety a jejich nevhodnost

Prevence
Strava v prevenci nádorových onemocnění
Epidemie kouření v ČR, anketa o kouření mezi zaměstnanci MOÚ
Léto je za dveřmi (prevence nádorů kůže)

Psychosociální oblast
Co byste měli vědět o hospicové péči
Sociální dávky

Zajímavosti
Právní minimum
Kalanetika- cvičení pro pacienty
Rekvalifikační kurz

Prostřednictvím občasníku můžeme dosáhnout nejen změny u pacientů, ale i autoři článků se více zamýšlejí nad způsobem předávání svých myšlenek, nad tím, co pacienti potřebují, jak je oslovit. Lze říci, že se i touto formou komunikace mění i sami autoři.
Rádi uveřejníme i články autorů z jiných pracovišť. Vítáme Vaše názory, postřehy, zkušenosti. Odmítáme jen propagovat „ zaručeně nejlepší chemoterapii", léčitelské praktiky nebo alternativní léčbu. O alternativní léčbě v časopise informujeme, ale varujeme před jejím používáním a upozorňujeme na rizika nestandardních postupů. Cílem časopisu je poskytnout informace a dodat odvahu, proto např. nepopisujeme terminální stav a jeho průvodné jevy. Články psané rukou nebo strojem, ale nejlépe na disketě nebo e-mailem můžete poslat na adresu: dr Šachlová, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, Brno 656 53 nebo e-mail: sachlova@mou.cz.

POKYNY PRO AUTORY ČASOPISU „KLINICKÁ ONKOLOGIE“

„Klinická Onkologie“ (The Journal of the Czech and Slovak Oncological Societies) je časopis vycházející šestkrát ročně, zaměřený na všechny aspekty onkologie. Časopis je vydáván Českou lékařskou společností J.E.Purkyně. Časopis je indexován v Excerpta Medica a je dostupný na síti jako součást html stránek České a Slovenské onkologické společnosti (http://www.linkos.cz/COS_casopis.html). Pokyny pro autory jsou založeny na doporučeních pro autory biologických a medicínských časopisů a na ČSN ISO 690 z roku 1996. články k publikaci jsou vybírány na zasedáních redakční rady, která se schází jednou měsíčně.

Pokyny jsou v souladu s požadavky na úpravu rukopisů určených k publikaci v lékařských a biologických časopisech a s ČSN ISO 690 z r.1996. Každý rukopis je hodnocen redakcí a prochází *recenzním řízením*. Pro přijetí manuskriptu k publikaci redakční pravidla vyžaduje pozitivní hodnocení dvou hodnotících expertů v dané problematice. V případě jednoho pozitivního a negativního hodnocení může být pro přijetí článku rozhodující hodnocení třetího experta nebo přímé rozhodnutí redakční rady. Nepřijaté práce jsou vráceny autorům.

Časopis „Klinická Onkologie“ přijímá k publikaci originální práce zabývající se klinickou, laboratorní a experimentální onkologií a hematoonkologií. K publikaci doporučujeme také články přehledné, kasuistiky, zprávy z kongresů , recenze knih a korespondenci. Všechny články by měly být původní a obsahovat jinde nepublikované skutečnosti. Podmíněně lze publikovat poznatky, které jsou v tisku v jiném časopise nebo byly publikovány v nerecenzované formě (například abstrakta) články k publikaci jsou vybírány výkonnou redakční radou jednou měsíčně. Výkonná redakční rada k publikování vyžaduje dva nezávislé positivní posudky. Jsou-li posud kontroverzní (jeden pozitivní a druhý negativní) je vyžádán další nezávislý posudek před přijmutím nebo odmítnutím příspěvku. Nepřijaté příspěvky jsou vraceny autorům.

Všechny přijaté příspěvky musí být doplněny o prohlášení, podepsané hlavním autorem o původnosti práce. Publikování práce předpokládá, že s publikováním souhlasí všichni vyjmenovaní autoři a že v případě přijetí nebude v podobné formě bez vědomí vydavatelů publikována v jakémkoliv jazyce.

Ke každé přijaté práci musí být připojen formulář převodu autorských práv. Od autorů očekáváme písemné prohlášení obsahující jakékoliv komerční nebo finanční zájmy, patentová opatření nebo jiné skutečnosti, které by mohly být ve vztahu k předloženému článku považovány za konflikt zájmů. V takovýchto případech doporučujeme připojení prohlášení, uvádějícího tyto skutečnosti k publikovanému textu. Všechny experimentální práce musí splňovat základní etická doporučení. V části „Pacienti a metody“ musí být zmíněn informovaný souhlas a schválení etickou komisí.

Přijímány jsou články v češtině, slovenštině a v angličtině. U všech článků v češtině a slovenštině musí být připojena anglická verze názvu, souhrnu a klíčových slov. Doporučujeme, aby přehledné články byly psány v češtině/slovenštině a původní práce zásadnějšího významu aby byly v angličtině. Redakce je schopna zajistit překlad názvu a souhrnu do češtiny pro zahraniční autory.

Vyžadujeme rukopis ve dvou tištěných verzích včetně tabulek, grafů, fotografií a obrázků, současně s verzí na disketě (event. CD) s článkem ve formátu MS Word (text a tabulky). Prosíme nepoužívat Excel pro tvorbu tabulek. Tištěnou verzi prosíme ve dvojitém řádkování na jedné straně listů A4 (8“x11“). Jakékoliv zvláštnosti prosíme zdůraznit v průvodním dopise. Grafy, obrázky a fotografie musí mít profesionální úroveň. Mohou být publikovány i barevné fotografie. Každá ilustrace musí být označena na zadní straně jménem prvního autora a začátkem názvu práce. Obrázky prosíme zasílat v originále nebo jako samostatné soubory s rozlišením minimálně 200x400pixel (nejlépe ve formátu TIFF nebo EPS). Všechny typy ilustrací (grafy, obrázky, fotografe) musí být číslovány samostatně vzestupně arabskými číslicemi. Každá ilustrace by měla mít název a detailnější popis, nejlépe formou seznamu na samostatném listu nazvaném: „ Názvy a popisy ilustrací“. Standardní zkratky by měly být užívány co nejméně a nemusí být blíže vysvětlovány, nestandardní zkratky musí být vysvětleny při prvním použití v textu. Zkratky nelze používat v souhrnu.

Literatura: citovány by měly být pouze práce v bezprostřední souvislosti s publikovanou prací.Citace by měly respektovat Vancouverský formát a zkratky periodik odpovídat poslednímu vydání Index Medicus. V textu by se měly objevit jako čísla začínající číslem 1. Na konci práce by měly být seřazeny (s dvojitým řádkováním) v číselném pořadí odpovídajícím pořadí citace v textu. V citaci musí být uvedeni všichni autoři při počtu do čtyřech, při větším počtu autorů jsou uváděni první 3, následováni zkratkou et al. U citací musí být označeny stránky. Práce v tisku a/nebo odeslané k publikaci mohou být zahrnuty do seznamu citací.

Materiály (většinou schémata, obrázky, grafy aj.) převzaté z jiných pramenů a publikací) mohou být publikovány jen s písemným souhlasem osoby/nakladatelství, které mají autorské/ nakladatelské právo. Písemné potvrzení o svolení přiložte k rukopisu.

Autoři před konečným tiskem obdrží obtahy stránek s korekturu tiskových chyb podle ČSN 88 0410. Nejsou již povoleny zásadní změny obsahu. Korektura musí být vrácena redakci do 5 dnů od obdržení. Pokud není korektura do stanmovené doby vrácena, vydavatel má právo jej vydat v původní podobě beze změn. Hlavní autoro má právo na pět autorských výtisků, další výtisky je možno objednat.

Je-li rukopis přijat k tisku, stává se výhradním majetkem časopisu,každý rukopis musí být opatřen formulářem předání autorských práv. Případné opravy budou zveřejněny v nejbližším následujícím čísle. Nesouhlasné názory k jednotlivým článkům budou publikovány v nejbližším čísle a je nutno je adresovat redakci časopisu.

Úpravy jednotlivých typů článků

Přehled
- krátký výstižný název práce/přeložený do angličtiny
- příjmení, zkratka jména autora/ů
- úřední název pracoviště autora/ů s telefonem a e-mailovou adresou
- 2x souhrn v češtině a v angličtině, rozsah souhrnu maximálně 200 slov:
- ***bez vnitřního členění, stručně vystihující hlavní myšlenky sdělení. Nebude možno akceptovat pouze formální souhrny typu: „Autoři podávají přehled o ...“***
- klíčová slova, v češtině/slovenštině a v angličtině
- vlastní text
- literatura.

Původní práce
- krátký výstižný název práce/přeložený do angličtiny
- příjmení, zkratka jména autora/ů,
- úřední název pracoviště autora/ů
- 2x souhrn v češtině/slovenštině a angličtině o maximálním rozsahu 200 slov v této struktuře:
- ***Východiska / Backgrounds***
- ***Typ studie a soubor / Design and Subjects***
- ***Metody a výsledky / Methods and Results***
- ***Závěry / Conclusions***
- klíčová slova, v češtině/slovenštině a v angličtině

Vlastní text:
- *Úvod,*
- *Materiál (nebo soubor nemocných) a metody*
- *Výsledky*
- *Diskuse*
- *Závěr*
- *Poděkování spolupracovníkům, poděkování sponzorům, nebo uvedení výzkumného projektu*
- *Literatura*
- *Tabulky a grafy*

Kazuistika a dopisy redakci

Jako publikace může být zařazena kasuistika, která nebyla dříve v literatuře popsána, podobně dopisy redakci . Manuskript by neměl být rozsáhlejší než doporučeno: 5 stránek pro text kasuistiky, 3 pro dopis redakci, 100 slov pro abstrakt (není vyžadován u dopisu); nejvíce 10 citací

Sdělení

Kratší sdělení, zabývající se tématy předchozích článků nebo nastiňující nové otázky.

Zprávy ze sjezdů, ze studijních pobytů, informace, diskuse
- krátký výstižný název práce/přeložený do angličtiny (češtiny/slovenštiny)
- příjmení, zkratka jména autora/ů
- úřední název pracoviště autora/ů
- jedná-li se o sdělení větší závažnosti, je možno připojit stručný souhrn v angličtině
- vlastní text
- dle potřeby literatura

Na konci každého typu článku uvede první autor plné jméno s tituly, přesnou adresou nejlépe včetně e-mailu autora, na kterého je směřována korespondence

Rukopisy, vyhovující uvedeným požadavkům, zasílejte na adresu:
Redakce časopisu „Klinická onkologie“
Masarykův onkologický ústav
CZ-656 53 Brno
Žlutý kopec 7
Česká republika

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS OF „KLINICKÁ ONKOLOGIE“

„Klinická onkologie“ (The Journal of the Czech and Slovak Oncological Societies) is journal published six times focusing on all aspects of in oncology. The publisher of the journal is Purkyne's Czech Medical Society. The journal (ISSN 0862-495 X) is indexed in Excerpta Medica and is available online as a part of the html pages of the Czech and Slovak Oncological Societies (http://www.linkos.cz/COS_casopis.html) Journal instructions are based on recommendation of instruction for authors in biological and medical journals and ČSN ISO 690 from the year 1996. Articles for publication in journal are selected with editor board one times monthly. Non-accepted manuscripts are returned to the authors.

„Klinická onkologie“ invites papers on original research in clinical, laboratory and experimental oncology and haemato-oncology. The editors also encourage the submission of review articles, case reports, reports of meetings and book reviews and correspondence. All papers should include new data that have not been published elsewhere. The editors will also consider the publication of manuscripts containing data already in press elsewhere or published previously in unreviewed format (abstracts, etc.). Articles for publication in journal are selected with editor board one times monthly. Editor Review Board policy required two positive external peer-review reports before decision of article acceptation. If judgements are generally controversial (one positive and one negative), additional one peer-review process is required before paper is accepted or rejected. Non-accepted manuscripts are returned to the authors.

All submitted manuscripts must be accompanied by a statement signed by main author that the article is original The publication of a manuscript will be considered on the understanding that all named authors have agreed to its submission and that if accepted it will not be later published in the same or similar form in any language without the consent of the publishers.
A Copyright Assignment Form must accompany every accepted paper. All authors are expected to disclose in a cover letter any commercial affiliations, stock or equity interests and patent-licensing arrangements that could be considered to pose a conflict of interest regarding the submitted article. If appropriate, general statements in the acknowledgements regarding such disclosures may be recommended by the editors. All experimental works published in journal must fulfill general ethical guidelines. Patients signed informed consent must be mentioned in part „Patients and methods“ as well as ethical committee permission.

Articles in Czech, Slovak and English languages are accepted for publication. All manuscripts written in Czech or Slovak language require an additional version of the corresponding Title, Abstract and Key Words in English. There is highly recommendated that review articles should be written in Czech or Slovak languages and original articles of important news should be written in English. Editors are responsible for translation of name and article summary to Czech language for English writing authors if required.

A manuscript with two copies is routinely required including tables, graphs, photos and pictures as well as a floppy disk with the manuscript prepared using MS Word (text and tables). Do not use Excel format for tables. Manuscripts should be typed double-spaced on one side of 8“ x 11“ (A4) paper. Any special points should be emphasised in the covering letter from the submitting author. Graphs, figures and photographs must be in professional level. Authors are encouraged to publish color photographs. Every illustrations must be „marked on the reverse with name of first author and starting for words of the name of article. Pictures must be send in original form or as individual file with recognition of 200x400 pixel (TIFF, EPS format is recommended). Authors are encouraged to publish color photographs. All type of illustrations should be numbered separately (graphs, figures, photos) in numerical order with Arabic numerals. Each illustrations should have a title and a detailed legend, as appropriate, listed consecutively on a separate sheet of paper titled 'Titles and legends to Figures'. Standard abbreviations should be used at minimum. Authors are not obliged to omit the definitions. Non-standard abbreviations should be defined in full at their first usage in the text, in the conventional manner. The use of abbreviations are not allowed in the summary.

References: papers only closely related to the author's work should be cited. Exhaustive lists should be avoided. References should follow the Vancouver format and abbreviations for titles of medical periodicals should conform to those used in the latest edition of Index Medicus. In the text they should appear as numbers starting at 1. At the end of the paper they should be listed (double-spaced) in numerical order corresponding to the order of citation in the text. All authors should be quoted for papers with up to four authors; for papers with more than four authors, the first three only should be quoted followed by et al. The first and last page numbers for each reference should be provided. Papers in press and/or papers submitted for publication may be included in the list of references.

Authors must obtain writing permission to reproduce all maps, diagrams, figures and photographs.

Contributors are provided with page proofs to read for typesetting errors according ČSN 88 0410. No important changes in data are allowed. Proofs must be returned to the publishers within 5 days of receipt. If proofs are not returned within this time period, the Editor will have the right to publish any article without the alterations. Five free offprints are supplied to the principal author. Additional offprints may be ordered.

If and when a manuscript is accepted for publication it will become the sole property of the Journal. A Copyright Assignment Form must accompany every accepted paper. It is required that any errata must be noted and corrected as soon as possible, optimally in the next issue. Any dissenting opinion concerning published papers will be published in the next issue and should be addressed to the Editorial Board.

TYPE OF COMMUNICATIONS PUBLISHED IN KLINICKÁ ONKOLOGIE

Review
Title page should contain the title (ALSO IN ENGLISH), authors' names (Novak J.), name of institution where work was done, telephone number (also e-mail addresse, if available) of the author to whom communications should be directed. Separate page should contain an abstract of no more than 200 words without structure and keywords in Czech or Slovak and English. Inthe end of the text of review is chapter literature.

Original articles
- Title page (same as above; excluding acknowledgements)
- Summary (no more than 200 words; 2x in Czech or Slovak and English) with structure:
- Bacgrounds; Design and Subjects; Methods and Results; Conclusions
- Keywords in Czech or Slovak and English

TEXT
- Introduction
- Materials (or Patients) and methods
- Results
- Discussion
- Conclusion
- Acknowledgements
- References
- Tables and Figures

Case Reports and Letters to Editor
The editor will consider for publication Case Reports not previously reported in the literature as well as Letters to Editor. They should not exceed five (three for Letters) printed pages in length; the Summary (facultative for Letters only) should not exceed 100 words. The number of references should not exceed ten.

Correspondence
Correspondence is encouraged. They may deal with material in published papers or they may raise new issues.

Meeting Reports, Debates round table
Title page should contain the title (ALSO IN ENGLISH), authors' names (Novak J.), name of institution of authors, telephone number (also e-mail address, if available) of the author to whom communications should be directed. Summary and literature are facultative only. A short abstract is optional part of the important reports.

In the end of the manuscript will be whole name of the first author including titles followed with exact address and e-mail address of the author to whom communications should be directed.

Manuscripts and other editorial correspondence should be sent to the office of the Editoral Board.:
The Office of the Editorial Board
„Klinická onkologie“
Masaryk Memorial Cancer Institute
Žlutý kopec .7
656 53 Brno
Czech Republic

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČOS JEP DNE 29. 5. 2002 V BRNĚ

Přítomni: prof. Klener, prof. Vorlíček, doc. Petruželka, doc. Žaloudík, prim. Fischer, dr. Jelínková, dr. Přibylová, doc. Eckschlager.
Omluveni: prof. Koutecký, prim. Šmelhaus

1. Setkání se členy výboru Slovenské onkologické společnosti - prof. Kozou, dr. Wagnerovou a dr. Cimermannem.
   Přítomní hosté informovali výbor ČOS o akcích pořádaných na Slovensku:
   Bratislavské onkologické dny: 26. - 28. 9. 2002 - téma Nádory jater, pankreatu a žlučových cest
   Košický chemoterapeutický kongres: 29. - 30. 11. 2002
   Konference o GIT nádorech: 21. - 23. 6. 2002 - Bardejov
   V tomto roce proběhnou volby do výboru Slovenské onkologické společnosti. Připravují se www stránky Slovenské onkologické společnosti, adresa bude sdělena a zveřejněna na stránkách České onkologické společnosti (www.linkos.cz)
   Kontrola zápisu.
   Korespondence vyřízena.
2. Granty na projekty z výtěžku běhu Terryho Foxe budou rozděleny prostřednictvím ČLS JEP.
3. Dopis dr. Hajdúcha - žádost o sdělení důvodu výsledku hodnocení vlastního projektu - odpověď vyřídí doc. Petruželka - výsledné hodnocení vyjádřené počtem získaných bodů bude dodáno žadateli.
4. Zpráva pokladníka. Příjmy a výdaje za rok 2002 - prim. Fischer
   - příjmy: 75 250,- Kč
   - výdaje: 11 079,20 Kč
   - zůstatek: 64 170,80 Kč
5. Žádost sekce chirurgů o zaplacení členského poplatku do mezinárodního sdružení - výbor souhlasí.
6. Členský poplatek za ČOS v UICC - zkontroluje doc. Petruželka.
7. Projednání materiálů onkologické péče v Třebíči.
   Na podkladě předložených materiálů výbor rozhodl, že NsP Třebíč spolu s nestátními zařízeními v této oblasti splňuje požadavky pro onkologické oddělení základního typu. Nutno doložit seznam odborníků v klinické onkologii - požadavek 3.
8. Korespondence
   Stanovisko k devitalizaci pro MZd vypracoval Žaloudík, Vorlíček a Klener - přečteno a výbor s jeho obsahem souhlasí - metodu devitalizace považuje za non-lege artis.
9. VR ČLK - žádost o posouzení individuálního léčebného postupu pro potřeby ČLK - vypracovali prof. Klener, doc. Petruželka, dr. Šlampa - výbor souhlasí.
10. Krajský úřad Vysočina požaduje sdělení jmen doporučených odborníků pro zdravotní komisi: jmenováni Dr. Jan Stejskal, NsP Jihlava, dr. Josef Hyll, Třebíč, dr. Rostislav Strýž, NsP Nově Město na Moravě. Společnost lékařské genetiky - vyzývá ČOS k užší spolupráci - vyřídí doc. Žaloudík.
11. Nadační fond Paula Janssena - žádost o upřesnění složení hodnotitelské komise a data jejího zasedání pro posouzení došlých prací: předseda - prof. Klener, členové: dr. Finek, doc. Vyzula, dr. Šlampa, doc. Eckschlager.
    Navržena nová kategorie - postgraduální učební texty.
12. Žádost o podporu PET centra v Brně - výbor již projednal a doporučuje.
13. Zprávy o činnosti sekcí ČOS
    – transplantační sekce - ve výběrovém řízení pro ustanovení registru kostní dřeně vybrán na základě hlasování návrh ÚHKT a I. Interní kliniky 1. LF UK a VFN
    – sekce onkochirurgická - cíle: vstup do mezinárodní federace, chystá se překlad zahraniční učebnice onkochirurgie, zvýšení publikační činnosti v českých periodicích
    – pediatrické sekce - informace o činnosti je dostupná na www.linkos.cz

Různé:

14. Dr. Košťál, Grindex: žádost o klinickou studii s Ftorafurem - postavení Ftorafuru v léčbě onkologických onemocnění je zavedeno, není třeba klinické studie.
15. Dr. Tayerlová-Sebešová - informace o zřízení nového onkologického zařízení.
    Nová klasifikace TNM a klasifikace ICDO - překlad dr. Beška, dr. Novák.
    Od 1. 6. 2002 nový seznam výkonů - bude znovu zažádáno o přidělení kodu pro aplikaci cytostatik do portu a průplach portu s použitím speciálních jehel - žádost vypracuje Přibylová.
16. Mammární screening: radiologická společnost předložila kriteria pro přístrojové vybavení, nutnost návaznosti na onkologickou péči je jedním z akreditačních kriterií. Akreditaci získalo 22 pracovišť. Výbor žádá o sdělení seznamu vybraných pracovišť k definitivnímu posouzení - vyřídí doc. Petruželka.
17. Formuláře žádosti pro použití Herceptinu - zaslat doc. Vyzulovi, ten po posouzení vrátí jako podklad pro jednání s revizním lékařem.

Noví členové nejsou.
K 29. 5. 2002 529 členů ČOS JEP.
Příští schůze výboru se koná 25. 6. 2002 v 11hodin na I. Interní klinice VFN.

Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., vědecký sekretář
Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., předseda

ZÁPIS ZE SCHŮZE VÝBORU ČOS KONANÉ DNE 25. 6. 2002

Přítomni: prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc., prof. MUDr.Jiří Vorlíček, CSc., prim. MUDr. Alena Jelínková, as. MUDr. Olga Přibylová, doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., doc. MUDr. Jan Žaloudík, CSc., prim. MUDr. Vratislav Šmelhaus, doc. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.

Omluveni: MUDr. Josef Drbal, prim. MUDr. Jan Fischer.

1. Kontrola zápisu
Členství ČOS v UICC - ČOS je plnoprávným členem , vznesen dotaz na finanční oddělení UICC ohledně placení členských příspěvků - zatím bez odpovědi.
Byla zaslána žádost o zaslání seznamu vybraných pracovišť pro mammární skríning na podkladě vybraných radiologickou společností pro posouzení bezprostřední návaznosti onkologické léčby, které je podmínkou.

2. Korespondence

a) Dopis prof. Kodeta: diagnostika HER-2/neu receptorového proteinu a genu.
   Na základě dopisu doc.Vyzuly rozeslaného vybraným pracovištím odvolávajícím se na schůzku kliniků, histopatologů a zástupců pojišťoven vyplynula nutnost sjednocení a standardizace metodiky. Definitivní rozhodnutí o algoritmu vyšetřování a akreditovaných laboratořích není možné bez schůzky zástupců všech pracovišť, které se uskuteční pod patronací výboru OS.
   Vysvětlující dopis prof.Kodetovi - prof.Klener.
b) podána informace o připravovaném registru transplantační sekce HS a OS.

3. Nové kalkulační listy pro podání aplikace chemoterapie do portu vypracovány pod vedením dr. Přibylové a budou předány pojišťovně. Další podněty k bodovému ohodnocení výkonů v klinické onkologii a jakékoliv nové návrhy a připomínky přijímá výbor OS.

4. Doporučené postupy léčby pro revizní lékaře VZP ve vztahu k farmakoterapii
nutná revize ze strany OS a sjednocení se standardy OS – prof.Vorlíček dodá pro výbor současná doporučení používaná revizními lékaři VZP.

5. DRG - vzhledem k probíhajícím jednáním na MZ výbor připraví stanovisko pro MZD, které bude zasláno přímo pověřenému pracovníku MZd - vyřídí prim. Jelínková.

6. Seznam členů OS na linkos - sekretářka OS připraví aktualizovaný seznam členů OS na internetové stránky OS, kde bude dostupný všem členům.

7. Linkos - inzerce. Možnost inzerce – nové finanční podmínky po schválení výborem budou umístěny na linkos.

8. Dne 7.–9. 6. 2002 proběhla konference mladých onkologů s velmi dobrou organizací a odbornou náplní.
Přednášky budou umístěny na linkos.

9. Doc.Žaloudík podal informaci o BOD, celkově 740 učastníků, příští termín 22.–24. 5. 2003. Výbor zaujal negativní stanovisko k podávání alkoholických nápojů během přidružené výstavy framaceutických firem.

Různé:

1. Centrální dodávky rekombinantního erytropoetinu. Všechny informace aktuality jsou na linkos a dostupné všem členům OS.
Výbor nezaujal definitivní stanovisko ke sběru dat.

Termín další schůze je 8. 10. v 10.00 hod.

Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., předseda ČOS JEP
Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., vědecký sekretář