

VYDÁVÁ
ČESKÁ
LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST
J. E. PURKYNĚ

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

Redakce:
Masarykův
onkologický ústav
Brno

Žlutý kopec č. 7
656 53 Brno

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:
Bohuslav Havlíček

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

Vychází 6krát ročně

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

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

F 5158 Mič 46-772
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A 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	SHEARD MICHAEL
MAYER JIŘÍ	KOČÁK IVO
ČOUPEK PETR	NĚMEC JAROSLAV
	ŽALOUĐÍK JAN

REDAKČNÍ RADA

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

OBSAH 3 / 99**Přehled**

Šimíčková M., Černoch M. Význam stanovení aktivity telomerázy v onkologii	73
--	----

Klener P. Chemoprevence nádorových onemocnění	78
--	----

Mayer J. Jaká je optimální terapie mladších nemocných s akutní myeloidní leukémií?	82
---	----

Cetkovský P. Mobilizace hematologických kmenových buněk a možné postupy u tzv. obtížně mobilizovatelných nemocných	91
---	----

Původní práce

Cetkovský P., Schtzová M., Jindra P., Šopek P., Pittrová H., Vozobulová V., Švojgrová M., Navrátilová J., Lysák D., Vokurka S., Fišer J., Černá K., Karas M., Koza V. Mobilizace kmenových buněk krvinek u nemocných se zhoubnými nádory varlat před plánovanou léčbou vysokými dávkami chemoterapie	97
--	----

Mayer J., Žáčková D., Krahulová M., Vášová I., Tomiška M., Král Z., Krahulcová E., Kořístek Z., Krejčí M., Klabusay M., Doubek M. Indukční léčba nemocných s akutní myeloidní leukémií protokolem ICE	101
--	-----

Kazuistika

Drobčo J. Leiomyosarkóm Meckelova divertikla - zriedkavá príčina akútneho krvácania do dolnej časti tráviaceho traktu	105
--	-----

Sdělení

Němec J. Miltefosin: Inovace v paliativní terapii kožních lézí karcinomu prsu	107
--	-----

Informace:

Klener P. Otevřený dopis členům České onkologické společnosti	96
--	----

Žaloudík J., Vyzula R., Dušek L. Potřebujeme prediktivní onkologii?	110
--	-----

Geryk E. Americký pochod proti rakovině	111
--	-----

Knihy	109
-------------	-----

Onkologické společnosti	112
-------------------------------	-----

CONTENTS**Reviews**

Šimíčková M., Černoch M. Telomerase activity and its importance in oncology	73
--	----

Klener P. Cancer chemoprevention	78
---	----

Mayer J. What is the optimal therapy for younger patients with acute myeloid leukemia?	82
---	----

Cetkovský P. Mobilization of hematopoietic stem cells and possible strategies in the hard-to mobilize patients	91
---	----

Original Papers

Cetkovský P., Schützová M., Jindra P., Šopek P., Pittrová H., Vozobulová V., Vojgrová M., Navrátilová J., Lysák D., Vokurka S., Fišer J., Černá K., Karas M., Koza V. Mobilization of hematopoietic stem cells in patients with testicular cancer before high-dose chemotherapy	97
---	----

Mayer J., Žáčková D., Krahulová M., Vášová I., Tomiška M., Král Z., Krahulcová E., Kořístek Z., Krejčí M., Klabusay M., Doubek M. ICE induction therapy of patients with acute myeloid leukemia	101
--	-----

Case Report

Grobčo J. Leiomyosarcoma in Meckel's diverticulum - less frequent causes of lower acute gastrointestinal bleeding	105
--	-----

Notification

Němec J. Miltefosine: An Innovative Approach in the Palliative Treatment of Cutaneous Lesions from The Breast Cancer	107
---	-----

Information

Klener P. A letter to the Czech Oncological Society	96
--	----

Žaloudík J., Vyzula R., Dušek L. Do we need predictive oncology?	110
---	-----

Geryk E. American march against cancer	111
---	-----

Book	109
------------	-----

Onkologické společnosti	112
-------------------------------	-----

VÝZNAM STANOVENÍ AKTIVITY TELOMERÁZY V ONKOLOGII TELOMERASE ACTIVITY AND ITS IMPORTANCE IN ONCOLOGY

M. ŠIMÍČKOVÁ, M. ČERNOCH

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Souhrn: Stárnutí somatických buněk, které se projevuje jejich neschopností neomezeně se dělit, je řízeno procesem postupného zkracování konců chromozomů, které se nazývají telomery. Zárodečné a nádorové buňky však mají mechanismus, jak působit proti tomuto replikačnímu stárnutí: účinkem ribonukleoproteinového enzymu telomerázy je možno zkracování telomer zabránit. V práci jsou shrnuty poznatky o procesu neúplné replikace 3'-konce matricového DNA řetězce v somatických buňkách, o mechanismu působení telomerázy a její roli v procesu nádorové biologie.

Klíčová slova: telomery, telomeráza, immortalita, lidské benigní a maligní nádory

Summary: The senescence of somatic cells caused by limited number of their possible divisions is regulated by the process of gradual length reduction of the ends of chromosomes, called telomeres. However, tumor and germ cells possess a regulatory mechanism for eliminating this replicative senescence by means of telomerase, a ribonucleoprotein enzyme which is able to prevent telomere length reduction. In this work we describe new knowledge about the „DNA end replication problem“ in somatic cells, about the reaction of telomerase, and its role in tumor biology.

Key words: telomeres, telomerase, immortality, human benign and malignant tumors

Molekulární genetika zabývající se dvěma kontroverzními procesy - stárnutím normálních somatických buněk a naopak nesmrtností zárodečných a nádorových buněk - zaznamenala v posledním období velký pokrok. Stárnutí somatických buněk může být způsobeno postupným zkracováním specifických zakončení eukaryontních chromozomů - telomer - při každém mitotickém dělení. Při určité minimální délce telomer není už další dělení možné, buňka umírá. Naopak zárodečné a nádorové buňky nemají tento replikační limit, protože exprimují ribonukleoproteinový enzym telomerázu, který umožňuje udržovat telomery v dostatečné délce a tím zaručuje těmto buňkám immortalitu.

1. Biologie procesu replikačního stárnutí

Většina buněk eukaryontů, které se mohou dělit in vivo, nemají možnost dělení neomezenou. Proces, který limituje proliferační potenciál buněk, byl popsán pro lidskou buněčnou linii fibroblastů již před více než 30 lety a byl nazván buněčné (replikační) stárnutí („cell [replicative] senescence“) (1). Počet buněčných dělení, která proběhnou v somatické buňce před ukončením jejího života, závisí na živočišném druhu, stáří organismu, typu buněk a genetickém charakteru jedince. Toto číslo může dosahovat pro fetální nebo neonatální buňky hodnoty 60 až 80 dělení, pro určitou buněčnou linii je vysoce reprodukovatelné. Počet zbývajících možných dělení závisí, jak bylo prokázáno, na délce telomer (1).

Z dosavadních závěrů genetické analýzy se zdá být zřejmé, že stárnutí je geneticky dominantní, zatímco immortalita je znak recesivní (2). Tento závěr je založen především na výsledcích fúzí normálních proliferujících buněk s buňkami z nesmrtných nádorových linií a vzájemných fúzí buněk mezi různými nádorovými liniemi (2). Existuje alespoň deset genetických míst dosud neidentifikovaných genů na chromosomech 1-4, 6, 7, 10, 11, 18 a X, která se podílejí na replikačním potenciálu buňky (2).

Buňka, u které došlo k poslednímu možnému dělení, se dostává do fáze zablokování postupu buněčného cyklu k dělení vli-

vem represe alespoň tří transkripčních regulátorů, a to c-fos, Id a E2F, ev. indukce inhibitorů cyklin-dependentních kináz (např. p21, p16) (2, 3). Vysvětlení produkce těchto látek je dosud hypotetické: kritické zkrácení telomer může navodit např. uvolnění proteinů původně na telomery navázaných, které spustí proces aktivace původně blokovaných genů (3). Bylo prokázáno, že start programu replikačního stárnutí je závislý rovněž na přítomnosti inhibitoru telomerázové aktivity (2). Proces stárnutí se zdá být resistentní k apoptóze a nezávislý na jejích stimulech (4). Fenotypicky se projevují u stárnoucích buněk nejenom změny v morfologii (obvykle zvětšení buněk), ale i v expresi určitých genů (2). Tento fyziologický proces omezení buněčné proliferace se zdá být velice nadějný, pokud jde o možnost jeho využití pro nádorovou supresi.

2. DNA struktura na konci eukaryontních chromozomů a její replikace

Konce eukaryontních chromozomů - telomery - jsou u člověka tvořeny repetitivními sekvencemi bází TTAGGG. Tyto části DNA tvoří spolu s proteiny zvláštní strukturu na konci chromozomů, která zabraňuje jejich fúzím, degradaci a translokaci - tzn. podílejí se na zachování stability eukaryontního genomu. Telomery mají dále vliv rovněž na lokalizaci chromozomů v jádře, párování homologních chromozomů v časně fázi dělení a jejich pohyb během dělení (5).

Telomerové repetitivní sekvence různých organismů mají obvykle velikost 6 - 8 párů bází, i když existují delší sekvence (např. druh *Candida* má 20 - 25 párů bází). Aktuální počet kopií kolísá nejen podle délky života buňky, ale je i druhově závislý (u myši více než 10 000 kopií, u člověka 500 až 2 000 kopií (3 000 - 12 000 párů bází) (5). Úplný konec telomer tvoří často skupina 2 - 4 G; struktura této části je zřejmě rovněž velice důležitá, ale její funkce dosud není detailně poznána (5). Princip zkracování telomer u normální somatické buňky a působení telomerázy jsou vysvětleny na obr. 1 a 2 (6-9). DNA polymeráza katalyzuje syntézu dceřiného vlákna DNA od místa zahájení replikace, tj. replikační vidlice (replication fork), ve

směru 5' - 3' dceřiného řetězce kontinuálně, toto vlákno se nazývá vedoucí řetězec („leading strand“) (obr. 1). V opačném směru od místa zahájení replikace však probíhá syntéza dceřiného řetězce složitěji, a to diskontinuálně po malých úsecích oligonukleotidů (každý opět ve směru 5' - 3'), tzv. Okazakiho fragmentech (obr. 1). Napojení každého z nich musí být zahájeno (podobně jako je tomu i u vedoucího řetězce) navázáním krátkého RNA primeru na matricový řetězec. RNA primery jsou v další fázi enzymaticky odbourány a nahrazeny odpovídajícími sekvencemi DNA. Nakonec jsou jednotlivé úseky pospojovány DNA-ligázou. Takto syntetizovaná část dceřiného DNA se označuje jako opoždující se řetězec (lagging strand) (obr. 1). Na 5' - konci dceřiného řetězce DNA však nemůže být RNA primer nahrazen sekvencí DNA (je jen odštěpen), a proto dochází k jeho neukončené replikaci, a tedy ke zkrácení (obr. 2a). Popsaný mechanismus katalytického působení DNA polymerázy způsobuje, že po každé replikaci jsou dceřiného řetězce DNA na 5' - koncích vždy o něco kratší (problém neúplné replikace, „end replication problem“) (7, 9). Konec chromozomu (telomera) tak ztrácí při každém buněčném dělení (v S-fázi buněčného cyklu) 8 - 12 párů bází DNA. Podle posledních údajů existují v savčích chromozomech kromě těchto chromozomů s tupým zakončením (se zarovnanými konci, „blunt end termini“) (obr. 2a) rovněž chromozomy s přesahujícími 3' - zakončením (chromozomy s přesahujícími, posunutými konci) („overhanging termini“) (6). Replikací chromozomů s posunutými konci dochází uvedeným mechanismem k tvorbě tupých zakončení zkrácením 3' - konce na vedoucím řetězci DNA. Řešení uvedeného problému postupného zkracování telomer při každém mitotickém dělení umožňuje účinek telomerázy (9) (obr. 2b). Její působení spočívá v tom, že katalyzuje vazbu repetitivních sekvencí bází na 3' - konci nezreplikovaného matricového řetězce, který je primerem pro telomerázu, za vytvoření přesahujícího 3' - konce (přesahujícího původní délku mateřského řetězce). Následně je pak působením DNA polymerázy (již popsáním mechanismem s pomocí RNA primeru atd.) prodloužen i dceřiný řetězec v místě původní „mezerky“. Pravděpodobně působením nukleázy jsou pak - u chromozomů s tupým zakončením - přesahující konce řetězců zkráceny na původní (tj. mateřským odpovídající) délku (obr. 2b) (6). Obdobným mechanismem zajišťuje telomeráza vytvoření stejně dlouhých dceřiných kopie DNA i u chromozomů s přesahujícím 3' - koncem.

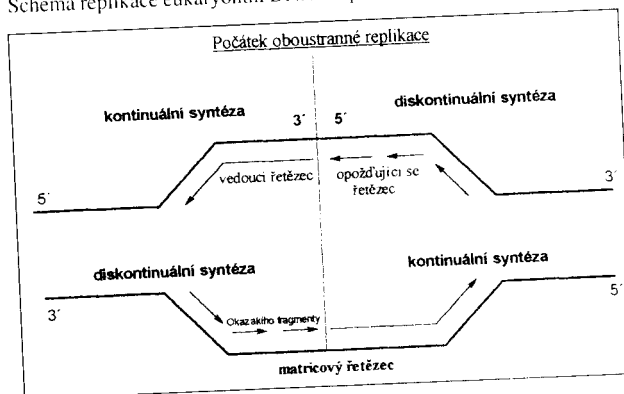
3. Metoda průkazu aktivity telomerázy

Metoda stanovení aktivity telomerázy (TRAP = Telomerase Repetitive Amplification Protocol) (10) je založena na několika krocích. V první části reakce dochází účinkem telomerázy k vazbě telomerových repetitivních sekvencí na 3' - konec syntetického primeru. V druhém kroku je produkt telomerázové reakce amplifikován metodou PCR (polymerázové řetězové reakce) za užití druhého primeru, který obsahuje sekvenci komplementární k vlastnímu telomerázovému produktu. Amplifikovaný produkt je detekován buď elektroforézou a následnou autoradiografií, při označení jednoho z nukleotidů ^{32}P se na gelu objeví typický obraz heterogenního produktu s „žebříkovitě“ narůstajícími zónami lišícími se vždy o 6 párů bází. Druhá možnost detekce amplifikovaného produktu je umožněna hybridizací se specifickou detekční sondou a následnou imunochemickou reakcí (komerční souprava Telomerase PCR ELISA, Roche, nebo TRAPeze - ELISA Telomerase Detection Kit, Oncor).

Uvedená TRAP metoda je pouze semikvantitativní, pro srovnání závěrů různých studií je třeba zvažovat možné nestandardní kroky při vyšetření. Jsou však vyvíjeny postupy, jejichž pomocí je možno přítomnost ribonukleoproteinového enzymu kvantifikovat. Senzitivita metody TRAP je vysoká - aktivitu lze prokázat v materiálu obsahujícím 1 μg proteinu v extraktu, nebo 10^3 buněk.

Vedle stanovení aktivity telomerázy uvedeným postupem je

Obr. 1. Schema replikace eukaryontní DNA - replikační vidlice (podle 8).

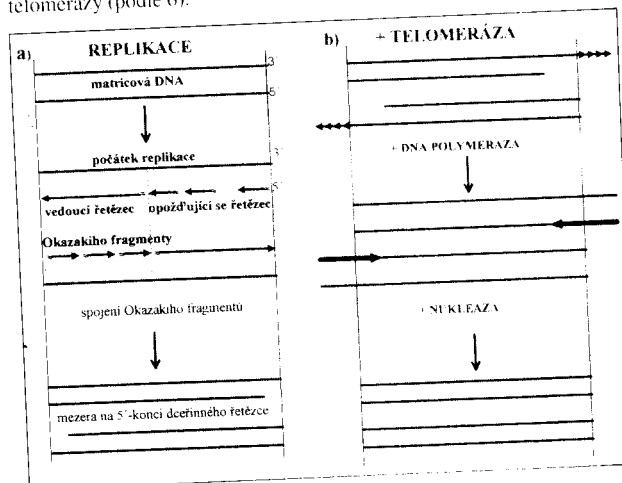


v posledním období využíváno detekce RNA složky telomerázy (hTR), jejíž pomocí lze rovněž rozlišit preinvasivní a invazivní neoplastický proces (11, 12). Kromě vlastní aktivity telomerázy je často stanovována i délka repetitivních sekvencí telomer, které mohou být v určité fázi procesu charakteristické (13). Rovněž tato metoda vyžaduje standardizaci (14).

4. Telomeráza a její role v procesu nádorové biologie

Telomeráza, ribonukleoprotein, který umožňuje syntézu repetitivních telomerových sekvencí na koncích chromozomů, je citlivá na štěpení RNázou a na zvýšenou teplotu (15). Sekvence její RNA je u mnoha nižších živočichů známa (výzkum byl zahájen na prvoku druhu Tetrahymena), obsahuje 150 - 200 nukleotidů u prvoků, asi 1300 nukleotidů u kvasinek, 450 u savců (15). Sekundární struktura dosud nebyla určena. Lze předpokládat, že na funkčním telomerázovém komplexu se budou podílet rovněž proteiny. Proteinová část může spolu tvořit vazebná místa pro uchycení DNA i nukleotidů, tzn. může být důležitým regulátorem biologické aktivity ribonukleoproteinového enzymu. Dosud byly popsány především proteiny asociované s telomerázou typu TP1 a TP2 (16). Pozornost je rovněž soustředěna na proteiny vážící se přímo na telomery. V poslední době byl prokázán savčí protein TRF1 (17). Je to vazebný faktor pro telomerovou repetitivní sekvenci, má velikost 60 kDa, jeho C-koncová doména vykazuje homologii s MYB-onkoproteiny. Je vázán na telomery pravděpodobně v dimeru. Jeho funkce spočívá především v mechanické ochraně telomer, a dále se spoluúčastní regulace jejich délky. Na analýze dalších proteinů, podílejících se na tvorbě telo-

Obr. 2. Problém neúplné replikace chromozomu: a) Postup replikace v případě zarovnaných, tupě zakončených chromozomů. b) Mechanismus účinku telomerázy (podle 6).



merového komplexu i vlastního komplexu s telomerázou (18), se v současnosti intenzivně pracuje.

Vlastní reakční mechanismus působení telomerázy je obdobný reakci DNA-polymérazy nebo reversní transkriptázy (obr.3) (6). Zjednodušeně lze reakci popsat jako třístupňovou: a) navázání krátké telomerické sekvence na 3'-nezreplikovaném matricovém konci chromozomu na vazebnou doménu telomerázové RNA, b) templátem - řízená adice nukleotidů a c) translokace, která umožní opakované užití totožné oblasti pro další vazbu. Vlastní vazebná doména je tvořena 5 nukleotidy, na něž se váže 3'-terminální DNA primer. Templátová doména umožní syntézu nové repetitivní sekvence (člověka: TTAGGG) na komplementární sekvenci nukleotidů telomerázy (obr. 3b - nově navázaný oligonukleotid je označen malými písmeny). Translokací dojde k uvolnění templátové domény a k další možné vazbě nukleotidů (obr. 3c) (6).

Již od počátku 90. let se objevily spekulace o významu telomerázy pro udržení nesmrtnosti nádorových buněk, které byly doloženy velkým množstvím experimentálního materiálu (19,20). Tři buněčné typy, a to zárodečné buňky, určité kmenové buňky a buňky mnohých maligních nádorů, nepodléhají procesu replikačního stárnutí. Zároveň jsou tyto buňky charakteristické tím, že vykazují expresi telomerázy. Telomeráza je aktivní v zárodečných buňkách vyvíjejícího se embrya, délka jejich telomer je konstantní (obr. 4). V somatických buňkách je enzym reprimován, telomery se během replikace chromozomů zkracují ke kritickému momentu, kdy buňka odumírá. Dojde-li však v buňkách k mutaci navozující maligní proces, pak signál k zastavení dělení je potlačen či buňky jej ignorují. Je-li genetický zásah dostatečný k indukci tvorby aktivní telomerázy, pak buňky, které neztratily kompletně telomery, pokračují v dělení a získávají nesmrtnost (19, 20). Na prvních pilotních studiích bylo prokázáno, že telomeráza je přítomna nejen v liniích nádorových buněk in vitro (tab.1) (20, 21), ale i v převážné většině lidských maligních nádorů (tab.2). Bylo prokázáno, že telomery v lidských nádorech jsou kratší než v buňkách okolní tkáň.

Z této obecné hypotézy se však některé experimentálně prokázané modely vymykají. Je zřejmé, že telomeráza není vždy nutná - a naopak její přítomnost není vždy jediným dostatečným impulzem - k udržení immortality buněk (19, 20). Bylo dokázáno, že normální lidské T-buňky po aktivaci exprimují telomerázu, a přece jsou jejich telomery v průběhu dělení zkracovány (15). Speklativním vysvětlením může být nedostatečná kvantita enzymu, ev. jeho modifikace apod. Některé nádorové buňky pravděpodobně telomerázu neprodukují, přestože se aktivně dělí (22) nebo mají charakter nesmrtnosti. Zajímavé výsledky byly zjištěny při studiích na myších. Během tumorigenese byla naměřena zvýšená aktivita telomerázy, kdy nedochází k podstatnému zkrácení telomer. Buněčné linie odvozené z myši, u nichž však byla provedena delece RNA komponenty telomerázy, byly schopny immortalizace, transformace virovými onkogeny a tvorby nádoru po transplantaci (23). Je tedy zřejmé, že telomeráza není vyžadována pro onkogenní transformaci ani produkci tumoru u myši.

Telomeráza je rovněž negativní, vystoupí-li buňka z procesu buněčného cyklu z důvodu buď diferenciace, nebo klidového stavu. Přestože byla prokázána telomerázová aktivita v některých normálních lidských tkáních, a naopak některé nesmrtné buňky neměly telomerázu prokazatelnou, lze obecně říci, že telomeráza koreluje s proliferací nádorových buněk (22). Vztah telomerázové aktivity k proliferaci byl prokázán především na liniích nádorových buněk. Její aktivita je rovněž zvýšena, je-li např. (normálně velice slabě produkující) kůže stimulována (po poranění) k tvorbě proliferující bazální membrány. Endometriální tkáň vykazuje rovněž změny v aktivitě tohoto enzymu ve vztahu k proliferaci během menstruačního cyklu (24, 25).

Je třeba si však uvědomit, že na procesu buněčného stárnutí se podílejí vedle telomerázy i další možné mechanismy, např. produkt supresorového genu p 53 (3).

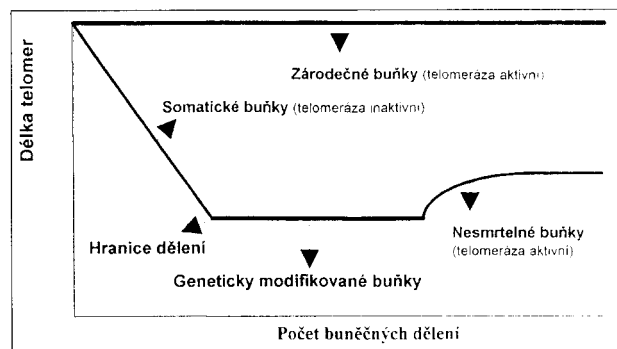
Obr. 3.

Obecný mechanismus telomerázové reakce. A: vazebná doména, B: templátová doména (podle 6).



Obr. 4.

Schema replikačního stárnutí somatických buněk a vliv telomerázy na zachování immortality zárodečných a nádorových buněk ve vztahu k délce telomerů (podle 20).



5. Klinický význam stanovení aktivity telomerázy

Bylo prokázáno, že telomeráza může být užitečným diagnostickým markerem pro stanovení stadia onemocnění, dále i prognostickým markerem vývoje onemocnění. Nemenší role je jí přičítána při diferenciálně-diagnostickém rozhodování mezi

Tab. 1.

Aktivita telomerázy v immortalizovaných lidských buněčných liniích (podle 21).

Buněčný typ	Telomeráza + ^b	Telomeráza -
Epitel mléčné žlázy	21	0
Bronchiální epitel	9	1
Epitel retiny	1	0
Embryonální ledvina	2	0
B-lymfocyty	2	0
T-lymfocyty	1	0
Mesotel	3	1
Fibroblasty ^a	28	21
Kožní keratinocyty	6	0
Cervikální keratinocyty	1	0
Celkem	74	23

^a Fibroblasty mléčné žlázy, bronchů, jater, plic, prostaty a kůže.

^b Stanovení telomerázové aktivity provedeno obvykle TRAP metodou (viz Materiál, metody).

Tab. 2.
Aktivita telomerázy v maligních nádorech (podle 28, 29)

Maligní nádory	Pozitivní	Celkem	% pozitivních
hlavy a krku	112	130	86,2
plic	113	140	80,7
GIT	195	223	87,4
pankreatu	41	43	95,3
jater	149	173	86,1
prsu	673	780	87,2
ženských reprodukčních orgánů	49	51	96,1
mužských reprodukčních orgánů	52	58	89,7
ledvin a močového traktu	273	306	89,2
kůže	94	102	92,2
hematologické	143	180	79,4

benigním a maligním onemocněním. Možnost stanovit telomerázu ve velice malém vzorku nádoru umožňuje využít různé neinvazivně získané vzorky, např. odběry tenkou jehlou, z výplachů úst, bronchů, buněk uvolněných do moče apod. Studium úlohy telomerázy v procesu maligní transformace je zaměřeno na čtyři oblasti: a) exprese v preinvazivní či časně invazivní fázi, b) exprese v invazivních maligních nádorech, c) význam pro odhad prognózy onemocnění, d) význam pro terapii. ad a) Bylo potvrzeno, že telomeráza je exprimována v preinvazivním maligním onemocnění tlustého střeva, hlavy a krku a plic (26-29). Její aktivita koreluje s histopatologickým stupněm, je však výrazně slabší ve srovnání s maligní tkání. Telomeráza byla prokázána v lyzátu buněk uvolněných do výplachu lumina střeva u 9 z 15 případů karcinomu tlustého střeva a u žádného vzorku nemocných s ulcerativní kolitidou či Crohnovou chorobou (26). Intenzivně je studována telomeráza i v prekancerózách dalších lokalizací, především prsu. Představa jednoznačné diferenciálně diagnostické pomůcky TRAP stanovení pro odlišení benigního a maligního procesu v prsu je v poslední době poněkud korigována: pokud nebude metoda stanovení aktivity přísně kvantitativní (ev. TRAP analýza nebude alespoň prováděna v řadě ředění jednoho vzorku), pak může docházet k falešně pozitivním závěrům. Telomeráza byla v omezené míře prokázána jak ve tkáni fibroadenomů, tak i u dysplasií. Jejím zdrojem může být určitý podíl buněk proliferujících, ev. se uvažuje i o možném vlivu přítomných kmenových buněk, které se diferencují buď na epiteliální, nebo myoepiteliální buňky (27).

ad b) Výskyt měřitelné aktivity telomerázy v jednotlivých nádorových lokalizacích je shrnut v tab.2 (28, 29). Nejpčetněji je zastoupeno vyšetřování maligních a benigních nádorů prsu. V tab.3 jsou ilustrovány souhrnné výsledky dosud publikovaných prací (11, 13, 27, 30-37). Je zřejmé, že nález minimální aktivity ve velice malém počtu vzorků normální tkáně i tkáně dysplastické (4,5 % a 15,8 %) nemůže zásadně zkruslit význam tohoto vyšetření: z dosud analyzovaných 780 duktálních i lobulárních karcinomů bylo 86,3 % pozitivních, pozitivita je obvykle velice výrazná. Negativita byla nalezena vždy ve tkáni fibrocystické dysplasie, zatímco významné je zjištění vysoké pozitivitivity u 83,3 % nádorů in situ. Velký význam bude mít hodnocení biopsie při odběru vzorku tenkou jehlou, kdy metoda TRAP umožní pracovat s minimálním množstvím materiálu a po standardizaci napomůže v rozlišení maligní a benigní tkáně.

Rovněž gynekologické nádory exprimují telomerázu ve velkém procentu případů. Byly nalezeny signifikantní difference v benigních, premaligních a maligních tkáních této lokalizace. Zdá se tedy, že aktivace telomerázy je kritickým krokem ve vývoji maligního nádoru této lokalizace (38-40). V premaligních intraepiteliálních cervikálních lézích je telomeráza exprimována, nekoreluje s výskytem lidského papilomaviru (41, 42). Nádory močového měchýře patří k lokalizacím, kde bude

Tab. 3.
Aktivita telomerázy v benigních a maligních postiženích prsu (podle 11, 13, 27, 30-37)

Tkáň prsu	Pozitivní	Celkem	% pozitivních
Normální	1	22	4,5
Dysplastická	3	19	15,8
Fibrocystická choroba	0	51	0
Fibroadenom	34	122	27,8
Karcinom in situ	20	24	83,3
Invazivní duktální a lobulární karcinom	673	780	86,3
Sousedící s karcinomem	4	85	4,7

vyšetření telomerázy z neinvazivně získaného vzorku významným parametrem pro hodnocení maligního procesu. Jeví se totiž, že senzitivita stanovení maligního procesu pomocí tohoto vyšetření z moče je minimálně shodná se závěry cytologického vyšetření, navíc není zatížena jeho chybou odečtu (43). Výhodou je také velice nízká falešná pozitivita (44).

Rovněž další nádorové lokalizace, tak jak je uvedeno v tab.2, jsou vhodným objektem, kde telomerázová aktivita rozliší mezi benigním a maligním procesem. Práci ze všech oblastí nádorových lokalizací v poslední době přibývá geometrickou řadou, k definitivnímu závěru je třeba vyčkat na výsledky prospektivních studií s kvantitativním vyšetřením telomerázové aktivity a dostatečným počtem případů.

ad c) Zhodnocení významu stanovení aktivity telomerázy pro predikci vývoje onemocnění je dosud neuzavřeno. Pro studie, které mohou přispět k řešení tohoto problému, musí být definována stabilita enzymu v materiálu zpracovávaném retrospektivně, ev. pro prospektivní studie je třeba dodržet určitý čas sledování nemocných. Dosud bylo prokázáno, že přítomnost telomerázové aktivity koreluje se špatnou prognózou vývoje onemocnění u karcinomu žaludku (45) a u neuroblastomů (46). Známé prognostické ukazatele u karcinomu prsu vykazují rovněž signifikantní přímý vztah k aktivitě telomerázy (30).

ad d) Terapeutické využití telomerázy je dosud propracováno především na experimentálních modelech. RNA složka telomerázy, působící jako templát pro vazbu repetitivní sekvence TTAGGG tvoří ideální cíl pro inhibici specifickými oligonukleotidy. V in vitro pokusech byla studována možná inhibiční účinnost těchto nukleotidů ve vztahu k jejich velikosti, afinitě a specifitě vazby a jejich přechodu do buňky. Z dosavadních experimentů se zdá být zřejmé, že právě přechod přes buněčnou membránu v in vivo modelech je klíčovým problémem (47). Jako další možné inhibitory mohou působit rovněž látky typu azidothymidinu apod. (20). Terapie za využití genetických manipulací je dalším možným krokem. Uvedené strategie jsou v posledním období doplňovány rovněž možnostmi inhibovat funkci proteinů vázaných s telomery, vše se však dosud pohybuje na úrovni experimentálního modelu (20). Při všech těchto přístupech je třeba řešit problém nežádoucí možné blokady telomerázy např. v zárodečných buňkách. Zda bude klinické využití terapeutického ovlivnění telomerázy možné v blízké či ve vzdálenější budoucnosti, ukáže teprve vývoj výzkumných prací zabývajících této problematice.

6. Závěr.

Dosavadní data naznačují, že telomeráza může být specifickým a univerzálním nádorovým markerem. Její diagnostický, prognostický a terapeutický potenciál je v současnosti studován nejen na experimentálním modelu, ale i v rámci prospektivních klinických studií. Další vylepšení v metodologii napomůže zhodnotit její význam pro klinickou praxi. Oblast využití pro nádorovou terapii se zdá být rovněž slibná. V rámci řešení výzkumného projektu IGA MZ ČR jsme zahájili studii s názvem: Analýza aktivity telomerázy u benigních a maligních lézí prsu, jejíž výsledky budou publikovány po zhodnocení širšího experimentálního souboru.

Literatura.

- Campisi J.: The biology of replicative senescence. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 703-709.
- Oshimura M., Barrett J.C.: Multiple pathways to cellular senescence: role of telomerase repressors. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 710-715.
- Parkinson E.K., Newbold R.F., Keith W.N.: The genetic basis of human keratinocyte immortalisation in squamous cell carcinoma development: the role of telomerase reactivation. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 727-734.
- Wang E.: Senescent human fibroblasts resist programmed cell death and failure to suppress bcl2 is involved. *Cancer Res.* 55, 1995, 2284-2292.
- Wellinger R.J., Sen D.: The DNA structures at the ends of eukaryotic chromosomes. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 735-749.
- Morin G.B.: The implications of telomerase biochemistry for human disease. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 750-760.
- Watson J.D.: Origin of concatemeric T7 DNA. *Nature New Biol.* 239, 1972, 197-201.
- Rosypal S.: Úvod do molekulární biologie. Vyd. S.Rosypal, Brno, 1996.
- Blackburn E.h., Szostak J.W.: The molecular structure of centromeres and telomeres. *Annu.Rev.Biochem* 53, 1984, 163-194.
- Kim N.W., Piatyszek M.A., Prowse K.R.: Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 266, 1994, 2011-2015.
- Yashima K., Milchgrub S., Gollahon L.S., Maitra A., Saboorian M.H., Shay J.W., Gazdar A.F.: Telomerase enzyme activity and RNA expression during the multistage pathogenesis of breast carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 4, 1998, 229-234.
- Kuniyasu H., Domen T., Haamamoto T., Yokozaki H., Yasui W., Tahara H., Tahara E.: Expression of human telomerase RNA is an early event of stomach carcinogenesis. *Jpn. J.Cancer Res.* 88, 1997, 103-107.
- Odagiri E., Kanda N., Jibiki K., Demura R., Aikawa E., Demura H.: Reduction of telomeric length and c-erbB-2 gene amplification in human breast cancer, fibroadenoma, and gynecomastia. *Cancer*, 73, 1994, 2978 až 2984.
- Breslow R.A., Shay J.W., Gazdar A.F., Srivastava S.: Telomerase and early detection of cancer: a national cancer institute workshop. *J.Nat.Cancer Inst.* 89, 1997, 618-623.
- Shay J.W., Wright W., Srivastava S., Sidransky D., Langford L.: Researchers debate clinical role of telomerase. *J. Natl. Cancer Inst.*, 88, 1996, 1021-1023.
- Harrington L., McPhail T., Mar V., Zhou W., Oulton R., EST Program A., Bass M.B., Arruda I., Robinson M.O.: A mammalian telomerase-associated protein. *Science* 275, 1997, 973-975.
- Smith S., DeLange T.: TRF1, a mammalian telomeric protein. *TIG* 13, 1997, 21-26.
- Conrad M.N., Dominquez A.M., Dresser M.E.: Ndj1p, a meiotic telomere protein required for normal chromosome synapsis and segregation in yeast. *Science* 276, 1997, 1252-1256.
- Rhyu M.: Telomeres, telomerase, and immortality. *J.Natl.Cancer Inst.* 87, 1995, 884-894.
- Holt S.E., Wright W.E., Shay J.W.: Multiple pathways for the regulation of telomerase activity. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 761-766.
- Bryan T.M., Reddel R.R.: Telomere dynamics and telomerase activity in vitro immortalised human cells. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 767-773.
- Belair C.D., Yeager T.R., Lopez P.M., Reznikoff C.A.: Telomerase activity: A biomarker of cell proliferation, not malignant transformation. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA* 94, 1997, 13677-13682.
- Blasco M.A., Lee H.W., Hande P.M., Samper E., Landsdorp P.M., DePinho R.A., Greider C.V.: Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomere RNA. *Cell* 91, 1997, 25-34.
- Kyo S., Takakura M., Kohama T., Inoue M.: Telomerase activity in human endometrium. *Cancer Res.* 57, 1997, 610-614.
- Brien T.P., Kallakury B.V., Lowry C.V., Ambros R.A., Muraca P.J., Malfetano J.H., Ross J.S.: Telomerase activity in benign endometrium and endometrial carcinoma. *Cancer Res.* 57, 1997, 2760-2764.
- Yoshida K., Sugino T., Goodison S., Warren B.F., Nolan D., Wadsworth S., Mortensen N.J., Toge T., Tahara E., Tarin D.: Detection of telomerase activity in exfoliated cancer cells in colonic luminal washings and its related clinical implications. *Brit.J.Cancer* 75, 1997, 548-553.
- Villa R., Zaffaroni N., Folini M., Martelli G., De Palo G., Daidone M.G., Silvestrini R.: Telomerase activity in benign and malignant breast lesions: a pilot prospective study on fine-needle aspirates. *J.Natl. Cancer Res.* 90, 1998, 537-539.
- Kim N.W.: Clinical implications of telomerase in cancer. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 781-786.
- Shay J.W., Bacchetti S.: A survey telomerase activity in human cancer. *Eur.J.Cancer* 33, 1997, 787-791.
- Hoos A., Hepp H.H., Kaul S., Ahlert T., Bastert G., Wallwiener D.: Telomerase activity correlates with tumor aggressiveness and reflects therapy effect in breast cancer. *Int.J.Cancer* 79, 1998, 8-12.
- Bednarek A.K., Sahin A., Brenner A.J., Johnston D.A., Aldaz C.M.: Analysis of telomerase activity levels in breast cancer: positive detection at the in situ breast carcinoma stage. *Clin. Cancer Res.*, 3, 1997, 11-16.
- Sugino T., Yoshida K., Bolodeoku J., Tahara H., Bulez L., Manek S., Wells C., Goodison S., Ide T., Suzuki T., Tahara E., Tarin D.: Telomerase activity in human breast cancer and benign breast lesions: Diagnostic applications in clinical specimens, including fine needle aspirates. *Int.J.Cancer* 69, 1996, 301-306.
- Hiyama E., Gollahon L., Kataoka T., Kuroi K., Yokoyama T., Gazdar A.F., Hiyama K., Piatyszek M.A., Shay J.W.: Telomerase activity in human breast tumors. *J. Natl. Cancer Inst.*, 88, 1996, 116-122.
- Tsao J.-I., Zhao Y., Lukas J., Yang X., Shah A., Press M., Shibata D.: Telomerase activity in normal and neoplastic breast. *Clin. Cancer Res.* 3, 1997, 627-631.
- Landberg G., Nielsen N.H., Nilsson P., Emdin S.O., Cajander J., Roos G.: Telomerase activity is associated with cell cycle deregulation in human breast cancer. *Cancer Res.* 57, 1997, 549-554.
- Mokbel K., Ghilchik M.: Re:Telomerase activity in human breast tumors. *J.Natl.Cancer Inst.* 88, 1996, 839.
- Carey L.A., Hedican C.A., Henderson G.S., Umbricht Ch.B., Dome J.S., Varon D., Sukumar S.: Careful histological confirmation and microdissection reveal telomerase activity in otherwise telomerase-negative breast cancers. *Clin. Cancer Res.* 4, 1998, 435-440.
- Kyo S., Takakura M., Tanaka M., Murakami K., Saitoh R., Hirano H., Inoue M.: Quantitative differences in telomerase activity among malignant, premalignant, and benign ovarian lesions. *Clin. Cancer Res.* 4, 1998, 399-405.
- Murakami J., Nagai N., Ohama K., Tahara H., Ide T.: Telomerase activity in ovarian tumors. *Cancer* 80, 1997, 1085-1092.
- Kyo S., Takakura M., Kohama T., Inoue M.: Telomerase activity in human endometrium. *Cancer Res.* 57, 1997, 610-614.
- Takakura M., Kyo S., Kanaya T., Tanaka M., Inoue M.: Expression of human telomerase subunits and correlation with telomerase activity in cervical cancer. *Cancer Res.* 58, 1998, 1558-1561.
- Yashima K., Ashfaq R., Nowak J., Von Gruenigen V., Milchgrub S., Rathi A., Albores-Saavedra J., Shay J.W., Gazdar A.F.: Telomerase activity and expression its RNA component in cervical lesions. *Cancer* 82, 1998, 1319-1327.
- Dalbagni G., Han W., Zhang Z.-F., Coedon-Cardo C., Saigo P., Fair W.R., Herr H., Kim N., Moore M.A.S.: Evaluation of the telomeric repeat amplification protocol (TRAP) assay for telomerase as a diagnostic modality in recurrent bladder cancer. *Clin. Cancer Res.* 3, 1997, 1593-1598.
- Rhyu M.S.: Telomeres, telomerase, and immortality. *J.Natl. Cancer Inst.*, 87, 1995, 884-894.
- Tahara E., Semba S., Tahara H.: Molecular biological observations in gastric cancer. *Semin. Oncol.* 23, 1996, 307-315.
- Hiyama E., Hiyama K., Yokoyama T., Matsuura Y., Piatyszek M.A., Shay J.W.: Correlation of telomerase activity level with human neuroblastoma outcome. *Nat. Med.* 1, 1995, 249-255.
- Pitts A.E., Corey D.R.: Inhibition of human telomerase by 2'-O-methyl-RNA. *Proc. Natl.Acad.Sci USA*, 95, 1998, 11549-11554.

Práce byla podpořena grantovým projektem NM17/3 IGA MZ ČR.

CHEMOPREVENCE NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ

CANCER CHEMOPREVENTION

P. KLENER:

I. INTERNÍ KLINIKA I. LF UK A VFN, PRAHA

Souhrn: Chemoprevence znamená použití farmakologických nebo přirozených látek k inhibici kancerogenního procesu. Pokroky ve znalostech molekulárních mechanismů kancerogeneze umožnily syntézu nových látek, které mohou inhibovat rozvoj nádoru selektivním účinkem na molekulární úrovni, zejména účinkem na retinoidní jaderné receptory, modulaci estrogenních receptorů, potlačení exprese COX-2 (cyklo-oxygenázy-2), inaktivací volných radikálů, a dalšími mechanismy. Je podán přehled možností preventivních režimů, využívajících těchto nových poznatků.

Summary: Chemoprevention is the use of pharmacologic or natural agents that inhibit invasive cancer by arresting or reversing the progression of premalignant cells. Advances in our understanding of the molecular mechanisms of carcinogenesis have led to the synthesis of new drugs that can inhibit tumour development by selective action on specific molecular targets, such as retinoid receptors, estrogen receptor modulators, COX-2 (cyclooxygenase-2), free radicals, and some others. Possible regimens for cancer prevention based on these new approaches, are reviewed.

Chemoprevencí rozumíme použití farmakologických prostředků nebo přirozených látek k inhibici již započatého kancerogenního procesu. Je ovšem velmi obtížné postihnout počáteční stadia změn, které způsobí poruchu regulačních mechanismů proliferace a maturace. Vznik mutací, které jsou příčinou těchto poruch, lze předpokládat u každého jedince, kde mohou vznikat jak z endogenních příčin (např. poškozením DNA účinkem kyslíkových radikálů produkovaných makrofágy nebo neutrofily), tak exogenními vlivy (virové infekce, záření, chemické kancerogeny). Kancerogeneze je však více-
stupňový proces, jehož trvání od mutagení iniciace k invazivnímu metastazujícímu nádoru může činit až 20 let. Organismus je schopen vlastními obrannými mechanismy tento proces zastavit a patologický buněčný klon eliminovat. V případě, že se tak nestane, vyvíjejí se postupně změny, které mohou být klinicky zjevné jako prekanceróza a teprve s různě dlouhým časovým odstupem vzniká invazivní nádor. Chemoprevence má tedy omezit rozvoj zmíněných poruch a zabránit vzniku zhoubného nádoru. Způsob, jakým lze toho cíle dosáhnout, může být různý. Nejúčinnější chemoprevencí by byla prvotní blokáda vzniku mutací a prekancerózy samotné, což je prakticky neschůdné. Jak bylo zmíněno, je časový prostor od iniciace nádorového procesu ke klinicky zjevnému nádoru relativně dlouhý, což otvírá prostor pro

uplatnění jiných metod chemoprevence, jejichž cílem je modifikovat další osud preneoplastické buňky následujícím způsobem (viz obr. 1). Je to buď indukce diferenciace nebo indukce apoptózy, popřípadě inhibice angiogeneze nebo inhibice proliferace, kdy se chemopreventivní účinek překrývá s přímým účinkem protinádorovým. V praxi se chemopreventivní léčba dosud soustřeďovala převážně na omezení vzniku recidiv již odstraněného nebo vyléčeného nádoru, avšak v poslední době přibývá studií prokazujících význam chemoprevence v obecnějším slova smyslu.

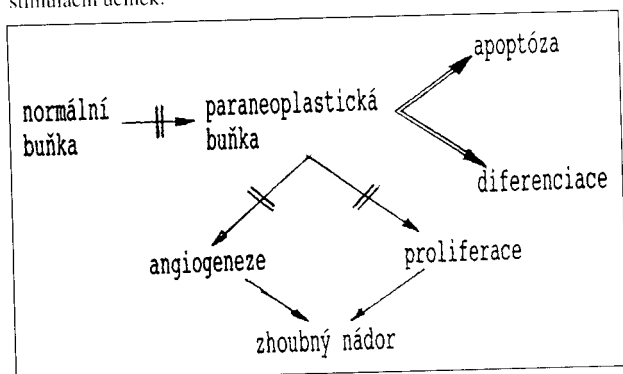
Byla studována chemopreventivní účinnost většího počtu látek, ale jen u několika se podařilo získat přesvědčivé doklady o jejich klinické účinnosti. O těchto látkách se zmíníme podrobněji.

Retinoidy

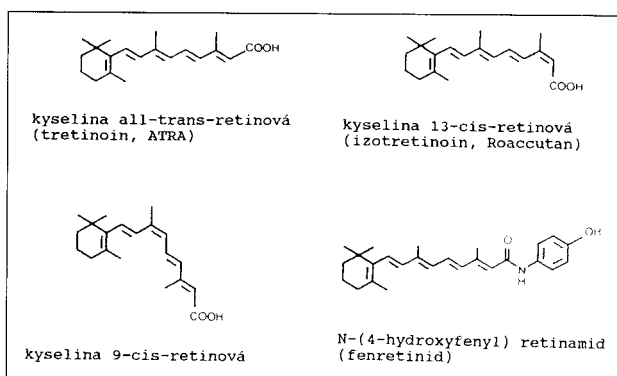
Jsou z hlediska chemopreventivních účinků nejvíce studovanou skupinou látek. Jde o přirozené nebo syntetické deriváty retinolu (vitamínu A). Je známo více než 100 různých derivátů, avšak praktický význam byl prokázán jen u několika, které v přehledu shrnuje obr. 2. Retinoidy mají mnohostranné biologické účinky. Po vazbě na proteiny jsou dopraveny do buňky, kde se váží na specifické jaderné receptory (RAR nebo RXR, každý typ má tři podjednotky alfa, beta a gamma). Receptor aktivovaný retinoidem pak vazbou na určitou sekvenci v DNA (tzv. RARE - retinoid acid response elements) ovlivní transkripční a translační pochody a tím i buněčnou diferenciaci a proliferaci (3, 8, 17). Schematicky je celý proces znázorněn na obr. 3. Diferenciační účinky se pak projeví zejména v buněčných populacích bohatých na zmíněné receptory. U bronchogenních karcinomů a u premaligních lézí aerodigestivního traktu byla opakovaně zjištěna snížená exprese retinoidních receptorů (29). Některé retinoidy mají však schopnost expresi RAR indukovat, popřípadě účinkují jako agonisté těchto receptorů. Kromě diferenciačních účinků byly u retinoidů popsány i účinky antiproliferační (tretinoin) a schopnost indukovat apoptózu (4HPR). Mechanismy těchto účinků se teprve studují, ale již dnes bylo prokázáno, že některé retinoidy inhibují expresi cyklínů D1 a D3 a některých dalších proteinů nutných pro hladký průběh buněčného cyklu. Výsledky pokusných studií pak podnítily klinické aplikace, které potvrdily účinky retinoidů u některých druhů nádorových onemocnění.

Obr. 1.

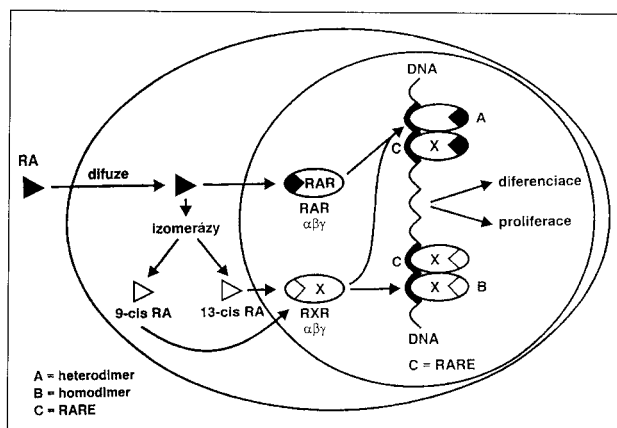
Schematické znázornění různých mechanismů chemoprevence. Dvojitá úsečka znázorňuje blokující účinek chemopreventiv, dvojitá šipka jejich stimulační účinek.



Obr. 2.
Retinoidy nejčastěji používané v chemoprevenci.



Obr. 3.
Schématické znázornění mechanismu účinku retinoidů. Kyselina retinová (RA) vniká do buňky difúzí. V cytoplasmě mohou účinkem izomeráz vzniknout deriváty (13-cis RA, 9-cis RA). Po průniku do jádra se retinoidy váží na receptory (RAR = retinoid acid receptor, nebo RXR = retinoid X receptory). Každý má tři podjednotky (alfa, beta, gama). Receptory vytvářejí buď heterodimery (A) nebo homodimery (B). Aktivované dimery se váží na specifický úsek v DNA označovaný jako RARE (retinoid acid response element), jehož působením prostřednictvím m-RNA ovlivňuje transkripční faktory a ovlivňuje diferenciaci a proliferaci buněk.



Tretinoín (all-trans-retinová kyselina, ATRA) je schopen navodit úplnou remisi u akutní promyelocytární leukémie. V tomto případě nejde pouze o indukci diferenciace, ale současně o omezení proliferace, bloádou sebeobnovy promyelocytárních prekurzorů (13).

Izotretinoín (13-cis retinová kyselina) byl s příznivými výsledky zkoušen u leukoplakie a u kožních T-lymfomů (42). S negativními výsledky skončily studie u nádorů ORL oblasti, u myelodysplastického syndromu, u bronhogenního karcinomu a u karcinomu močového měchýře (28, 40, 42). Navíc byly při léčbě zaznamenány četné nežádoucí účinky.

Fenretinid (retinamid) se zdá z hlediska chemoprevence výhodnější a účinnější. Má synergní účinek s antiestrogeny a osvědčil se jako chemoprevence u karcinomu prsu, prostaty a močového měchýře, při dobré toleranci léčby (6, 34).

Deltanoidy

Je nově používané označení pro deriváty vitamínu D3. Tento vitamín (**cholecalciferol**) je aktivním metabolitem vitamínu D, který účinně ovlivňuje expresi genů indukujících buněčnou diferenciaci (15). Biologické účinky jsou podobné jako u retinoidů zprostředkovány jadernými receptory, které vytvářejí dimery s retinoidními „X“ receptory (14). Jedním z derivátů, který se zkoušel v léčbě myelodysplastického syndromu a u kožních T-lymfomů, je **calcitriol** (1-alfa, 25-dihydroxyvitamin D₃, Rocaltrol). Přípravek má diferenciační účinky u vět-

šího počtu buněčných linií, ale jeho širšímu použití brání relativně silné hyperkalcemizující účinky (14). V posledních letech však byl připraven větší počet nových syntetických analogů, jejichž diferenciační účinky jsou zvýrazněny při podstatném oslabení vlivu na kalciový metabolismus (38). Je to například **calcipotriol** (Dovonex) a zejména **EB 1089** (5, 38) nebo **Ro 24-5531** (1). Kromě diferenciačních účinků se u těchto derivátů prokázal rovněž účinek antiproliferační a vliv na indukci apoptózy.

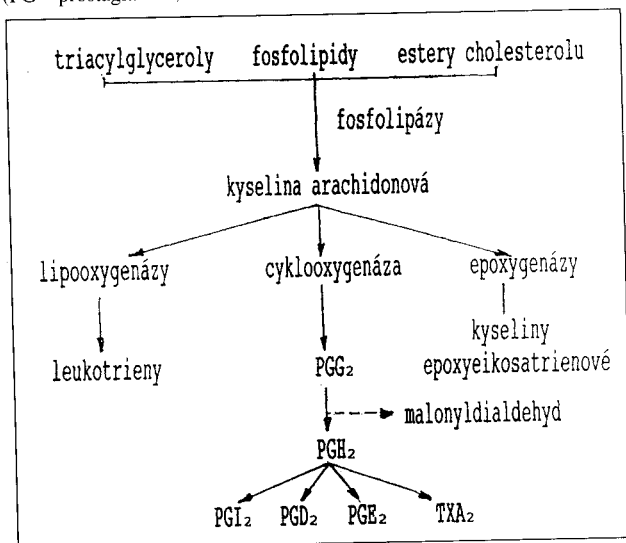
Antiestrogeny

Antiestrogeny jsou široce používanými prostředky k léčbě karcinomu prsu. Jejich aplikace výrazně omezuje riziko recidivy nádoru, což je dokladem pro jejich současný chemopreventivní účinek. Nejrozšířenějším přípravkem této skupiny je **tamoxifen**. Jeho biologické účinky jsou značně komplexní. Nejvýznamnější se zdá blokáda estrogenních receptorů a tím eliminace stimulačního účinku estrogenů na epitel prsní žlázy (33). Pro tento účinek jsou četné experimentální doklady, jako je např. inhibice indukce karcinomu prsu dimetylbentrantracemem či nitrozometylureou. Kromě toho indukuje tamoxifen syntézu některých antiproliferačních cytokinů (např. TGF-beta) a naopak snižuje koncentraci stimulačních faktorů, jako je insulinu podobný růstový faktor (IGF-1) (18). Nevýhodou tamoxifenu je však jeho duální hormonální aktivita (estrogenní i antiestrogenní). Proto se látky tohoto typu označují přilehavějším termínem „modulátory estrogenních receptorů“ (SERM - selective ER modulators). Po podání tamoxifenu převládá v epitelu prsní žlázy účinek antiestrogenní, kdežto v epitelu dělohy se uplatní též aktivita estrogenní. To vysvětluje, proč dlouhodobá léčba tamoxifemem je provázána rizikem indukce karcinomu endometria. Naproti tomu derivát tamoxifenu **raloxifen** se vyznačuje převahou antiestrogenní aktivity i v endometriu, ačkoliv povaha sloučeniny je rovněž podvojná (agonista-antagonista). Dosud se používal hlavně k léčbě osteoporózy (přípravek Evista), ale pravděpodobně najde místo též v chemoprevenci karcinomu prsu (7). Klinicky se zkouší i některé čisté antiestrogeny, jako je např. steroidní antiestrogen **ICI 182780**, který výrazně podněcuje apoptózu a zdá se z hlediska chemoprevence velmi perspektivní (19).

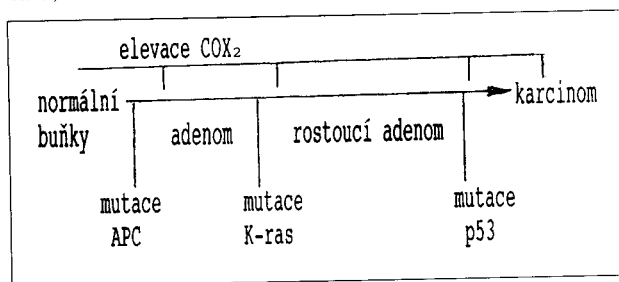
Nesteroidní antirevmatika

Zájem o nesteroidní antirevmatika jako chemopreventivní léky nádorových onemocnění byl podněcen pozorováním, že u nemocných s revmatoidní artritidou, kteří pravidelně užívají nesteroidní antirevmatika, byla zjištěna nižší incidence kolorektálního karcinomu (9, 10). Následné klinické studie u nemocných s kolorektálním karcinomem tento předpoklad potvrdily (37). Mimo to užívání nesteroidních antirevmatik působilo rovněž regresi adenomatózních polypů (11, 41). V tkáních mnoha karcinomů (střevo, prs, kůže, plíce) byla nalezena vysoká koncentrace prostaglandinů, což ukazovalo na jejich významu v kancerogenezi. Zvýšená koncentrace prostaglandinů je důsledkem zvýšené aktivity enzymu cyklooxygenázy, který katalyzuje vznik prostaglandinů z kyseliny arachidonové, jak znázorňuje schéma na obr. 4. Cyklooxygenáza (COX) má dvě izoformy. COX-1, která reaguje na potřeby prostaglandinů ve fyziologických reakcích a COX 2 indukovanou zejména za patologických okolností (např. mutací APC genu (adenomatous polyposis coli gen). Úloha COX-2 v kolorektálním kancerogenezi je schématicky znázorněna na obr. 5. Dlouhodobě zvýšená exprese COX 2 v trávicím traktu vede k nadprodukci proteinu bcl-2, E-kadherinu a dalších látek s prokázaným kancerogenním potenciálem. Působí též výraznou inhibicí apoptózy (25). Kromě toho, jako vedlejší produkt metabolické reakce indukované COX může vznikat velmi reaktivní metabolit - malonyldialdehyd, který poškozuje DNA a představuje tak další kancerogenní faktor (24). Inhibici obou izoform COX působí většina v praxi používa-

Obr. 4. Schématické znázornění vzniku prostaglandinů z kyseliny arachidonové. (PG = prostaglandin, TXA = tromboxan).



Obr. 5. Pravděpodobná role cyklooxygenázy-2 v kancerogenezi kolorektálního karcinomu (APC = adenomatous polyposis coli gen) (podle Dubois R. N., cit. 9).



ných nesteroidních antirevmatik (kyselina acetylsalicylová, ibuprofen, sulindac, naproxen, piroxicam aj.). Teprve v poslední době jsou k dispozici látky s převážným, popřípadě výlučně selektivním účinkem na COX 2, jako např. nimesulid, nabumeton, meloxicam nebo celecoxib (20, 36, 39). Právě tyto přípravky by mohly být s výhodou použity k chemopreventivní léčbě. Tato léčba musí být dlouhodobá, což při nespecifických inhibitech COX naráží na problém četných nežádoucích účinků (zejména krvácení do GIT).

Oltipraz

(1,2 dithiol-3-thion) byl původně používán jako lék proti schistosomiáze, později byly zjištěny jeho chemopreventivní vlastnosti. Oltipraz výrazně blokuje aflatoxinem zprostředkovanou kancerogenezi v játrech, ale má též obecné chemopreventivní účinky (22,32). Zdá se, že stimuluje syntézu enzymů s detoxifikačním účinkem na různé kancerogeny (31). Zvyšuje např. výrazně koncentraci glutathion-S-transferázy a nepochybně působí jako mediátor reakcí kyslíkových radikálů. Stimuluje též „opravu“ poškozené DNA a má antimutagenní účinky. V první fázi klin. zkoušení se podával v dávce 125 mg/m² 2 × týdně po 12 týdnů, celkem s dobrou tolerancí.

Finasterid

Vznik karcinomu prostaty je do značné míry závislý na androgenech. Soudí se, že klíčový význam má metabolit testosteronu 5-alfa-dihydrotestosteron (DHT), jež má vysokou afinitu k androgenním receptorům. DHT vzniká z testosteronu účinkem 5-alfa reduktázy. Analoga androgenů s antagonistickým účinkem na tento enzym koncentraci DHT snižují. Jedním

z inhibitorů tohoto enzymu je **finasterid** (Proscar) používaný k léčbě benigní hypertrofie prostaty. Studie jeho použití v chemopreventivní karcinomu prostaty jsou v běhu. Současně se v experimentu prověřují další inhibitory 5alfa reduktázy (přípravek FK 143) (16).

Jiné látky s chemopreventivním účinkem

Stručný výčet chemopreventivních prostředků je značně neúplný. Existuje mnoho dalších látek schopných modifikovat nebo omezovat rozvoj nádorového bujení. Vzhledem k tomu, že proces maligní transformace je značně složitý a mnohastupňový, lze uvažovat o četných způsobech, kterými lze kancerogenezi ovlivnit. Tak např. kyslíkové radikály mohou jako tzv. sekundární promotory působit vznik mutací, jež vedou k indukci onkogenů. Proto různá antioxydancia vychytávající volné radikály (free radical scavengers) jsou schopné těmto změnám účinně bránit. Patří mezi ně např. **alfa-tokoferol** (vitamin E), L-karnitin nebo N-acetylcystein (21). Dále se studuje úloha selenu, který zvyšuje aktivitu různých antioxydantních enzymů. Zajímavou látkou je též **amifostin** (Etyol), který má mimo jiné schopnost účinně stimlovat apoptózu. Tímto účinkem se vysvětluje jeho léčebný efekt u nemocných s myelodysplastickým syndromem (23). Existuje ještě řada látek s prokázaným diferenciálním účinkem. Je to např. hexametylen bisacetamid a jeho analoga (4), difluorometylnitrit (DFMO) nebo bryostatin (35). U všech zmíněných látek byla prokázána schopnost indukovat diferenciaci různých buněčných linií, ale jejich možné klinické využití čeká teprve na prověření.

Kombinovaná léčba

Snaha účinněji bránit vzniku maligní proliferace vyústila logicky v pokusech využít současně účinku látek s různými mechanismy chemopreventivního účinku. Nejčastěji byla testována kombinace **retinoid + interferon-alfa** (26). Povzbudivé výsledky s použitím této kombinace u prekanceróz děložního čípku nebyly však všemi autory potvrzeny (18, 27). Na ověření čekají i zprávy o účinku této kombinace u nemocných s adenokarcinomem ledviny (30). Naproti tomu kombinace **tamoxifen + fenretinid** má prokazatelný chemopreventivní účinek u karcinomu prsu (2).

Přehled klinických zkušeností

Literární údaje o klinickém použití chemopreventiv jsou četné, ale značně různorodé. Jejich validitu často snižuje relativně omezený počet nemocných, u nichž byla chemopreventivní léčba podávána, a dále chybění kontrolního souboru. Avšak ani kontrolované studie v mnoha případech nepotvr-

Tab. 1.

Některé prekancerózy, u nichž chemopreventivní léčba zabránila vzniku nádorového onemocnění, popřípadě omezila vznik recidivy.

Prekanceróza (nádor)	Chemopreventivní prostředek	Dávka
leukoplakie	izotretinoin fenretinid	1-2 mg/kg/d 200 mg/d
metaplazie bronchiální sliznice (biops. kontr.)	izotretinoin	1 mg/kg/d
familiární adenomatózní polypóza	sulindac	300 mg/d
aktinická keratóza kůže	etretinát	75 mg/d
metaplazie v močovém měchýři	etretinát	25-50 mg
dysplazie děložního čípku	IFNalfa + tretinoin	6 × 10 ⁶ IU
karcinom prsu	fenretinid	200 mg/d
kolorektální karcinom	kyselina acetylsalicylová	75 mg/d

zuji teoretické předpoklady, často experimentálně ověřené. Jenoznačně průkazné jsou studie s inhibitory cyklooxygenázy u kolorektálního karcinomu. Na vyhodnocení čekají zkoušky se selektivními inhibitory COX-2. Spolehlivé se zdají též závěry potvrzující chemopreventivní efekt fenretinidu u karcinomu prsu, dále studie s izotretinoinem u leukoplakie dutiny ústní a s etretinátem u prekanceróz v močovém měchýři

(12, 28, 40). Výsledky některých dalších studií jsou shrnuty v tab. 1.

Závěrem lze konstatovat, že chemoprevence je jednou z nadějných cest, která může snížit riziko vzniku zhoubného nádorového onemocnění u disponovaných osob a zejména bránit vzniku recidiv u nemocných, u nichž byl již primární nádor odstraněn.

Literatura:

1. Anzano M.A., Smith J.M., Uskokovic N.R. et al.: 1- α -25-dihydroxy-16-ene-23-yne-26,27-hexafluorocholecalciferol (Ro 24-5531), a new deltanoid (vitamin D analogue) for prevention of breast cancer in the rat. *Cancer Res.* 54, 1994, 1653-1656.
2. Anzano M.A., Peer C.W., Smith J.M. et al.: Chemoprevention of breast cancer in the rat with 9-cis-retinoid acid as a single agent and in combination with tamoxifen. *Cancer Res.* 54, 1994, 4514-4617.
3. Bollag W., Holdener E.E.: Retinoids in cancer prevention and therapy. *Ann.Oncol.* 3, 1992, 513-526.
4. Breslow R., Jursic B., Yan Z.F. et al.: Potent cyto- differentiating agents related to hexamethylenbisacetamide. *Proc.Natl.Acad. Sci. USA*, 88, 1991, 5542-5545.
5. Colston K.V., Mackay A.G., James S.Y. et al.: EB 1089: a new vitamin D analogue that inhibits the growth of breast cancer cells in vivo and in vitro. *Biochem. Pharmacol.* 44, 1992, 2273-2280.
6. Costa A., Malone W., Perloff M. et al.: Tolerability of the synthetic retinoid fenretinide. *Eur.J.Clin.Oncol.* 25, 1989, 805-811.
7. Delmas P.D., Bjarnason N.H., Mitlak B.H. et al.: Effect of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations and uterine endometrium in postmenopausal women. *N.Engl.J.Med* 337, 1997, 1641-1647.
8. Dimitrovsky E.: Retinoids and cancer prevention mechanisms, s. 8-13 in Perry M.C.(Ed.): ASCO-Educational book 1988.
9. Dubois R.N., Smalley W.E.: Cyclooxygenase, NSAIDs and colorectal cancer. *J.Gastroenterol.* 31, 1996, 898-993.
10. Eberhart C.E., Coffey R.J., Radhika A. et al.: Up-regulation of cyclooxygenase-2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 107, 1994, 1183-1188.
11. Giardiello F.M., Hamilton S.R., Krush A.J. et al.: Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *New Engl.J.Med* 328, 1993, 1313-1316.
12. Greenwald P., Nixon D.W., Malone W.F. et al.: Concepts in cancer chemoprevention research. *Cancer* 65, 1990, 1483-1490.
13. Greer J.P., Baer M.R., Kinney M.C.: Acute promyelocytic leukemia s.2285-2287 in: Lee G.R.(Ed.): Wintrobe's clinical hematology. Williams and Wilkins, Baltimore 1999.
14. Guzey M., DeLuca H.F.: A group of deltanoids (vitamin D analogs) regulate cell growth and proliferation in small cell carcinoma cell lines. *Res.Commun.Mol.Pathol.Pharmacol.* 98, 1997, 3-18.
15. Hansen C.M., Maenpaa P.H.: EB 1089, a novel vitamin D analog with strong antiproliferative and differentiation-inducing effects on target cells. *Biochem.Pharmacol.* 54, 1997, 1173-1179.
16. Homma Y., Kaneko M., Kondo Y. et al.: Inhibition of rat prostate carcinogenesis by a 5- α -reductase inhibitor, FK 143. *J.Natl.Cancer Inst.* 89, 1997, 803-807.
17. Hong W.K., Lotan R.: Retinoids in oncology. Marcel Dekker Inc., New York, 1993.
18. Hong W.K., Sporn M.B.: Recent advances in chemoprevention of cancer. *Science* 278, 1997, 1073-1077.
19. Howell A., DeFriend D., Robertson J. et al.: Response to a specific antiestrogen (ICI 182780) in tamoxifen-resistant breast cancer. *Lancet* 345, 1995, 29-30.
20. Kawamori T., Rao C.V., Seibert K. et al.: Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor against colon carcinogenesis. *Cancer Res.* 58, 1998, 409-412.
21. Kelloff G.J., Boone C.W., Crwell J.A. et al.: New agents for cancer chemoprevention. *J.Cell Biochem.* 26, 1996, 28-36.
22. Kim W., Gates K.S.: Evidence for thiol-dependent production of oxygen radicals by 4-methyl-5-pyrazinyl-3H-1,2-dithiole-3-thione (oltipraz): possible relevance to the anticarcinogenic properties of 1,2-dithiole-3-thiones. *Chem.Res.Toxicol.* 10, 1997, 296-301.
23. Klener P.: Amifostinum. *Remedia* 8, 1998, 10-14.
24. Kohút A., Kalina I.: Nový prístup k prevencii a liečbe karcinómu - inhibícia cyklooxygenázy? *Slovakofarma Rev.* 8, 1988, 67-70.
25. Kriška M., Fačková D., Kristová V.: Novšie selektívne inhibitory COX-2 - praktický význam alebo teoretická zaujímavosť. *Slovakofarma Rev.* 7, 1997, 95-98.
26. Lippman S.M., Kavanagh J.J., Paredes-Espinosa M. et al.: Retinoid acid plus interferon- α 2a: highly active systemic therapy for squamous cell carcinoma of the cervix. *J.Nat.Cancer Inst.* 84, 1992, 241-246.
27. Lippman S.M., Lee J.J., Sabichi A.L.: Cancer chemoprevention: Progress and promise. *J.Nat.Cancer Inst.* 90, 1998, 1514-1531.
28. Lotan R., Xu X.C., Lippman S.M. et al.: Suppression of retinoid acid receptor-beta in premalignant oral lesions and its up-regulation by isotretinoin. *N.Engl.J.Med* 332, 1995, 1405-1410.
29. Meyskens F.L.: Prevention and treatment of cancer with vitamin A and the retinoids, s.266-273 in: Prasad K.N.: Vitamins, nutrition and cancer. Karger, Basel 1984.
30. Motzer R.J., Schwartz L., Law T.M. et al.: Interferon α 2a and 13-cis retinoid acid in renal cell carcinoma. *J.Clin.Oncol.* 13, 1995, 1950-1957.
31. O'Dwyer P.J., Szarka C.E., Yao K.S. et al.: Modulation of gene expression subjects at risk for colorectal cancer by the chemopreventive dithiolenthione-oltipraz. *J.Clin.Invest.* 98, 1996, 1210-1217.
32. O'Dwyer P.J., Johnson S.W., Khater C. et al.: The chemopreventive agent oltipraz stimulates repair of damaged DNA. *Cancer Res.* 57, 1997, 1050-1053.
33. Osborne C.K.: Molecular targets in breast cancer prevention, s.19-24 in: Perry M.C.(Ed.): ASCO-Educational book, 1998.
34. Pienta K.J., Esper P.S., Zwas F. et al.: Phase II chemoprevention trial of oral fenretinide in patients at risk for adenocarcinoma of the prostate. *Am.J.Clin.Oncol.* 20, 1997, 36-39.
35. Ratko T.A., Detrisac C.J., Rao K.V. et al.: Interspecies analysis of the chemopreventive efficacy of dietary α -difluoromethylornithin. *Anticancer Res.* 10, 1990, 67-72.
36. Reddy B.S., Chinthallapaly V., Seibert K.: Evaluation of cyclooxygenase-2 inhibitor for potential chemopreventive properties in colon carcinogenesis. *Cancer Res.* 56, 1996, 4566-4569.
37. Riendeau D., Charleson S., Cromlish W. et al.: Comparison of the cyclooxygenase-1 inhibitory properties of NSAIDs and selective COX-2 inhibitors. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 75, 1997, 1088-1095.
38. Scott-Mackie P., Hickish T., Mortimer P. et al.: Calcipotriol and regression in T-cell lymphoma of skin. *Lancet* 342, 1993, 172-175.
39. Smalley W.E., DuBois R.N.: Colorectal cancer and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Adv.Pharmacol.* 39, 1997, 1054-1089.
40. Smith M.A., Parkinson D.R., Cheson B.D. et al.: Retinoids in cancer therapy. *J.Clin.Oncol.* 10, 1992, 839-864.
41. Waddell W.R., Loughry R.W.: Sulindac for polyposis of the colon. *J.Surg.Oncol.* 24, 1983, 83-87.
42. Warrell R.P., Coonley C.J., Kempin S.J. et al.: Isotretinoin in cutaneous T-cell lymphoma. *Lancet* 2, 1983, 629.

Podpořeno grantem IGA 4822-3.

JAKÁ JE OPTIMÁLNÍ TERAPIE MLADŠÍCH NEMOCNÝCH S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ?

WHAT IS THE OPTIMAL THERAPY FOR YOUNGER PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA?

J. MAYER

II. INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FN BRNO

Souhrn: Akutní myeloidní leukémie je stále nesmírně závažné onkologické onemocnění, vyžadující neodkladné řešení na specializovaném pracovišti. Neléčená nebo nedostatečně léčená vede v krátké době ke smrti pacienta. V posledních 10 letech bylo dosaženo značného pokroku, takže je dnes možné vyléčit kolem 50 % nemocných. Dnešní moderní terapie akutní myeloidní leukémie je ale velmi razantní, náročná jak pro nemocného, tak pro ošetřující personál, a tak i finančně. Léčba začíná tzv. léčbou indukční, mající za cíl navodit hematologickou remisi. Používá se zde především cytosin arabinosid, antracyklíny a etoposid. Bývá provázána řadou komplikací. Následuje postremisní terapie, která může mít řadu forem a některé se navzájem mohou kombinovat. Nejčastěji je intenzivní konsolidace chemoterapií nebo autologní či alogenní transplantace krvetvorných buněk. V práci jsou všechny tyto postupy velmi podrobně rozebrány. Je diskutováno i použití růstových faktorů a význam prognostických faktorů.

Klíčová slova: akutní myeloidní leukémie, transplantace kostní dřeně

Abstract: Acute myeloid leukemia is still an extremely serious oncological disease that needs prompt treatment at a specialized department. Untreated or insufficiently treated disease leads unavoidably to the patient's death. In the last 10 years, great progress has been achieved, and today it is possible to cure about 50 percent of patients. Modern therapy of acute myeloid leukemia is, however, very aggressive and it brings many complications to the patients as well as to the staff. It is also very expensive. The therapy starts as the induction treatment in order to achieve hematological remission. Cytarabine, anthracyclines, and etoposide are the drugs mostly used. Then, postremission therapy is administered. There are several ways how to perform it and a combination of some procedures is possible. Intensive consolidation using chemotherapy, autologous or allogenic hematopoietic stem cell transplantation is used most frequently. In this review, all these procedures are extensively discussed. The role of hematopoietic growth factors and the importance of prognostic factors is also mentioned.

Key words: acute myeloid leukemia, bone marrow transplantation

Úvod

Akutní myeloidní leukémie (AML) představují skupinu velmi závažných onemocnění. Slovo **akutní** znamená, že jde o onemocnění s prudkým nástupem, velmi často u osob bez jakékoliv známé hematologické choroby v předchorobí. První příznaky onemocnění se objevují zpravidla několik týdnů před zjištěním diagnózy (12). Dále termín akutní vyjadřuje průběh onemocnění. Neléčená nebo nedostatečně léčená choroba nemocného nemilosrdně zahubí většinou během několika týdnů. To je patrné z více starších prací, hodnotících přežití takových nemocných. (12) Boggs et al. udávají medián přežití mezi 2–3 měsíci a podobná data uvádí i Koza et al. (46). Vzhledem k agresivitě tohoto onemocnění představují AML urgentní onkologickou záležitost, vyžadující okamžitou intenzivní léčbu na specializovaném pracovišti. Dnešní moderní terapie AML je velmi razantní a náročná jak pro nemocného, tak pro ošetřující personál a tak i finančně. Patří mezi nejnáročnější onkologické postupy vůbec. Dnešní snažení je však také korunováno úspěchy a je možné říci, že desítky procent nemocných mohou být vyléčeny. Prognóza starších nemocných (nad 50 až 60 let) však zatím i nadále zůstává vážná a léčebné výsledky zdaleka nejsou tak dobré jako u nemocných mladších. Cesta k dnešnímu stavu poznání nebyla jednoduchá. Pravděpodobně nebude na škodu, budou-li velmi stručně připomenuta některá starší základní historická data. Těžiště práce bude potom v rozboru novějších velkých studií, porovnávajících různé léčebné postupy navzájem u nemocných s nově zjištěnou AML. Jiné aspekty problematiky AML, jako je epidemiologie, etiopatogeneza, diagnostika a podpůrná terapie, podrobněji rozváděny nejsou, neboť jde o samostatná a rozsáhlá témata vyžadující vlastní zpracování. Také problematika akutní promyelo-

cytární leukémie nebude podrobněji rozebírána, neboť po objvu významu kyseliny transretinové se strategie její moderní léčby výrazně odlišuje od ostatních typů AML. Tato práce je zaměřena na postupy ověřené většími randomizovanými studiemi a má poskytnout základní přehled dnešních znalostí potřebných pro rozhodnutí o terapii konkrétního nemocného.

Historický přehled

Historie objevu AML a vývoj terapie AML jsou nesmírně zajímavé, ale i poučné. Ukazují nám totiž směry dalšího vývoje této problematiky. Velmi přehledně to popisuje například Henderson (41). Jeho text je živý a poutavý, neboť tento autor byl během svého odborného života svědkem většiny převratných objevů v této oblasti. Nejdůležitější fáze vývoje názorů na AML jsou uvedeny v tabulce č. 1 (podle 41).

Indukční léčba AML

Současná strategie léčby AML je založena na úvodní tzv. indukční léčbě a na léčbě postremisní. **Indukční léčba (induction therapy)** má za cíl navodit kompletní hematologickou remisi onemocnění, **léčba postremisní (postremission therapy)** potom zlikvidovat zbytkovou chorobu a zabránit relapsu a tedy nemocné definitivně vyléčit. Postremisní terapie může obnášet tzv. **konsolidaci remise (consolidation therapy)** konvenční chemoterapií nebo vysokodávkovanou chemoterapií s následným podáním autologních či alogenních krvetvorných buněk (autologní či alogenní transplantace). Tím se léčba nemocného ukončí. Součástí postremisní terapie může ale být i déletrvající cytostatická udržovací terapie, zpravidla nízkými dávkami cytostatik (maintenance therapy). Během celé léčby je nutné velmi šetrně balancovat mezi dvěma nebezpečími:

Tabulka 1. Objev akutní myeloidní leukémie a historický přehled vývoje její terapie.

Objev a rok objevu	Poznámka
Velpeau, 1827, asi první popis onemocnění, které mohlo být leukémií.	
Donné, polovina 19. století. Preciznější popisy onemocnění, které byly asi leukémiemi.	Na jeho pracovišti v Paříži s dr. Benetem popsali nemocné s nahromaděním bílých krvinek v krvi. Domnívali se, že jde o hnis, ale podívovali se, že žádné hnisavé ložisko nebylo nalezeno.
Virchow, 1845, 1846, 1847. Popisy nemocných s onemocněními, která byly leukémiemi. 1847 jím poprvé použit termín leukémie.	Virchow poprvé správně charakterizoval, že nejde o hnisání, ale samostatné onemocnění.
Friedreich, 1857. Rozdělení akutních a chronických leukémií.	
Neumann, 1868. Použit termín myelogenní leukémie.	
Lissauer, 1865, zavedení arzenu do terapie leukémií.	
Začátek 20. Století. Zavedení radioterapie do léčby leukémií.	Léčba leukémií je nicméně dlouhá desetiletí zcela neuspokojivá.
1. a 2. světová válka, náhodné zjištění cytostatických účinků hořčičného bojového plynu.	Krumbhaar a Krumbhaar, 1919, popis těžkých změn v kostní dřeni po použití válečného hořčičného plynu (mustard gas). Při vyšetřování havárie lodi vezoucí tento plyn za 2. světové války bylo zjištěno, že plyn těžce poškozuje kostní dřeň a lymfatické uzliny. Podnítilo to studie na zvířatech a konečně i klinické zkoušení.
Goodman et al., 1946, první podání chemoterapie v léčbě leukémií (nitrogen mustard).	Léčba nebyla úspěšná, nicméně podnícen další intenzivní výzkum cytostatik.
Faber et al., 1948. První použití antifolátů (aminopterin) u leukémií. Překvapivé, ale bohužel jen krátkodobé výsledky.	Cesta k tomuto nebyla jednoduchá. Ehrlich formuloval, že syntetická barviva mohou mít antimikrobiální účinky. Objev salvarsanu. Objev sulfonamidů. Formulace, že některé látky zasahují do normálních metabolických reakcí. Objev kyseliny listové, zjištění její důležitosti pro hemopoezu a syntéza antifolátů.
50. léta 20. století. Objev dalších alkylačních cytostatik – busulfan, chlo-rambucil, cyklofosfamid. Objev dalších antimetabolitů – merkaptopurin a thioguanin.	
60. léta 20. století, objev cytosinarabinosidu, antracyklinů.	
70. léta a až dosud. Dramatické změny. 1976, Bennett et al., FAB klasifikace leukémií. Kombinovaná chemoterapie, postremisní terapie, alogenní a autologní transplantace kostní dřene. Podpůrná terapie, trombo-koncentráty, léčba febrilní neutropenie a mykotických infekcí. Dále bouřlivý rozvoj imunologických technik, cytogenetiky, molekulární biologie.	Důležitá fakta týkající se léčby jsou blíže rozebrána ve vlastním článku.

málo intenzivní terapie sice nemá tolik vedlejších efektů, ale je také méně účinná a ve svém důsledku vede k nižšímu procentu vyléčených; intenzivnější terapie s sebou zase nese riziko závažných vedlejších účinků a úmrtí nemocného na komplikace terapie. V současné době jsou sice tyto výše uvedené zásady léčby AML známy, ale o konkrétním provedení této léčby se neustále vedou spory. Řada nemocných je proto stále zařazována do různých studií a léčebných protokolů, ale i přes intenzivní klinický výzkum zůstává mnoho nejasností. Klasickým indukčním schématem je podání daunorubicinu a cytosinarabinosidu (ara-C). Ara-C je dodnes v léčbě AML zcela klíčový lék. Další častěji zkoumané látky v indukční léčbě nově zjištěných nemocných (ne tedy v relapsu choroby) jsou idarubicin, mitoxantron a etoposid. S těmito léky bylo provedeno více studií, z nichž některé byly rozsáhlé a randomizované.

Cytosinarabinosid

Ara-C se v indukční léčbě ukázal ve velké randomizované studii 352 nemocných účinnější při **kontinuálním iv. podání** než při bolusovém podání iv. dvakrát denně (65). Celkem byly testovány čtyři indukční režimy: ara-C byl podáván 5 nebo 7 dnů v kontinuální iv. infúzi nebo iv. dvakrát denně a daunorubicin jako iv. injekce po dobu dvou nebo tří po sobě jdoucích dnů. Režim nazvaný „7 a 3“ (a označovaný také „3+7“ či „7+3“) se ukázal jako neúčinnější; ara-C byl podáván jako kontinuální iv. infúze v dávce 100 mg/m² denně dny 1-7 a daunorubicin v dávce 45 mg/m² denně dny 1-3. Režim vedl k 59 % kompletních remisí (CR, complete remission) u nemocných

mladších 60 let, 13 % nemocných dosáhlo parciální remise, 8 % na léčbu neodpovídalo a 20 % během indukční terapie zemřelo. Výsledky této studie z roku 1981 vedly k rozšíření tohoto režimu „7 a 3“ jako „zlatého standardu“ pro indukční léčbu AML. Ara-C je sice možné podávat také sc., nicméně v indukční léčbě se většinou používá výše uvedené schéma kontinuální iv. infúze (70).

Byla snaha zvýšit účinnost indukčního režimu **úpravou dávků ara-C**. Její zdvojnásobení ani prodloužení podávání na 10 dnů však k jednoznačně lepším výsledkům nevedlo (25, 64). Podávání dávky 200 mg/m² místo 100 mg/m² vedlo sice k o něco vyššímu počtu kompletních remisí u mladších nemocných, ale jen na hranici statistické signifikance (25). Ani podávání vysokých dávek ara-C během indukční léčby nevedlo k zásadně lepším výsledkům a toxicita této léčby se zvyšovala (8, 9, 77).

Také **přidání thioguaninu** ke standardnímu režimu „7 a 3“ nevedlo k zásadnímu zlepšení tohoto režimu, jak ukázaly výsledky velké randomizované studie (64). Nižší dávkování léků než v běžném „7 a 3“ režimu je ale zřejmě nedostatečné. Ukázala to rozsáhlá britská studie, srovnávající režim DAT 1+5 (daunorubicin 1 den, ara-C a thioguanin 5 dnů) ve srovnání s režimem DAT 3+10 (66).

Antracykliny

Daunorubicin byl první antracyklin zkoušený u nemocných s AML (70). Adriamycin má o něco nižší účinnost a větší tendenci způsobovat mukozitidu. U mladších nemocných se daunorubicin v dávce 45 mg/m²/den po dobu 3 dnů spolu s ara-C

ukázal lepší než daunorubicin v dávce 30 mg/m²/den nebo adriamycin v dávce 30 mg/m²/den (81). Jiné antracykliny, jako aklarubicin a epidoxorubicin, mají asi podobnou účinnost jako daunorubicin (70). Podle výsledků některých studií se zdá, že větší účinnost má **idarubicin** (6, 76, 80). Potvrdily se tak teoretické předpoklady, neboť idarubicin je více lipofilní, lépe proniká do buněk a má delší plazmatický poločas. Berman et al. (6) srovnávali idarubicin (12 mg/m² denně 3 dny) s ara-C (200 mg/m² denně 5 dnů) a daunorubicin (50 mg/m² denně po 3 dny) s ara-C u celkem 120 nemocných mladších 60 let. Nemocní léčení idarubicinem dosáhli CR v 80 % (oproti 58 %), a 75 % z těch, kteří dosáhli CR, jí dosáhli již po první kúře indukční terapie (oproti 49 %). Toxicita obou režimů byla srovnatelná. Podobné výsledky dosáhli i Vogler et al. (76). Naproti tomu Wiernik et al. (80) k takovým jednoznačným závěrům nedošli. Wheatley (78) provedl metaanalýzu všech studií srovnávajících idarubicin s jiným antracyklinem (6krát daunorubicin, jedenkrát doxorubicin a jedenkrát zorubicin) u 1661 nemocných různých věkových skupin. Antracyklin byl vždy podáván spolu s ara-C. Procento CR bylo vyšší u nemocných léčených idarubicinem (68 % oproti 58 %) se statisticky ne zcela nesignifikantní tendencí ke snižování tohoto rozdílu v účinnosti s narůstajícím věkem nemocných. Podle výsledků francouzské studie byly stejné výsledky indukčního režimu idarubicin a ara-C v konvenčních dávkách jako rubidazonu a stejné dávky ara-C (37).

Mitoxantron

Pro indukční terapii byl testován v řadě studií i **mitoxantron**. Arlin et al. (2) srovnávali u 200 nemocných s AML režim „7 a 3“ s mitoxantronem (12 mg/m² denně 3 dny) podávaným s ara-C. Padesát procent nemocných bylo starších 60 let. Nemocní léčení mitoxantronem dosáhli CR v 63 % (oproti 53 %), což nebylo statisticky signifikantní. Z nemocných mladších 60 let dosáhlo CR 80 % nemocných léčených mitoxantronem a 69 % nemocných léčených daunorubicinem. Mitoxantron vedl k rychlejšímu navození remise, častěji již po první indukční terapii. Toxicita obou režimů byla srovnatelná. Wheatley (78) provedl metaanalýzu všech studií srovnávajících mitoxantron s daunorubicinem u 1020 nemocných různých věkových skupin. Mitoxantron i daunorubicin byly vždy podávány spolu s ara-C. Procento CR bylo vyšší u nemocných léčených mitoxantronem (57 % oproti 50 %).

Etoposid

Přidání **etoposidu** v dávce 75 mg/m² a den po dobu 7 dnů ke standardnímu režimu „7 a 3“ bylo testováno v randomizované studii u 264 nemocných oproti režimu „7 a 3“ bez etoposidu (7). Nemocní, kteří dosáhli remise, dostali dvě kúry konsolidáční chemoterapie ve stejném složení cytostatik, jako při indukční léčbě, ale v nižších dávkách. Procento dosažení CR se mezi oběma rameny nelišilo (56 % oproti 59 %). Přidání etoposidu však signifikantně prodloužilo trvání CR. Celkové přežití se však mezi oběma rameny nelišilo. U mladších nemocných, pod 55 let, došlo ale nejen k signifikantnímu prodloužení remise, ale i k prodloužení celkového přežití. U starších nemocných byl etoposid daleko více toxický a bez jednoznačného klinického benefitu.

Hann et al. (36) referují o rozsáhlé studii (britská MRC AML 10 trial), v níž bylo 929 nemocných randomizováno pro indukční režim DAT (daunorubicin, ara-C a thioguanin) a 928 pro režim ADE (ara-C, daunorubicin, etoposid). Ani při velmi pečlivém hodnocení se nezdálo, že by jeden režim měl nějaké jednoznačné výhody před druhým.

Další možnosti

Stále jsou hledány **nové cesty**, jak zlepšit výsledky indukční léčby mladších nemocných s nově diagnostikovanou AML. V současné době jde spíše o nalezení optimální kombinace a dávek léků, jejichž účinnost v této indikaci je již známa, než

o zcela zásadní průlom pomocí nějaké nové technologie. Podívejme se tedy na některé tyto nové postupy blíže. Castaigne et al. (21) srovnávali režim „3+7“ (ale s dávkami daunorubicinu 80 mg/m²/den a ara-C 200 mg/m²/den) s režimem dvojité indukce a s režimem sekvenční indukce. Dvojitá indukce spočívala v podání režimu „3+7“ a v podání mitoxantronu a středně dávkovaného ara-C počínaje 20. dnem léčby. Sekvenční indukce znamenala podání daunorubicinu a ara-C a podání mitoxantronu a středně dávkovaného ara-C počínaje 8. dnem léčby. Celkem bylo léčeno 307 nemocných. Konzolidace konvenční chemoterapií byla stejná u všech nemocných. Třileté přežívání bez příznaků onemocnění bylo signifikantně rozdílné mezi všemi třemi léčenými skupinami, s nejlepšími výsledky při podání sekvenčním.

Dalším nověji zkoušeným režimem, do nějž se vkládají velké naděje, je **režim ICE** (idarubicin, cytosinarabinosid a etoposid). Velmi precizní přehled na toto téma publikovali Bassan a Barburi (5). Existují různá dávkování použitých cytostatik. Dávka idarubicinu kolísá od 5 do 12 mg/m²/den po dobu 3-5 dnů, ara-C od 100 mg/m² do 4 g denně po dobu 5-10 dnů a etoposidu od 75 do 150 mg/m²/den po dobu 3-7 dnů. Konstrukce tohoto režimu je zřejmě a vyplývá z výše uvedených dat: ara-C je standardní, velmi účinný a nepostradatelný lék v terapii AML, idarubicin se jeví jako účinnější než daunorubicin a přidání etoposidu do indukční terapie by mohlo mít také význam pro zlepšení celkových výsledků. ICE však dosud nebyl srovnáván s režimem „7 a 3“ nebo s režimem „7 a 3“ plus etoposid, takže nelze jednoznačně stanovit, je-li skutečně lepší.

Využití hemopoetických růstových faktorů v indukční léčbě

Využití **růstových faktorů G-CSF a GM-CSF** v léčbě AML představuje dodnes velmi kontroverzní problematiku, přestože nyní již existuje značný počet velkých studií. Některé studie byly ale provedeny jen u starších nemocných a těmi se zde nebudeme speciálně zabývat. Je jednoznačně zjištěno, že růstové faktory **mohou potencovat růst leukemických buněk**. Prokázali to například Baer et al. (4) při podání G-CSF dosud neléčeným nemocným s AML. Na druhé straně, podání růstových faktorů by mohlo leukemické buňky „**zeitlivět**“ k následně podané chemoterapii, a nebo by podání růstových faktorů po chemoterapii mohlo příznivě **ovlivnit dřevňový útlum**, který po ní nastává. Proto byla zkoušena různá schémata podávání (před chemoterapií, během ní a po ní) různých růstových faktorů (G-CSF a GM-CSF). Výsledky jsou ale velmi protichůdné. Bylo publikováno snížení (83), neovlivnění (39) i zvýšení procenta navození CR (47), neovlivnění výskytu infekcí (47), zkrácení trvání neutropenie, horečky, podávání antibiotik, délky hospitalizace (40) i zlevnění indukční terapie (50). Bohužel, **žádná studie neprokázala snížení mortality a zvýšení přežívání nemocných**. Zdá se tedy, že růstové faktory lze u pacientů s AML použít, a to nejen během indukce, ale i během postremisní terapie (40, 63). Nepochybně však jejich **použití u mladších nemocných s nově diagnostikovanou AML není standardním postupem**. Závěry přehledných referátů v renomovaných časopisech hovoří, že růstové faktory by mohly být selektivně použity, ale že jsou nutné další studie, sledující také farmakoekonomiku (42), nebo že růstové faktory by se u nemocných s AML neměly používat mimo seriózní kontrolované studie (22).

Selhání indukční léčby

Prognóza nemocných, kteří nedosáhnou po indukční léčbě CR, je velmi vážná. Stav je možné se pokusit ovlivnit některým ze záchranných režimů, kterých je celá řada (70). Ve studii, detailně analyzující 218 takových nemocných, byla odpověď na další intenzivní chemoterapii u 34 % nemocných (48). Někteří nemocní ale nebyli schopni takovou záchrannou chemoterapii již dále podstoupit. Režimy obsahující vysokodávkovaný ara-C byly účinnější než ty, které jej neobsahovaly. Medián přeží-

tí všech nemocných byl pouze 7,3 měsíce. Dosažení CR bylo vysoce signifikantní pro navození výrazně delšího přežití. Někteří nemocní podstoupili transplantaci kostní dřeně, ale 59 % jich zemřelo během prvního roku po výkonu, hlavně na relaps onemocnění. Transplantování ale měli celkově lepší prognózu než ti, kteří tento výkon nepodstoupili, a alogenní transplantace se jevila jako výrazně efektivnější. Dnes se v záchranných režimech zkouší amsakrin, fludarabín, platinová cytotatika (53) a léky k překonání lékové rezistence nádorových buněk. Ani výsledky těchto moderních postupů nejsou jednoznačné a vyžadují další hodnocení.

Velmi jednoduše shrnuto lze říci, že výsledky indukční léčby AML se v posledních 30 letech výrazně zlepšily. Stále však asi jedna třetina nemocných zemře bez dosažení remise. Z těchto nemocných je asi třetina s jednoznačně rezistentním onemocněním a zbývající dvě třetiny zahynou na příčiny spojené s léčbou, často na infekce, ještě před dosažením remise (70).

Postremisní terapie AML

Jakmile bylo možné navodit kompletní remisi u dostatečného počtu nemocných, vznikla otázka, jak tuto remisi udržet. Záhy se totiž ukázalo, že u nemocných, u nichž není po navození remise nějakým způsobem pokračováno v terapii, nemoc rychle relabuje (15, 18, 26). V průběhu zkoumání, jaká postremisní terapie je optimální, se ukázalo, že je možné použít řadu postupů:

1. chemoterapii v konvenčním dávkování, za použití stejných nebo jiných cytostatik, jaká byla použita pro indukční léčbu, udržovací chemoterapii,
2. intenzivní chemoterapii, zpravidla za použití vysokých dávek ara-C,
3. vysokodávkovanou chemoterapii s podporou autologními krvetvornými buňkami,
4. vysokodávkovanou chemoterapii s podporou alogenními krvetvornými buňkami,
5. imunoterapii (interleukin 2, podávání dárcevských lymfocytů v případě relapsu po alogenní transplantaci a nemyeoablativní alogenní transplantace).

Jednotlivé postupy se mohou dále i navzájem kombinovat, například vysokodávkované chemoterapii s autologní transplantací kostní dřeně může předcházet intenzivní konsolidační léčba s použitím vysokodávkovaného ara-C. Problematice postremisní terapie AML bylo věnováno nesčíslné množství publikací. Na tomto místě bude snaha popsat hlavní principy a současné trendy. Velmi cenné jsou rozsáhlé studie z poslední doby, srovnávající několik moderních postupů navzájem. Tyto práce budou rozebrány podrobněji.

Konsolidační terapie konvenčními dávkami cytostatik a udržovací léčba

Data z mnoha starších studií ukázala, že jestliže byla po navození CR podána málo intenzivní konsolidační terapie a na ni navazovala terapie udržovací, bylo možné dosáhnout asi u 20 % nemocných dlouhodobého přežívání a snad i vyléčení (přehled viz 70). Udržovací léčba, byť málo intenzivní, nebyla prosta vedlejších účinků, ale přes její podávání u většiny nemocných došlo k relapsu choroby.

V mnohých studiích byly pro konsolidaci použity podobné léky, jako pro indukční terapii, ale v nižším dávkování. Přehled dat z několika takových studií je uveden v tabulce č. 2. Tyto studie již byly zmíněny v odstavci o indukční terapii.

Dlouhodobá udržovací terapie nízkými dávkami cytostatik je nyní již u mladších nemocných většinou opouštěna. Tomuto tématu se věnovalo několik studií. Jejich porovnání a provedení jednoznačného závěru je ale obtížné, neboť studie se svým provedením lišily. Preisler et al. (64) randomizovali nemocné, kteří se po indukční léčbě dostali do kompletní remise, do dvou skupin: udržovací léčba v trvání 8 měsíců nebo 3 roky. Prognóza nemocných se mezi oběma skupinami neli-

Tabulka 2.

Osud nemocných s AML po konsolidaci konvenční chemoterapií v běžném dávkování.

Autor, rok studie	Indukce	Konsolidace	Medián trvání CR	Medián přežití
Bishop et al., 1990	Daunorubicin a ara-C versus daunorubicin, ara-C a etoposid	Totéž v nižším dávkování, celkem dvakrát, poté udržovací terapie	Nemocní pod 55 let věku: 12 měsíců oproti 27 měsícům	Nemocní pod 55 let věku: 9 měsíců oproti 17 měsícům
Bishop et al., 1996	Daunorubicin etoposid, ara-C versus daunorubicin, etoposid, ara-C ve vysokých dávkách	Daunorubicin, etoposid, ara-C v nízkých dávkách celkem dvakrát, poté udržovací terapie	12 měsíců oproti 45 měsícům	17 měsíců oproti 19 měsícům
Wiernik et al., 1992	Daunorubicin a ara-C versus idarubicin a ara-C	Totéž v nižším dávkování, celkem dvakrát	Neuvedeno	Nemocní pod 60 let věku: 10,7 měsíců oproti 16,5 měsícům
Vogler et al., 1992	Daunorubicin a ara-C versus idarubicin a ara-C	Totéž v nižším dávkování plus thioguanin, celkem třikrát	Neuvedeno	Nemocní pod 50 let věku: 19,5 měsíců oproti 17 měsícům
Arlien et al., 1990	Daunorubicin a ara-C oproti mitoxantronu a ara-C	Totéž v nižším dávkování, celkem dvakrát	Nemocní pod 60 let věku: 6,3 měsíců oproti 7,7 měsícům	Nemocní pod 60 let věku: 12,6 měsíců oproti 14,8 měsícům

¹ Trvání remise počítáno jen u nemocných, u nichž byla remise navozena, a to od data dosažení remise. Celkové přežití bylo počítáno od randomizace, tedy od zahájení terapie. Vzhledem k tomu, že během indukční terapie řada nemocných zemřela, je medián přežití kratší, než medián trvání kompletní remise.

šila. Italská kooperativní skupina GIMEMA provedla studii, v níž byli nemocní po indukční léčbě a čtyřech konsolidačních chemoterapiích obsahujících konvenčně dávkovaný ara-C randomizováni do tří skupin: ukončení léčby, udržovací terapie a intenzivnější postkonsolidační terapie. Mezi těmito třemi skupinami nemocných nebyly rozdíly v přežití nebo v přežití bez známek onemocnění (51). V rozsáhlé britské studii (96) byli nemocní po indukční léčbě a po 4 konsolidačních chemoterapiích v konvenčním dávkování randomizováni mezi možnostmi další udržovací terapie nebo ukončení léčby. Mezi oběma těmito rameny studie nebyl žádný rozdíl v přežití. Pouze se zdálo, že udržovací terapie ze začátku pozdržela nástup relapsů. Podle německé studie (15) by se mohlo zdát, že udržovací terapie má svůj jistý význam. Nicméně je namítáno, že nemocní, kteří udržovací terapii nedostávali, byli léčeni konsolidací jen velmi malé intenzitou (51). Udržovací terapie byla doposud spíše zkoušena u nemocných, kteří byli léčeni konvenčními dávkami cytostatik. Nebyla hodnocena u pacientů, kteří byli léčeni vysokými dávkami ara-C nebo autologní transplantací kostní dřeně.

Studie hodnotící osud nemocných po podání postremisní chemoterapie (bez použití transplantace) je nutné hodnotit opatrně. Dat, uvažujících hodnocení po dostatečně dlouhé době, je málo. Appelbaum a Kopecky (1) hodnotili přežívání pacientů zařazených do tří rozsáhlých SWOG (Southwest Oncology Group) po 8 letech. Pro nemocné mladší 50 let celkové přežívání kolísalo od 14 % do 24 %. Přežívání bez příznaků onemocnění u těchto mladších nemocných, kteří dosáhli navození CR, bylo v rozmezí od 17 do 28 %. Většina relapsů choroby nastala do 3 let, nicméně objevovaly se i relapsy po 5 i více letech. Autoři konstatují, že přes mírný pokrok jsou výsledky samotné chemoterapie skličující.

Intenzivnější konsolidace – lepší léčebné výsledky?

Z výše uvedeného je zřejmé, že po navození remise je nutná další postremisní terapie. Konvenční postremisní chemoterapii již asi nemá smysl dále prodlužovat dlouhodobou udržovací terapií. Zásadní zůstává vysoké procento relapsů. Proto

se nabízí **použití daleko intenzivnější konsolidace po navození kompletní remise onemocnění**. Po předchozích příznivých zprávách byl tento postup testován v řadě rozsáhlých randomizovaných studií.

Cassileth et al. (19) randomizovali nemocné s AML do 65 let věku do tří ramen postremisní terapie: po navození remise byla buďto podávána udržovací terapie po dobu 2 let, nebo jedna dávka velmi intenzivní konsolidace, nebo byla u nemocných mladších 41 let, kteří měli HLA identického sourozence, provedena alogenní transplantace kostní dřeně (alogenní transplantaci bude v tomto přehledu věnována speciální část, viz níže). Původně byla studie randomizována do 4 ramen, čtvrté rameno znamenalo nepodávat po navození CR žádnou další terapii. Pro velmi nepříznivý průběh onemocnění s rychlými relapsy u těchto pacientů ponechaných bez další léčby bylo od tohoto postupu dále upuštěno (tyto výsledky již byly zmíněny výše, (18)). Intenzivní konsolidace znamenala podání: ara-C 3g/m² iv. během 1 hodiny po 12 hodinách, celkem 12 dávek, dny 1-6 a amsakrin 100 mg/m²/den iv. dny 7-9. Pro nemocné mladší 60 let studie ukázala lepší přežívání nemocných bez příznaků onemocnění (28 %) i lepší celkové přežívání ve 4 letech (37 %) pro ty, kteří byli léčeni intenzivní konsolidací ve srovnání s udržovací léčbou (15 % a 27 %). Udržovací terapie byla spjata s malou toxicitou (gastrointestinální, myelosuprese, hepatotoxicita). Naopak intenzivní konsolidace vedla k výrazné myelosupresi, leukopenii spojené se závažnými infekcemi, trombocytopenii spojené s krvácením, hepatotoxicitě a gastrointestinální a cerebelární toxicitě. Mortalita byla u nemocných pod 60 let 13 %.

Mayer et al. (59) provedli rozsáhlou studii, v níž sledovali vliv intenzity konsolidační terapie na osud nemocných po indukční léčbě AML protokolem daunorubicin a ara-C. Srovnávány byly 3 intenzity konsolidace: ara-C 100 mg/m²/den 5 dnů, 400 mg/m²/den 5 dnů nebo 3 g/m² celkem 6 dávek. Tato konsolidační terapie byla podána celkem čtyřikrát. U nemocných starších 60 let se nezjistily rozdíly mezi jednotlivými různě intenzivně léčenými skupinami nemocných a jejich prognóza byla velmi vážná. Vysoké dávky ara-C byly také těmito nemocnými špatně tolerovány. Naopak, u mladších nemocných bylo patrné, že vyšší intenzita konsolidace zabezpečovala vyšší pravděpodobnost přežití bez příznaků onemocnění, která činila u nejintenzivněji léčené skupiny 44 % ve 4 letech. Podobně to platilo pro celkové přežití, které dosahovalo u mladších nemocných s nejintenzivnější konsolidací 52 %. Také u těchto mladších nemocných se vyskytovaly toxické vedlejší účinky a plnou nejvyšší dávku ara-C bylo možné nakonec podat jen 62 % pacientů.

Tyto výsledky jsou velmi nadějné. Ukazují, že **intenzivní konsolidace správně vybalancované intenzity má zásadní význam pro osud nemocných**. Nabízí se však samozřejmě otázka, která konsolidace je nejlepší. Na tuto otázku není jednoduché odpovědět bez rozsáhlých randomizovaných studií. Situace je dále komplikována tím, že intenzivní chemoterapie není jediná možnost, jak provést intenzivní konsolidaci. Dalšími možnostmi jsou vysokodávková chemoterapie s následným podáním křetvorných buněk, ať již autologních, nebo alogenních.

Role růstových faktorů byla poměrně intenzivně studována v případě indukční léčby, ale jejich role je daleko méně známa v případě intenzivní konsolidační terapie. Harousseau et al. (38) se ve své studii zabývali touto otázkou a zjistili, že G-CSF podaný po intenzivní konsolidační terapii zkracuje trvání neutropenie (po vysokodávkovém ara-C s mitoxantronem i po amsakrinu s etoposidem) a může zkrátit hospitalizaci (po amsakrinu s etoposidem). Nebyly však nalezeny signifikantní rozdíly s počtu septických epizod, délce podávání iv. antibiotik ani v přežívání nebo frekvenci relapsů.

Autologní a alogenní transplantace křetvorných buněk

Další zvyšování intenzity konsolidace již vyžaduje podání křetvorných buněk. Po velmi intenzivní konsolidaci by totiž

došlo k závažnému útlumu kostní dřeně, který by byl provázen fatálními komplikacemi. Radu informací ohledně vysokodávkové chemoterapie a transplantace křetvorných buněk jsme již publikovali (54, 55, 56, 57, 58). Obě metody začaly být v léčbě nemocných s AML více uplatňovány od 70. let a od té doby bylo dosaženo značného pokroku. Zprvu byly indikovány jako metody experimentální u nemocných s velmi špatnou prognózou, ale se zlepšováním výsledků byla jejich indikace stále méně konzervativní, takže se nyní dostaly do léčebného schématu u nově diagnostikovaných nemocných **jako plánované metody konsolidace první kompletní remise**. V poslední době jsme svědky prudkého nástupu transplantací periferních kmenových buněk, které u některých indikacích již téměř vytlačily kostní dřeň. Narůstá také počet alogenních transplantací kostních dření od nepříbuzných dárců (unrelated).

V případě **alogenní transplantace** je nutné k protinádorovému účinku vysokodávkové chemoterapie nebo chemo- a chemoradioterapie (celotělové ozáření či jiné metody) přičíst i výrazný **imunitně zprostředkovaný protinádorový efekt přenesený dárcovskými lymfocyty**. Často je sdružen s **potransplantační reakcí štěpu proti hostiteli (GvHD, graft versus host disease)**. Silněji vyjádřená GvHD však zvyšuje morbiditu a mortalitu nemocných po alogenních transplantacích. V případě **autologní transplantace** tento efekt odpadá a navíc je možné riziko „kontaminace“ nemocného po vysokodávkové terapii maligními buňkami, které mohly zůstat v autologním transplantátu. Proto byla testována řada metod „čištění“ (**purging**) autologních transplantátů. Čištění však není všeobecně prováděno a tomuto tématu jsme věnovali samostatné obšírné sdělení (55). Alogenní transplantace tedy skýtá nepochybně větší protinádorový efekt než transplantace autologní, ale je také zatížena nezanedbatelným procentem komplikací. Navíc, jen malá část nemocných má vhodného HLA identického dárce - sourozence. Proto se stále studuje, kdy a u kterých nemocných jakou metodu konsolidace použít. Problematice transplantací, ať již autologních nebo alogenních, bylo věnováno obrovské množství prací a bylo provedeno mnoho studií. AML v první kompletní remisi patří totiž mezi velmi častou indikaci transplantací. Podle údajů Evropské transplantční společnosti (EBMT, European Group for Blood and Marrow Transplantation) bylo v Evropě pro tuto indikaci provedeno celkem 626 alogenních a 596 autologních transplantací kostní dřeně a nebo periferních kmenových buněk z celkového počtu 14593 transplantací. Dále bylo provedeno 667 transplantací u nemocných s AML, kteří nebyli v první CR (35).

Studie srovnávající různé intenzivní postremisní terapie navzájem

V poslední době bylo **publikováno několik velkých multicentrických randomizovaných studií**, které hledaly **optimální konsolidační terapii** u nemocných s AML. Zpravidla porovnávaly intenzivní chemoterapii, autologní a alogenní transplantaci kostní dřeně (14, 17, 19, 20, 34, 37, 49, 67, 69, 82). **Při interpretaci výsledků studií** zabývajících se terapií AML je obecně nutné mít na mysli více skutečností. Rada velkých studií trvala více let a od jejich zahájení do jejich ukončení, analýzy a publikace in extenso mohla uplynout delší doba. Proto **výsledky některých starších prací** nemusí již dnes odpovídat současným výsledkům, neboť medicína doznala značného pokroku. Zdokumentovala to práce, která sledovala výsledky alogenních transplantací v Evropě pro akutní leukémie za roky 1979-1991. Od roku 1987 došlo k výrazné tříleté redukci mortality spjaté s transplantací ze 39 % na 26 % u nemocných s AML, což vedlo ke zvýšení přežití bez známek onemocnění v 5 letech ze 45 % na 57 % ve srovnání s obdobím před rokem 1987. Výsledky měly trvale se zlepšující se tendenci. Například před rokem 1982 byla dvouletá mortalita 44 %, v roce 1992 jen 19 %. Přežití bez známek onemocnění se zlepšilo ze 45 % na 70 %. Vzhledem k tomu, že se za toto

období nezměnila incidence relapsů (kolem 25 %), je zlepšení možné přičíst pouze snížení mortality (30). Interpretace některých výsledků také není jednoduchá z toho důvodu, že mohou existovat **dramatické rozdíly mezi jednotlivými pracovišti**. Ukázala to práce, kterou publikovali Frassoni et al. (31), srovnávající transplantaci výsledky více center. Výsledky jednoho konkrétního pracoviště tak mohou být lepší, ale i horší, než celkové publikované výsledky.

Tyto velké randomizované studie, srovnávající různé typy postremisní terapie, jistě mnoho ukázaly, odpověděly na mnohé otázky, ale nezfídka jejich výsledky vedly k otázkám novým. Je potřeba si uvědomit, že možností, jak konkrétně provést postremisní terapii, je velmi mnoho.

Velmi záleží na **terapii, která předchází odběru autologní kostní dřeně**. Značně intenzivní chemoterapie může vést k malé výtěžnosti odběru kostní dřeně pro transplantaci, málo intenzivní konzolidace zase k přežití většího množství leukemických buněk (tzv. minimální zbytková choroba, minimal residual disease, MRD). Intenzivní konzolidace před odběrem kostní dřeně se někdy také označuje jako **in vivo „purguing“** (37, 73). Její význam je asi značný. Mehta et al. (60) sledovali osud nemocných po autologní transplantaci kostní dřeně a zjistili, že frekvence relapsů byla vyšší a přežití bez známek onemocnění nižší u nemocných, kteří dostali méně než dvě konzolidačních chemoterapie před odběrem autologního transplantátu. Navíc, transplantát může nebo nemusí být určitým způsobem „čištěn“ in vitro (55). Ke zlepšení sledování minimální zbytkové choroby se dnes používají moderní metody, jako průtoková cytometrie, cytogenetika, FISH techniky (fluorescence in situ hybridization) a polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction, PCR).

Nejasná je také **otázka postremisní chemoterapie předcházející alogenní transplantaci**. Je vhodné nějakou podávat, nebo nemocné v remisi rovnou indikovat přímo k vysokodávkované terapii, bez předchozí konsolidační léčby? Málo intenzivní konsolidační léčba může být příčinou častých relapsů (37). Velmi intenzivní konzolidace může na druhé straně způsobit špatnou toleranci následné alogenní transplantace a vysoké procento komplikací (72). Částečně se na tuto otázku pokusila nalézt odpověď studie, kterou provedli Tallman et al. (75) z USA. Jednalo se o analýzu dat 467 nemocných z registru transplantovaných. Neprokázalo se, že by typ konzolidace – řádná, konvenční nebo vysokodávkovaný ara-C měl vliv na přežití. Je nutno ovšem zdůraznit, že šlo o nehomogenní skupinu nemocných, s různými konzolidacemi, transplantovaných v širokém období let 1989 – 1995 celkem 108 týmy, což může zkreslit menší difference. Podobnou studii založenou na analýze dat z registru provedli Cahn et al. (16) v Evropě, pro autologní i alogenní transplantace, ale také bez jednoznačných závěrů.

Vlastní transplantace, jak autologní, tak alogenní, může být provedena **po různých vysokodávkovaných chemo- nebo chemoradioterapeutických režimech**, což se na celkových výsledcích také může projevit. Konečně, jestliže je konsolidace provedena jen chemoterapií, je také mnoho možností, jak ji uskutečnit. Závisí na použitých lécích, jejich dávkách a na počtu chemoterapeutických kúr.

Velmi zjednodušeně lze říci, že alogenní transplantace představuje nejvyšší antileukemický potenciál, ale také nejvyšší mortalitu a morbiditu spjatou s tímto výkonem. Autologní transplantace může dávat o něco lepší výsledky, než intenzivní chemoterapie. Metaanalýzu 7 studií srovnávajících autologní transplantaci kostní dřeně oproti chemoterapii nebo žádné další léčbě provedl Suciu (74). Medián sledování nemocných byl 5,7 roku. Je nutno vzít v úvahu nehomogenitu dat a to, že v případě chemoterapie bylo 21 % nemocných transplantováno po vzniku relapsu a v případě nepokračování v léčbě 19 % nemocných. Tato záchranná terapie autotransplantací může potom ovlivnit celkové přežívání. Po autologní transplantaci je signifikantně méně relapsů, ale vyšší procento úmrtí spojených s výkonem.

Velkým problémem zůstávají i přes vysokodávkovanou chemo- nebo chemoradioterapii a autologní transplantaci kostní dřeně **relapsy onemocnění**. Vzhledem k tomu, že po alogenní transplantaci je frekvence relapsů daleko nižší, byla a je snaha ovlivnit imunitní systém k likvidaci zbytkové choroby i po autologní transplantaci. Rozšířenější bylo používání interleukinu 2. Byl podáván buď po transplantaci (10) nebo také k autolognímu štěpu, s nímž byl inkubován (45). První výsledky však byly negativní (10) nebo jen na úrovni mapování tolerance tohoto postupu (45).

Transplantace kostní dřeně nebo periferních kmenových buněk?

Jak autologní tak alogenní transplantace může být provedena použitím kostní dřeně nebo **periferních kmenových buněk (PBSC, peripheral blood stem cells)**, někdy i kombinací obou těchto transplantátů. Obecně transplantáty PBSC obsahují více progenitorových buněk než kostní dřeň k obnove krvetvorby po transplantaci PBSC bývá rychlejší. V případě alogenní transplantace PBSC je však riziko podání většího množství dárcevských lymfocytů a tedy i intenzivnější reakce GvHD. Nejsou také přesně známa rizika podávání růstových faktorů zdravým dobrovolným dárceům před odběrem transplantátu. Tomuto problému bylo nedávno věnováno rozsáhlé sdělení (Mayer, 1998). Faktem ale je, že použití **PBSC výrazně vytlačují kostní dřeň**. Dokazují to i data, která pravidelně publikuje EBMT (35). V roce 1996 bylo v Evropě provedeno celkem 10200 autologních transplantací a z toho bylo 87 % transplantací PBSC, 10 % transplantací kostní dřeně a 3 % transplantací PBSC i kostní dřeně. Z 4393 provedených alogenních transplantací bylo 26 % transplantací PBSC a 74 % transplantací kostní dřeně. Vidíme tedy, že pro autologní transplantace celkově jasně převažují PBSC (asi devět desetin), pro alogenní transplantace zatím kostní dřeň (asi tři čtvrtiny). Konkrétně u nemocných s AML v první kompletní remisi bylo provedeno celkem 629 alogenních transplantací, z toho 71 % transplantací kostní dřeně. Vidíme tedy, že poměr transplantátů kostní dřeně ku PBSC u nemocných s AML odpovídá celkové proporcii. U nemocných s AML bylo také provedeno 596 autologních transplantací, z toho 57 % transplantací PBSC. Zde vidíme, **že je to daleko menší zastoupení transplantací PBSC než je celkový poměr**. Odráží to určitou obavu z transplantace PBSC u nemocných s AML, neboť stále přežívá mínění, že růstové faktory podávané před odběrem transplantátu PBSC mohou způsobit **větší kontaminaci transplantátu PBSC maligními buňkami**. Může to ale také zohledňovat obtížnou mobilizaci PBSC u nemocných s AML. O čištění autologních transplantátů PBSC u nemocných s AML jsou zatím jen minimální informace. Demirel et al. (24) popisují, že u dvou jejich nemocných s AML ve druhé kompletní remisi došlo do tří dnů po zahájení stimulace periferních kmenových buněk pomocí G-CSF k relapsu onemocnění. Jurado et al. (43) popisují případ nemocného s AML po indukci a konsolidační léčbě v kompletní remisi, u něhož došlo při stimulaci PBSC pomocí G-CSF k masivnímu vyplavování buněk s maligním imunofenotypem. Na možnost vyšší frekvence relapsů u nemocných s AML po autologní transplantaci PBSC upozorňují i Mehta et al. (61).

Problematické transplantace PBSC u nemocných s AML byla věnována řada prací. Bohužel, zatím většinou jen ve formě abstrakt, nebo jde o menší soubory či různá retrospektivní porovnávání. Zdá se však, **že tato transplantace by mohla být bezpečná i u nemocných s AML**. Nepochybně však bude třeba dalších intenzivních výzkumů v této oblasti. Reiffers et al. (68) provedli analýzu dat registru transplantovaných nemocných s AML a zjistili, že typ buněk použitých pro transplantaci (kostní dřeň nebo PBSC) měl význam jen pro rychlost obnovy krvetvorby po transplantaci, ale ne pro incidenci relapsů, mortalitu spjatou s transplantací a nebo přežití nemocných. Pro zdárný průběh sběhu PBSC a následné transplantace je

pravděpodobně velmi důležitá **adekvátní intenzivní konsolidace předcházející sběru, která plní roli in vivo „purgingu“** (33, 52, 71).

Volba terapie podle prognostických faktorů?

V souvislosti se zlepšením léčebných možností AML se začalo studovat, kteří nemocní mají lepší a kteří horší prognózu onemocnění. Na toto téma bylo publikováno mnoho sdělení. Některé tzv. **prognostické faktory** korelují navzájem mezi sebou a nesnesou hodnocení pomocí multivariantní analýzy. Jiné postupně získaly pevné místo, jako například přítomnost nebo nepřítomnost chromozomálních změn. Při hodnocení významu prognostických faktorů je však vždy potřeba mít na mysli tyto **tři okruhy problémů**.

1. Pro co jsou tyto prognostické faktory důležité (navození remise, délka remise, relaps onemocnění...).
2. Jsou prognostické faktory, získané ze starších studií u nemocných léčených z dnešního hlediska málo intenzivně, platné i pro nemocné léčené postupy moderními, například autologní či alogenní transplantací krvinek?
3. Dále se uvažuje o tom, zda nemocného s příznivou prognózou stačí léčit méně intenzivně a tak ho nevystavovat riziku komplikací pramenících z léčby, nebo naopak takového nemocného intenzivně léčit a dosáhnou tak tímto agresivním postupem ještě lepších výsledků.

Již na tomto místě lze říci, že při dnešním stavu vědomostí se na mnohé výše nastolené otázky nedá s jistotou odpovědět a běží studie, které by odpověď přinést mohly.

Závažný prognostický faktor je **věk nemocných**, přičemž starší pacienti mají obecně prognózu velmi špatnou. Celé toto sdělení se však týká nemocných mladších a proto se tímto prognostickým faktorem nebudeme dále podrobněji zabývat.

Významný prognostický ukazatel je také **karyotyp nemocného** (přítomnost či nepřítomnost chromozomálních změn). Bylo to potvrzeno v řadě studií, z nichž některé měly několik set nemocných (3, 44). Ve starších rozsáhlých studiích, v nichž většinou nemocní nebyli léčení vysokými dávkami ara-C nebo transplantací krvinek, se ukázal **karyotyp** jako výrazný prognostický faktor jak pro **navození CR**, tak pro **délku trvání remise** (3, 44). Jako prognosticky příznivé jsou udávány t(8;21), t(15;17) a abnormality chromozomu 16 - inv(16), t(16;16), del(16). Abnormality chromozomu 5 a nebo 7 naopak udávají špatnou prognózu. Karyotyp se podle některých prací ukazuje i jako prognosticky důležitý faktor pro délku remise u nemocných **po konsolidaci** vysokodávkovaným ara-C (11), nebo autologní či alogenní transplantací krvinek (13, 37, 32).

Britští autoři na podkladě jejich studie MRC AML 10 a analýzy osudu 1600 nemocných definovali tři prognostické skupiny podle karyotypu a **dosazení alespoň parciální remise již po první indukční léčbě** (79). Tyto dva prognostické faktory kombinované dohromady velmi dobře odrážely přežití a riziko relapsu, a to i pro nemocné po autologní nebo alogenní transplantaci kostní dřeně.

Má být **nemocný s prognosticky příznivými faktory intenzivně léčen**, aby se u něj dosáhlo co nejlepších léčebných výsledků, nebo tyto prognostické faktory právě zaručují, že k získání dobrých léčebných **výsledků stačí méně agresivní léčba**? Odpovězení této otázky je nesmírně důležité. Zatím jsou k dispozici některá retrospektivně získaná data. Studie, v nichž je léčba upravena podle prognostických faktorů, jsou nyní právě prováděny. Bloomfield et al. (11) provedli hodnocení **výsledků konsolidační léčby různými dávkami ara-C** (nizkodávkovaný, středně dávkovaný, vysokodávkovaný) vzhledem ke třem **prognostickým kategoriím podle karyotypu** nemocných (příznivý, standardní, nepříznivý). Nemocní s nepříznivým karyotypem měli nejkratší délku remise a nejkratší přežití. Jestliže byla každá z těchto prognostických skupin dále rozdělena na tři podskupiny podle dávky ara-C a bylo

sledováno přežití, došlo se k velmi zajímavým výsledkům. Zjednodušeně řečeno, v rámci každé prognostické skupiny byly výsledky nejlepší u nejintenzivněji léčených nemocných. Například medián délky remise u nemocných s příznivou prognózou, ale léčených nízkými dávkami ara-C, byl 15 měsíců, zatímco u nemocných s nepříznivou prognózou, ale intenzivně léčených, byl 14 měsíců. Medián délky remise u nemocných s příznivou prognózou, ale intenzivně léčených, nebyl zatím dosažen. Je však nutné také vědět, **zda podobné zákonitosti platí i pro konsolidace vysokodávkovanou chemoterapií nebo chemoradioterapií a transplantací krvinek**. Z dosavadních dat se zdá, že platí. Metaanalýza 7 studií srovnávajících autologní transplantaci kostní dřeně oproti chemoterapii nebo žádné další léčbě provedl Suciu (74). Autoři udávají, že výhoda autologní transplantace kostní dřeně byla větší u nemocných s příznivým cytogenetickým nálezem. Rozsáhlou retrospektivní studií analyzující význam karyotypu pro prognózu pacientů s AML transplantovaných v první kompletní remisi provedla EBMT (28). Alogenní transplantace kostní dřeně byla provedena u 500 nemocných a autologní transplantace u 499. Cytogenetický nález se ukázal důležitým prognostickým ukazatelem pro frekvenci relapsů, přežití bez známek leukémie i celkové přežití jak pro nemocné po alogenní, tak po autologní transplantaci. Cytogenetický nález t(15;17) byl ve velmi silném vztahu s morfologickým nálezem leukémie typu M3, nález t(8;21) s typem M2 a nález abnormalit chromozomu 16 s typem M4. Při srovnání autologní a alogenní transplantace u nemocných s příznivým cytogenetickým nálezem bylo zjištěno, že alogenní transplantace zajišťuje delší remisi a přežívání bez známek leukémie. Nemocní s nepříznivým cytogenetickým nálezem měli nepříznivou prognózu bez ohledu na typ transplantace.

Podle dosavadních dat se tedy zdá, že alespoň pro některé nemocné může **agresivnější konsolidační léčba přinést lepší léčebné výsledky**. Definitivní zhodnocení však budou muset přinést další studie. Je však pravděpodobné, že přesnější data budou asi získána až při lepší znalosti biologie AML a lepší možnosti nemocné stratifikovat do různých rizikových skupin. Budoucnost by také měla přinést další možnosti terapie, aby bylo možné pro nemocné správnou terapii zvolit ze širšího léčebného repertoáru. Takové možnosti se nyní ukazují pro akutní promyelocytární leukémii (M3) a její léčba se rychle stala dosti odlišnou od léčby ostatních AML.

Dlouhodobé následky léčby AML

Vzhledem k zásadně nepříznivému průběhu onemocnění AML byla veškerá snaha zaměřena na to, aby alespoň někteří nemocní přežili. V souvislosti s léčebnými úspěchy se nyní ukazují také jako důležité volit léčebné postupy s ohledem **na kvalitu života nemocných a možné dlouhodobé následky**. Tomuto tématu by bylo možné věnovat samostatné rozsáhlé sdělení. Některé aspekty již byly ale podrobněji probírány, zvláště v souvislosti s vysokodávkovanou terapií (chronická GvHD, sterilita, zvýšené riziko sekundárních malignit (57)). Zittoun et al. (84) provedli podrobné hodnocení kvality života nemocných, kteří byli léčení v rámci konsolidace intenzivní chemoterapií nebo vysokodávkovanou chemoterapií s autologní či alogenní transplantací kostní dřeně (randomizovaná studie EORTC a GIMEMA). V řadě ukazatelů dopadla alogenní transplantace nejhůře, následovaná autologní transplantací a chemoterapií. Důležité však podotknout, že antileukemická účinnost alogenní transplantace byla nejvyšší. Více studií ale také ukázalo, že nemocní, kteří jsou v kompletní remisi déle než 2 - 3 roky, mají vysokou pravděpodobnost vyléčení a jsou často schopni vrátit se do práce. V ohrožení jsou ti, kteří mají chronickou GvHD vyžadující imunosupresi (23, 29, 62).

Závěr

Dnešními metodami je možné doslova vyrvat ze spárů smrti kolem 50 % mladších nemocných s AML. Boj s touto zákeř-

nou chorobou je velmi tvrdý a nemilosrdný a mnoho nemocných při něm, bohužel, zahyne. Nezanedbatelné riziko zde představuje vlastní léčba. Léčba AML je komplikovaná, má mnoho možností a variant a patří nepochybně mezi nejsložitější terapeutické postupy vůbec, nejen v rámci onkologie. Kladu vysoké nároky na vybavení a zkušenosti pracoviště a také na zázemí celé nemocnice.

Indukční léčba má za cíl navodit kompletní hematologickou remisi onemocnění. Jejím základem jsou ara-C a antracyklinová cytostatika (daunorubicin, idarubicin), případně mitoxantron a nebo etoposid. Po indukční léčbě musí nutně následovat léčba postremisní (konsolidace remise), vedoucí k likvidaci zbytkové nemoci, kterou lze provést jak vyššími dávkami některých cytostatik (ara-C, mitoxantron, antracykliny, amsakrin, etoposid), tak vysokodávkovanou chemo- nebo chemoradioterapií a autologní či alogenní transplantací krvinek.

ných buněk. Všechny tyto postupy mají své přednosti a zápory a není jednoduché jednoznačně jeden upřednostnit nad ostatními, poněvadž hodnocení je nutné provádět z řady zorných úhlů. Obecně, větší intenzita léčby se sebou nese větší anti-leukemický účinek, ale také větší toxicitu.

Přes všechnu tuto závažnou různorodost je však možné říci, že jsme se dnes přiblížili s intenzitou léčby na samou hranici ušlechtilé toxicity a že se stávajícími léčebnými postupy není možné dosáhnout zásadních převratných změn, ale jen menších či větších vylepšení optimalizací jednotlivých prováděných kroků. I tak jsou dnešní výsledky povzbudivé a je možné řadu nemocných s AML trvale vyléčit.

Poděkování: autor děkuje a je velmi zavázán prof. MUDr. K. Indrákovi, DrSc., za přečtení rukopisu a cenné rady a připomínky.

Literatura

- Appelbaum F.R., Kopecky K.J.: Long-term survival after chemotherapy of acute myeloid leukemia. *Cancer* 80, 1997, No 11, Suppl., 2199-2204.
- Arlin Z., Case D.C., Moore J. et al.: Randomized multicenter trial of cytosine arabinoside with mitoxantrone or daunorubicin in previously untreated adult patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Leukemia* 4, 1990, 177-183.
- Arthur D.C., Berger R., Colomb H.M. et al.: The clinical significance of karyotype in acute myelogenous leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 40, 1989, 203-216.
- Baer M.R., Bernstein S.H., Brunetto V.L.: Biological effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients with untreated acute myeloid leukemia. *Blood* 87, 1996, 1484-1494.
- Bassan R., Barbui T.: Remission induction therapy for adults with acute myelogenous leukemia: towards the ICE age? *Haematologica* 80, 1995, 82-90.
- Berman E., Heller G., Santorsa J. et al.: Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood* 77, 1991, 1666-1674.
- Bishop J.F., Lowenthal R.M., Joshua D. et al.: Etoposide in acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 75, 1990, 27-32.
- Bishop J.F., Matthews J.P., Young G.A. et al.: A randomized study of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood* 87, 1996, 1710-1717.
- Bishop J.F., Lowenthal R., Joshua D. et al.: Etoposide in leukemia. *Cancer* 67, 1991, 285-291.
- Blaise D., Attal M., Reiffers J. et al.: Randomized study of interleukin 2 after autologous bone marrow transplantation in 130 patients with acute leukemia in first complete remission. Results of a multicentric trial with a 5 year followup. *Blood* 90, 1997, No 10, Suppl. 1, abstract No 491.
- Bloomfield C.D., Lawrence D., Arthur D.C. et al.: Curative impact of intensification with high-dose cytarabine in acute myeloid leukemia varies by cytogenetic group. *Blood* 84, 1994, No 10, Suppl. 1, abstract No 431.
- Boggs D.R., Wintrobe M.M., Carter G.E.: The acute leukemias. Analysis of 322 cases and review of the literature. *Medicine* 42, 1962, 163-225.
- Burnett A.K., Goldstone A.H., Stevens R.M.F. et al.: Biological characteristics of disease determine the outcome of allogeneic or autologous BMT in AML CR1. *Blood* 86, 1995, No 10, Suppl. 1, abstract No 2452.
- Burnett A.K., Goldstone A.H., Stevens R.M.F. et al.: Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. *Lancet* 351, 1998, 700-708.
- Büchner T., Urbanitz D., Hiddemann W. et al.: Intensified induction and consolidation with or without maintenance chemotherapy for acute myeloid leukemia (AML): two multicenter studies of the German AML Cooperative Group. *J. Clin. Oncol.* 3, 1985, 1583-1589.
- Cahn J.Y., Labopin M., Gorin N.C.: Impact of cytosine - arabinoside (Ara-C) dose given at induction _ consolidation before allogeneic or autologous stem cell transplantation for acute myeloblastic leukemia in first remission. *Blood* 90, 1997, No 10, Suppl. 1, abstract 1002.
- Cahn J.Y., Labopin M., Schattenberg A. et al.: Allogeneic bone marrow transplantation for acute leukemia in patients over the age of 40 years. *Leukemia* 11, 1997, 416-419.
- Cassileth P.A., Harrington D.P., Hines J.D. et al.: Maintenance chemotherapy prolongs remission duration in adult acute nonlymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 6, 1988, 583-587.
- Cassileth P.A., Lynch E., Hines J.D. et al.: Varying intensity of postremission therapy in acute myeloid leukemia. *Blood* 79, 1992, 1924-1930.
- Cassileth P., Harrington D., Paicetta E.: Comparison of autologous bone marrow transplant with high-dose cytarabine in adult acute myeloid leukemia in first remission: an ECOG intergroup study. *Proc. of ASCO* 33, 1997, abstract No 311.
- Castaing S., Archimbaud E., Bordessoule D. et al.: Sequential induction or double induction chemotherapy increase disease free survival compared to „3+7“ chemotherapy in less than 50 years adults with acute myeloid leukemia. *Blood* 88, 1996, No 10, Suppl. 1, abstract No 1153.
- Croockewit A.J., Bronchud M.H., Aapro M.S. et al.: A european perspective on haematopoietic growth factors in haemato-oncology: report of an expert meeting of the EORTC. *Eur. J. Cancer* 33, 1997, 1732-1746.
- De Lima M., Strom S.S., Keating M. et al.: Implications of potential cure in acute myelogenous leukemia: development of subsequent cancer and return to work. *Blood* 90, 1997, 4719-4724.
- Demirer T., Buckner C.D., Appelbaum F.R. et al.: Rapid engraftment after autologous transplantation utilizing marrow and recombinant granulocyte colony - stimulating factor - mobilized peripheral blood stem cells in patients with acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 15, 1995, 915-922.
- Dillman R.O., Davis R.B., Green M.R. et al.: A comparative study of two different doses of cytarabine for acute myeloid leukemia: a phase III trial of Cancer and Leukemia Group B. *Blood* 78, 1991, 2520-2526.
- Embury S.H., Elias L., Heller P.H. et al.: Remission maintenance therapy in acute myelogenous leukemia. *West. J. Med.* 126, 1977, 267-272.
- Ferrant A., Doyen C., Delannoy A. et al.: Karyotype in acute myeloblastic leukemia: prognostic significance in a prospective study assessing bone marrow transplantation in first remission. *Bone Marrow Transplant.* 15, 1995, 685-690.
- Ferrant A., Labopin M., Frassonni F. et al.: Karyotype in acute myeloblastic leukemia: prognostic significance for bone marrow transplantation in first remission: a European Group for Blood and Marrow Transplantation study. *Blood* 90, 1997, 2931-2938.
- Frassonni F., Labopin M., Gluckman E. et al.: Are patients with acute leukemia, alive and well 2 years post bone marrow transplantation cured? A european survey. *Leukemia* 8, 1994, 924-928.
- Frassonni F., Labopin M., Gluckman E. et al.: Results of allogeneic bone marrow transplantation for acute leukemia have improved in Europe with time - a report of the Acute leukemia working party of the European group for blood and marrow transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant.* 17, 1996, 13-18.
- Frassonni F., Labopin M., Gorin N.C.: Importance of a centre effect on the outcome of patients allografted for AML in first remission. *Bone Marrow Transplant.* 21, 1998, Suppl. 1, abstract No 36.
- Gale R.P., Horowitz M.M., Weiner R.S. et al.: Impact of cytogenetic abnormalities on outcome of bone marrow transplants in acute myelogenous leukemia in first remission. *Bone Marrow Transplant.* 16, 1995, 203-208.
- Gondo H., Harada M., Miyamoto T. et al.: Autologous peripheral blood stem cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 20, 1997, 821-826.
- Gorin N.C., Labopin M., Fouillard L. et al.: Retrospective evaluation of autologous bone marrow transplantation vs allogeneic bone marrow transplantation from an HLA identical related donor in acute myelocytic leukemia. A study of the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transpl.* 18, 1996, 111-117.
- Gratwohl A., Passweg J., Baldomero H., Hermans J.: Blood and marrow transplantation activity in Europe 1996. *Bone Marrow Transplant.* 22, 1998, 227-240.
- Hann I.M., Stevens R.F., Goldstone A.H. et al.: Randomized comparison of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and young adults with acute myeloid leukemia. Results of the medical research council's 10th AML trial (MRC AML 10). *Blood* 89, 1997, 2311-2318.
- Harousseau J.L., Cahn J.Y., Pignon B. et al.: Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. *Blood* 90, 1997, 2978-2986.
- Harousseau J.L., Witz F., Desablens B. et al.: G-CSF after intensive consolidation chemotherapy in acute myeloid leukemia. *Blood* 90, 1997, No 10, Suppl. 1, abstract No 2249.

39. Heil G., Herrmann F., Hoelzer D. et al.: GM-CSF priming in the therapy of de-novo AML patients: an update of a double – blind randomized placebo controlled trial. *Blood* 88, 1996, No 10, Suppl. 1, abstract No 828.
40. Heil G., Hoelzer D., Sanz M.A. et al.: A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of filgrastim in remission induction and consolidation therapy for adults with de novo acute myeloid leukemia. *Blood* 90, 1997, 4710-4718.
41. Henderson E.S.: History of Leukemia. In: Henderson E.S., Lister T.A., Greaves M.F. (eds.): *Leukemia*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1996, 1-7.
42. Johnson P.R.E., Yin J.A.L.: The role of granulocyte- and granulocyte – macrophage – colony – stimulating – factors in the treatment of acute myeloid leukemia. *Brit. J. Haematol.* 97, 1997, 1-8.
43. Jurado M., Delgado C., Moretalla A. et al.: Use of rhG-CSF in the collection of peripheral blood stem cells for autologous blood stem cell transplantation in acute myeloblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 18, 1996, 821-822.
44. Keating M.J., Smith T.L., Kantarjian H. et al.: Cytogenetic pattern in acute myelogenous leukemia: a major reproducible determinant of outcome. *Leukemia* 2, 1988, 403-412.
45. Klingemann H.G., Eaves C.J., Barnett M.J. et al.: Transplantation of patients with high risk acute myeloid leukemia in first remission with autologous marrow cultured in interleukin-2 followed by interleukin-2 administration. *Bone Marrow Transplant.* 14, 1994, 389-396.
46. Koza V., Švojgrová M., Šlechtová J., Pittrová H.: Vývoj léčby akutních myeloidních leukémií na I. Interní klinice v Plzni. *Vnitřní lékař.* 37, 1991, 160-165.
47. Link H., Wandt H., Schonbrock-Nabulsi P. et al.: G-CSF (lenograstim) after chemotherapy for acute myeloid leukemia: a placebo controlled randomized trial. *Exp. Hematol.* 25, 1997, No 8, abstract No 35.
48. Liso V., Iacopino P., Avvisati G. et al.: Outcome of patients with acute myeloid leukemia who failed to respond to a single course of first-line induction therapy: a GINEMA study of 218 unselected consecutive patients. *Leukemia* 10, 1996, 1443-1452.
49. Löwenberg B., Verdonck L.J., Dekker A.W. et al.: Autologous bone marrow transplantation in acute myeloid leukemia in first remission: results of a Dutch Prospective Study. *J. Clin. Oncol.* 8, 1990, 287-294.
50. Lu Z. J., Luo R., Erder H. et al.: Cost impact of filgrastim as an adjunct to chemotherapy for patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 88, 1996, No 10, Suppl. 1, abstract No 826.
51. Mandelli F., Vegna M.L., Avvisati G. et al.: A randomized study of the efficacy of postconsolidation therapy in adult acute nonlymphocytic leukemia: a report of the Italian Cooperative Group GIMEMA. *Ann. Hematol.* 64, 1992, 166-172.
52. Martín C., Torres A., León A. et al.: Autologous peripheral blood stem cell transplantation mobilized with G-CSF in AML in first complete remission. Role of intensification therapy in outcome. *Bone Marrow Transplant.* 21, 1998, 375-382.
53. Mayer J., Adam Z., Hájek R., Vorlíček J.: Využití cisplatinu a karboplatiny pro léčbu pacientů s leukémiemi. *Hematológia a transfuziologie* 3, 1994, 48-59.
54. Mayer J., Vorlíček J.: Transplantace kmenových krvetvorných buněk periferní krve. Část I-3. *Vnitřní lékař.* 41, 1995, 258-270.
55. Mayer J., Kobylka P.: „Čištění“ kostní dřeně před autologní transplantací oxazafosforinovými cytostatiky (4-hydroperoxycyklofosfamidem a mafosfamidem). *Vnitřní lékař.* 43, 1997, 474-480.
56. Mayer J., Krahulová M., Vorlíček J.: Profylaxe časných komplikací spojených s alogenní transplantací krvetvorných progenitorových buněk periferní krve nebo kostní dřeně. *Klinická onkologie* 10, 1997, 115-115.
57. Mayer J., Vorlíček J.: Vysokodávkovaná chemoterapie s transplantací krvetvorných buněk v komplexní léčbě zhoubných nádorů. Brno, Masarykova univerzita, 1997, 70 s.
58. Mayer J.: Nahradi transplantace alogenních kmenových buněk kostní dřeně? *Klinická onkologie* 11, 1998, 33-40.
59. Mayer R.J., Davis R.B., Schiffer C.A. et al.: Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 331, 1994, 896-903.
60. Mehta J., Powles R., Singhal S. et al.: Autologous bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia in first remission: identification of modifiable prognostic factors. *Bone Marrow Transplant.* 16, 1995, 499-506.
61. Mehta J., Powles R., Singhal S., Treleaven J.: Peripheral blood stem cell transplantation may result in increased relapse of acute myeloid leukaemia due to reinfusion of a higher number of malignant cells. *Bone Marrow Transplant.* 15, 1995, 652-653 (a).
62. Mehta J., Powles R., Treleaven J. et al.: Long-term outcome of patients who are alive and well two years after allografting for acute leukaemia. *Bone Marrow Transplant.* 21, 1998, Suppl. 1, abstract No 26.
63. Moore J.O., Dodge R.K., Amrein P.C. et al.: Granulocyte – colony stimulating factor (filgrastim) accelerates granulocyte recovery after intensive postremission chemotherapy for acute myeloid leukemia with aziridinyl benzoquinone and mitoxantrone: Cancer and leukemia group B study 9022. *Blood* 89, 1997, 780-788.
64. Preisler H., Davis R. B., Kirshner J. et al.: Comparison of three remission induction regimens and two postinduction strategies for the treatment of acute nonlymphocytic leukemia: a cancer and leukemia group B study. *Blood* 69, 1987, 1441-1449.
65. Rai K. R., Holland J. F., Glidewell C. J. et al.: Treatment of acute myelocytic leukemia: A study by cancer and leukemia group B. *Blood* 58, 1981, 1203-1212.
66. Rees J. K., Gray R. G., Wheatley K. et al.: Dose intensification in acute myeloid leukaemia: greater effectiveness at lower cost. Principal report of the Medical Research Council's AML9 study. *Brit. J. Haematol.* 94, 1996, 89-98.
67. Reiffers J., Stoppa A. M., Attal M. et al.: Allogenic vs autologous stem cell transplantation vs chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia in first remission: the BGMT 87 study. *Leukemia* 10, 1996, 1874-1882.
68. Reiffers J., Labopin M., Sanz M. et al.: The source of stem cells does not affect the outcome of patients undergoing autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first remission. *Blood* 88, 1996, No 10, Suppl. 1, abstract No 2724.
69. Ringden O., Labopin M., Gluckman E. et al.: Donor search or autografting in patients with acute leukemia who lack an HLA – identical sibling? A matched – pair analysis. *Bone Marrow Transplant.* 19, 1997, 963-968.
70. Rohatiner A., Lister T.A.: Acute myelogenous leukemia in adults. In: Henderson E.S., Lister T.A., Greaves M.F. (eds.): *Leukemia*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1996, 479-508.
71. Schiller G., Lee M., Miller T. et al.: Transplantation of autologous peripheral blood progenitor cells procured after high-dose cytarabine – based consolidation chemotherapy for adults with acute myelogenous leukemia in first remission. *Leukemia* 11, 1997, 1533-1539.
72. Sierra J., Brunet S., Granena A. et al.: Feasibility and results of bone marrow transplantation after remission induction and intensification chemotherapy in de novo acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 14, 1996, 1353-1363.
73. Stein A.S., O'Donnell M.R., Chai A. et al.: In vivo purging with high-dose cytarabine followed by high-dose chemoradiotherapy and reinfusion of unpurged bone marrow for adult acute myelogenous leukemia in first complete remission. *J. Clin. Oncol.* 14, 1996, 2206-2216.
74. Suciu S.: Meta analysis of randomized trials comparing autologous BMT (ABMT) vs chemotherapy or ABMT vs no further treatment as post-remission treatment in adult AML patients. *Blood* 90, 1997, No 10, Suppl. 1, abstract 492.
75. Tallman M.S., Rowlings P.A., Milone G. et al.: Role of postremission chemotherapy in recipients of HLA – identical sibling transplants for acute myelogenous leukemia in first remission. *Blood* 90, 1997, No 10, Suppl. 1, abstract 1117.
76. Vogler W.R., Velez-Garcia E., Weiner R.S.: A phase III trial comparing idarubicin and daunorubicin in combination with cytarabine in acute myelogenous leukemia: a southeastern cancer study group study. *J. Clin. Oncol.* 10, 1992, 1103-1111.
77. Weick J., Kopecky K., Appelbaum F. et al.: A randomised investigation of high-dose (HDAC) versus standard dose (SDAC) cytosine arabinoside with daunorubicin (DNR) in patients with acute myelogenous leukemia. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 11, 1992, 856.
78. Wheatley K.: Meta-analysis of randomized trials of idarubicin or mitoxantrone versus daunorubicin as induction therapy for acute myeloid leukemia. *Blood* 86, 1995, No 10, Suppl. 1, abstract No 1724.
79. Wheatley K., Burnett A., Goldstone A. et al.: A simple, robust and highly predictive prognostic index for the determination of risk directed therapy in acute myeloid leukaemia (AML) derived from the United Kingdom Medical Research Council (MRC) AML 10 trial. *Blood* 86, 1995, No 10, Suppl. 1, abstract No 2381.
80. Wiernik P.H., Banks P.L.C., Case D.C. et al.: Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 79, 1992, 313-319.
81. Yates J., Glidewell O., Wiernik P.: Cytosine arabinoside with daunorubicin or adriamycin for therapy of acute myelocytic leukemia: a CALGB study. *Blood* 60, 1982, 454-462.
82. Zittoun R.A., Mandelli F., Willemze R. et al.: Autologous or allogenic bone marrow transplantation with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N. Engl. J. Med.* 332, 1995, 217-223.
83. Zittoun R., Suciu S., Mandelli F. et al.: Granulocyte – macrophage colony – stimulating factor associated with induction treatment of acute myelogenous leukemia: a randomized trial by the European organization for research and treatment of cancer leukemia cooperative group. *J. Clin. Oncol.* 14, 1996, 2150-2159.
84. Zittoun R., Suciu S., Watson M. et al.: Quality of life in patients with acute myelogenous leukemia in prolonged first complete remission after bone marrow transplantation (allogenic or autologous) or chemotherapy: a cross-sectional study of the EORTC-GIMEMA AML 8A trial. *Bone Marrow Transplant.* 20, 1997, 307-315.

MOBILIZACE HEMATOPOETICKÝCH KMENOVÝCH BUNĚK A MOŽNÉ POSTUPY U TZV. OBTÍŽNĚ MOBILIZOVATELNÝCH NEMOCNÝCH

MOBILIZATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS AND POSSIBLE STRATEGIES IN THE HARD-TO MOBILIZE PATIENTS

CETKOVSKÝ P.

Hematologicko-onkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň

Souhrn: Vysoké dávky chemoterapie s následnou transplantací autologních kmenových buněk krvetvorby se staly běžnou léčebnou metodou pro mnoho nemocných s malignitami. Lékař pečující o tyto nemocné po transplantaci se nyní setkává s nezvykle rychlým příhojením štěpu, nicméně asi u 10% až 40% nemocných lze pozorovat prodloužení doby, než dojde k normalizaci hodnot trombocytů (na rozdíl od leukocytů, kde normalizace hodnot je u většiny nemocných promptní). Rychlost příhojení štěpu závisí na množství transplantovaných CD34+ buněk na kilogram hmotnosti. Za ideální dávku CD 34+ buněk, která vede k rychlému příhojení trombocytů i neutrofilních leukocytů, je nejčastěji považována hodnota více než 2.5×10^6 CD 34+ buněk na kg hmotnosti příjemce. Nemocní, u kterých po prvním mobilizačním schématu opakovanými aferézami nelze nastřídat toto tzv. ideální množství (více než 2.5×10^6 CD 34+ buněk /kg), se označují jako obtížně mobilizovatelní nemocní. Strategie, které mohou použít transplantáční centra u těchto obtížně mobilizovatelných pacientů, jsou následující :

1. Neprovádět vysocedávkovanou léčbu.
2. Provést vysocedávkovanou léčbu, ale transplantovat méně než ideální množství CD 34+ buněk.
3. Provést remobilizaci za využití stejného mobilizačního protokolu, který byl již použit poprvé (identický postup v časovém odstupu může vyústit ve sklizeň přibližně stejného množství CD 34+ buněk), nebo rozdílného mobilizačního protokolem.
Pro remobilizaci jiným mobilizačním schématem lze použít následující postupy :
 - a) Remobilizace kombinací mobilizačních prostředků (chemoterapie s cytokiny).
 - b) Remobilizace aplikací zvýšené dávky cytokinu.
 - c) Remobilizace kombinací cytokinů působících v časně i pozdní fázi hematopoese (PIXY 321 nebo kombinace G-CSF se stem cell factorem, interleukinem 3, GM-CSF, trombopoetinem, erythropoetinem, atd).
 - d) Remobilizace jinou formou rekombinovaného G-CSF.
4. Provést odběr kostní dřeně.

V práci jsou detailně probrána jednotlivá mobilizační schémata a doporučení jejich použití, rovněž je upozorněno na jejich finanční náročnost či obtížnou proveditelnost v praxi.

Klíčová slova: mobilizace kmenových buněk krvetvorby - remobilizace kmenových buněk krvetvorby - autologní transplantace kmenových buněk krvetvorby - cytokiny - vysoké dávky chemoterapie - granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)

Abstract: Autologous blood stem cell transplantation to support high-dose chemotherapy has become commonplace for a variety of tumor types. Transplant physicians have become accustomed to rapid hematopoietic engraftment, but 10%-40% of patients have delayed platelet engraftment (neutrophil recovery is prompt in nearly all patients). Rapidity of engraftment is directly correlated to the number of CD34+ cells infused per kilogram body weight. The optimal cell dose for rapid hematopoietic recovery for neutrophils (and in the majority of patients also for platelets) is 2.5×10^6 CD34+cells/kg. Patients who, after repeated aphereses, do not reach this ideal cell dose (more than 2.5×10^6 CD34+cells/kg) are defined as „hard-to mobilize“ patients. Strategies used by transplant centers in these bad mobilizers are :

1. Do not perform this treatment strategy.
2. Performe transplantation with a less than ideal CD34+ cell dose.
3. Performe remobilization with the identical (identical regimen separated in time from the first mobilization usually yields the same number of CD34+ cells) or different mobilizing regimen.
For remobilization with different regimens, we can use:
 - a) Remobilization with combination of chemotherapy plus cytokines.
 - b) Remobilization using dose-escalation of available cytokines.
 - c) Remobilization using the combination of early- and late-acting cytokines (PIXY 321 or G-CSF in combination with stem cell factor, interleukin 3, GM-CSF, thrombopoetin, erythropoetin, etc).
 - d) Remobilization using a different form of G-CSF.
4. Performe bone marrow harvesting.

Detailed mobilization schemes, recommendation, as well as the expense and practicality of all these options, are discussed.

Key words: mobilization of hematopoietic stem cells - remobilization of hematopoietic stem cells - autologous hematopoietic stem cell transplantation - cytokines - high-dose chemotherapy - granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)

Podstata vysocedávkované chemoterapie

Vysoké dávky chemoterapie (high-dose chemotherapy - HDCH) s následnou transplantací autologních kmenových buněk krvetvorby (blood stem cell transplantation - BSCT) se staly běžnou léčebnou metodou nejen pro mnoho nemocných s hematologickými malignitami (hlavně s leukémiemi a lymfomy), nýbrž i pro některé vybrané nemocné s tzv. solidními nádory (např. tumory varlat, centrálního nervového systému,

prsu, apod.). Použití vysokých dávek chemoterapie, často až na hranici maximální tolerované dávky, vychází z experimentálně i klinicky ověřené koncepce tzv. dose intensity: vyšší dávka vyprodukuje větší léčebný účinek. Letální hematologickou toxicitu těchto obrovských dávek lze efektně obehít pomocí BSCT (hematopoetické buňky se předem odeberou a kryokonzervují). Bez autologní BSCT by totiž po podání HDCH došlo nejen k likvidaci nádoru (v ideálním případě),

ale i k mnoho týdnů trvajícím akutnímu dřeňovému útlumu. Důsledkem BSCT je tedy urychlení rekonstituce hematopoese, čímž se doba těžké dřeňové aplázie zkracuje ze 4 a více týdnů i na 8 a méně dní.

Mobilizace CD 34+ buněk

Hematopoetické kmenové a progenitorové buňky lze použitím průtokové cytometrie poměrně rychle a spolehlivě identifikovat dle přítomnosti typického antigenu na jejich povrchu, označovaného jako antigen CD 34 (vyskytuje se jen na nejvíce nezralých hematopoetických buňkách: od kmenových buněk až po progenitorové). Hematopoetické kmenové či progenitorové buňky se donedávna získávaly takřka výhradně z kostní dřeně. Nemožnost získat dostatečné množství CD 34+ buněk, například následkem postižení kostní dřeně nádorem či předcházejícím ozařováním, vedlo k hledání alternativního zdroje těchto buněk. Zjistilo se, že CD 34+ buňky cirkulují za normálních podmínek (tzv. steady-state či resting state) ve velmi malém množství i v periferní krvi. Velkým objevem bylo poznání, že tyto CD 34+ buňky se mohou vyplavit do periferní krve až ve 100x vyšší počtu během odeznívání aplázie po podání vysokých dávek některých cytostatik. Převratné však bylo zjištění, že při leukocytóze, která se objeví jako následek podávání rekombinantních hematopoetických růstových faktorů stimulujících granulocytární kolonie: granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) či granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), dochází nejen ke zvýšení počtu cirkulujících zralých leukocytů, ale též CD 34+ buněk. G-CSF či GM-CSF se však používají nejen k mobilizaci kmenových buněk (což je tématem tohoto sdělení), ale jejich další významnou indikací (u nemocných, u nichž je plánována HDCH) je podávání v období po BSCT (7,8,24). Od roku 1986 se počaly poprvé klinicky k transplantacím používat též CD 34+ buňky získané z periferní krve (peripheral blood stem cell transplantation - PBSCT). K vyplavení CD 34+ buněk z kostní dřeně se provádí tzv. mobilizace podáváním cytokinů (nejčastěji G-CSF) či aplikací kombinace chemoterapie a cytokinu. V současnosti se při autologních transplantacích tohoto zdroje užívá v naprosté většině, odběr kostní dřeně se provádí často jen v případech, kdy nelze buňky z kostní dřeně mobilizovat do periferní krve. PBSCT (v porovnání s transplantací kostní dřeně) vede k rychlejšímu přihojení štěpu (a tím ke zkrácení doby aplázie), navíc teoreticky může vyústit i ve sníženou kontaminaci transplantátu nádorovými buňkami.

Dávky CD 34+ buněk

Lékař pečující o nemocné po PBSCT se nyní setkává s nezvykle rychlým (v porovnání s minulostí) přihojením štěpu (tzv. engraftment). K normalizaci hodnot leukocytů může dojít i již za 8-10 dní po PBSCT, trombocytů za 10-12 dní (léčbou navozená těžká aplázie tedy může v ideálním případě trvat pouze 4-6 dní). Nicméně asi u 10 % až 40 % nemocných lze pozorovat prodloužení doby, než lze konstatovat engraftment pro trombocyty (na rozdíl od leukocytů, kde normalizace hodnot je u naprosté většiny nemocných promptní). Několika studiemi bylo objasněno, že rychlost a kvalita přihojení štěpu (posuzovaná dle normalizace hodnot leukocytů a trombocytů v krvi) je přímo závislá na množství transplantovaných CD34+ buněk. Tyto studie většinou jako množství pro optimálně rychlý engraftment (dosažení hodnot leukocytů více než $1 \times 10^9/l$ a trombocytů více než $50 \times 10^9/l$ ve třech po sobě následujících dnech bez prováděné substituce) doporučují tzv. ideální dávku: více než 5×10^6 CD 34+ buněk na kg hmotnosti příjemce (CD 34+ buněk/kg) (4,5,24). Po podání této dávky se nejméně u 90% nemocných hodnoty leukocytů a krevních destiček normalizují do 2 týdnů (4,16,35,37). Jiné skupiny jako ideální dávku, nutnou k záchraně nemocného po myeloablativní chemoterapii, doporučují hodnoty alespoň $2,5 \times 10^6$ CD 34+ buněk/kg (7,15). Po podání tohoto množství CD 34+ buněk u 95 % pacientů dojde k normalizaci hod-

not leukocytů a trombocytů do 3 týdnů (4,5,14,37). Transplantovat méně než 2×10^6 CD34+ buněk/kg je spojeno s opožděným návratem normálních hodnot, především trombocytů (a z tohoto vyplývají i komplikace, hlavně krvácivé) (7,15). Jako minimální dávka, se kterou lze ještě PBSCT provést, se uvádí hodnota 1×10^6 CD 34+ buněk/kg. Jde však o postup nebezpečný, neboť tyto pacienti trpí velmi často prolongovanou trombocytopenií a tudíž až u 25% nemocných se mohou objevit život ohrožující komplikace (hlavně krvácivé). Problémem zůstává nejednotnost postupů při stanovování CD 34+ buněk (26,30). Vzhledem k tomu, že není doposud používán jednotný protokol, tak výsledky mezi pracovišti se mohou diametrálně lišit. Optimistické je, že se začínají objevovat první podrobné pokyny, jak postupovat při měření CD 34+ buněk, na našem pracovišti používáme kritéria (31) vypracovaná ISHAGE (International Society of Hematotherapy and Graft Engineering).

Faktory způsobující nemožnost získat dostatečné množství CD 34+ buněk

Na mnoha světových renomovaných pracovištích jsou faktory, které způsobují nemožnost získat ideální počet CD 34+ buněk pro PBSCT (po provedení vícečetných aferéz) usilovně studovány. Podrobné analýzy (např. 10,14,20) prokázaly, že špatnou mobilizovatelnost CD 34+ buněk nejčastěji způsobuje:

- opakovaná předchozí chemoterapie (více než 6 cyklů)
- i krátkodobá aplikace některých cytostatik (především alkylační látky, např. BCNU, chlorambucil, melphalan, ale i např. deriváty platiny, atd.)
- předcházející radioterapie (především na oblasti pod bránicí)
- někdy jsou uváděny i další faktory, např. vyšší věk (nad 50 let), postižení kostní dřeně nádorovým onemocněním, některá onemocnění (např. M. Kahler) atd.

Na vysocedávkovanou chemoterapii je nutno myslet od prvního kontaktu s nemocným a tomu podřídit i celkovou léčebnou strategii

Vzhledem k přítomnosti výše popsaných faktorů, způsobujících nemožnost sklídit dostatečné množství CD 34+ buněk, je nutno na tento druh léčby (HDCH a PBSCT) myslet od prvního kontaktu s nemocným a léčebnou strategii od samého počátku stavět i s ohledem na možnou HDCH. V praxi to znamená nejen vyhnout se některým cytostatikům (viz výše), ale též (s ohledem na to, že i opakované cykly chemoterapie mohou vést k selhání mobilizace) se snažit provést sklizeň CD 34+ buněk jak nejdříve to jde, často již po prvních cyklech chemoterapie (většinou po průkazu, že kostní dřeň není infiltrována). K mobilizaci totiž není nutné používat speciální mobilizační (cytostatická) schemata, protože k vyplavení CD34+ buněk může posloužit i tzv. disease-specific therapy: některý běžně používaný cytostatický protokol (pochopitelně s následným podáváním cytokinu, nejčastěji opět G-CSF). Má to tu výhodu, že kombinace cytostatik je vyzkoušená a dostatečně účinná na daný tumor (což nemusí být u cytostatik používaných jen za účelem mobilizace).

Provádění mobilizace

1. Mobilizace samotným cytokinem

Optimální postup pro mobilizaci nebyl doposud jasně stanoven. Zřejmě nejšetrnější možností je podávání samotného cytokinu (nebo kombinace cytokinů) a mnohá pracoviště tento postup (navzdory tomu, že nemusí vést vždy k nejvyšším výťažkům při „sklizení“) využívají. Navíc, za některých situací je aplikace cytostatika dokonce nevhodná (například u některých dětí, zdravých dárců při allogenních transplantacích, u nemocných s nízkými hodnotami krevního obrazu, atd.). Jak již bylo opakovaně zmíněno, hematopoetickým růstovým

faktorem nejčastěji používaným k mobilizaci CD 34+ buněk je G-CSF. T.č. jsou u nás běžně používány dva rekombinantní faktory stimulující růst granulocytárních kolonií: lenograstim (je glykosylován na stejném místě jako molekula přirozeného G-CSF) a filgrastim (není glykosylován). Z některých teoretických poznatků se lze domnívat, že glykosylace může teoreticky ovlivnit fungování cytokinů (glykosylovaná forma G-CSF je in vitro stabilnější). Toho se snaží využít některé studie k průkazu hypotézy, že mobilizační schopnosti glykosylovaného G-CSF (lenograstimu) jsou lepší (17,18,33) než u G-CSF bez glykosylace (blíže tato problematika bude rozvedena v kapitole: Remobilizace).

G-CSF se k mobilizaci nejčastěji aplikuje v dávce 5 - 10 µg/kg/den. Podávání se většinou začíná 4 -5 dní před zahájením „sklizně“. Jako čas první aferézy se většinou určí den, kdy množství cirkulujících progenitorů v periferní krvi poprvé přesáhne počet 10 CD 34+ buněk/µl, současně většinou za předpokladu, že hodnota leukocytů je vyšší než $1 \times 10^9/l$ a trombocytů více než $20 \times 10^9/l$. (Aferézy se mohou započít i bez ohledu na množství cirkulujících progenitorů v tom okamžiku, kdy se dosáhne předem určené hodnoty leukocytů v periferní krvi - např. $4 \times 10^9/l$ - /34/. V tomto modelovém případě však nejde o typickou mobilizaci samotným cytokinem, neboť předchází chemoterapie: tento postup je zmiňován v této souvislosti jenom k demonstraci jiného protokolu při stanovení počátku aferéz). Stejná dávka se potom (při obou postupech) aplikuje i nadále, poslední G-CSF se podá v den konečné aferézy (průměrně se tedy G-CSF aplikuje 5-8 dní).

Není doposud jasné, zda denní dávku G-CSF podávat najednou, či celkové množství rozdělit a podávat dvakrát denně. Některé studie (např. 1) dosáhly významně lepších výtěžků tehdy, když dávka byla rozdělena a podávána každých dvacet hodin.

Teoreticky je možno i k první mobilizaci využít kombinaci cytokinů, nejde však o běžný postup: používají se například kombinace G-CSF se stem cell factorem, dále s interleukinem 3, GM-CSF, trombopoetinem, erythropoetinem, rovněž např. monoterapie aplikací PIXY 321, atd. (navzdory faktu, že jde o postupy aplikované k první mobilizaci se obecně předpokládá, že tato schémata budou efektivní i při remobilizaci: viz kapitola Remobilizace). Velmi perspektivní je především stem cell factor (SCF). Jedná se o velmi časně působící hematopoetický cytokin, jehož nejpravděpodobnější funkcí je podporovat proliferaci a přežívání pluripotentních progenitorových buněk. SCF rovněž zvyšuje schopnost „zadávání“ pro jednotlivé linie a následnou diferenciaci (jako odpověď na lineárně specifické cytokiny). Bylo prokázáno, že aplikace SCF zvyšuje množství cirkulujících leukocytů (včetně progenitorů a prekursorů). SCF se začal podávat i v klinické praxi (2,12), nejlepších výsledků bylo dosaženo tehdy, když aplikace SCF předcházela podávání G-CSF: aplikace SCF 10 µg/kg/den 3 dny je následováno 7denním podáváním G-CSF 10µg/kg/den (13). Jsou tedy k dispozici první studie, které prokazují, že použití SCF (v kombinaci s G-CSF) může vyústit v mobilizaci většího množství CD 34+ buněk (ve srovnání s G-CSF samotným) i u těžce předléčených nemocných (3). Při aplikaci SCF (neboť SCF rovněž indukuje proliferaci a aktivaci žírných buněk) je, jako prevence alergické reakce, doporučováno premedikovat nemocné podáváním antihistaminik a beta-agonistů.

2. Mobilizace kombinací cytostatika a cytokinu

Mnohé studie prokázaly, že k největším výtěžkům CD 34+ buněk vede používání kombinovaného postupu: kombinace nejčastěji znamená, že po aplikaci chemoterapie následuje podávání cytokinu. Schémat využívajících kombinaci chemoterapie a cytokinu je nepřehledná řada. V zásadě platí, že pokud se použije kombinovaný postup, lze aplikovat dávku G-CSF i nižší než většinou doporučovaných 10 µg/kg/den, např. 300 µg/den (15,20), což může vést k finanční úspoře při použití tohoto kombinovaného postupu. Nejčastějším cyto-

statikem je cyklofosfamid (CPA), který se používá v rozličných dávkách (4,15,19,20): od 7g/m², přes 3-4 g/m² až po 1.5 g/m². Tyto nižší dávky nemají sice tak významný mobilizační účinek, ale jejich výhodou je především menší toxicita (a tedy i méně komplikací, včetně snížení mortality). Z dalších používaných cytostatik jsou časté protokoly kombinující CPA a etoposid (10), ifosfamid, etoposid (VP-16) a epirubicin (27) či paclitaxel a CPA. Jak už bylo zmíněno výše, lze použít k mobilizaci i některá běžná chemoterapeutická schémata (tzv. disease-specific therapy), např. u nemocných s karcinomem prsu kombinace cyklofosfamid a adriamycin či u nemocných s maligními lymfomy např. kombinaci postavenou na bázi ifosfamidu a VP-16 (25).

Jsou rovněž uzavřeny první studie, v nichž autoři použili k mobilizaci SCF spolu s G-CSF, poprvé nebyla tato kombinace cytokinů použita bez chemoterapie, ale SCF a G-CSF byly aplikovány po podání CPA (35). Výsledky prokázaly, že použití SCF, v kombinaci s G-CSF, může vyústit v mobilizaci většího množství CD 34+ buněk (ve srovnání s G-CSF samotným), léčebné schéma bylo následující: CPA 3g/m² v den 1, cytokiny od dne 3: G-CSF 5 µg/kg a SCF (nejlepších výsledků bylo dosaženo použitím dávky 15 a 20 µg/kg), hematopoetické růstové faktory byly aplikovány denně až do doby, kdy hodnota leukocytů dosáhla $4 \times 10^9/l$, kdy u všech nemocných byla provedena aferéza.

3. Mobilizace samotným cytostatikem

Aplikace samotného cytostatika se k mobilizaci CD 34+ buněk, vzhledem k relativně nižším výtěžkům (a tím nutnosti opakovaných aferéz či aplikací dalších mobilizačních schémat), používá méně často. Tento postup je možno aplikovat především u některých hematologických malignit vycházejících z myeloidní řady (akutní či chronická myeloidní leukémie), důvodem jsou obavy z podávání stimulačních faktorů granulocytární řady (G-CSF či GM-CSF) vzhledem k jejich možné (ale zatím doposud jasně neprokázané) stimulaci myeloidní nádorové linie. V těchto případech se potom podávají vysoké dávky CPA (3-7 g/m²) či VP-16 (většinou 1-2g/m²).

Co s nemocnými, u kterých nelze získat dostatečné množství CD 34+ buněk?

Získat ideální množství CD 34+ buněk se podaří u většiny nemocných. Existuje však (a i v budoucnosti zřejmě bude existovat) přibližně 10% nemocných (4,5,35,37), u kterých se běžnými mobilizačními postupy nepodaří dosáhnout nasbíráání tzv. ideálního množství CD 34+ buněk. Avšak vzhledem k tomu, že v současné době se tento léčebný postup plánuje i u velkého množství v minulosti silně předléčených nemocných, tak lze předpokládat, že nyní počet nemocných, kteří nepůjdou uspokojivě „sklidit“ (budou tedy obtížně mobilizovatelní: první mobilizaci se získá méně než 2.5×10^6 CD 34+ buněk/kg) bude podstatně vyšší než v budoucnosti, kdy na HDCH a PBST se bude myslet již od samého počátku. Dále navržený postup může být však použit nejen v současnosti pro nyní se vyskytující těžce předléčené nemocné, ale i v budoucnosti u těch nemocných, u nichž sice bude HDCH a PBST plánována od začátku, ale přesto nepůjdou sklidit, neboť zřejmě i v budoucnosti budou existovat tzv. klasickými postupy nezmobilizovatelní (nebo jen velmi obtížně zmobilizovatelní) nemocní. Co potom?

Definice obtížně mobilizovatelného pacienta

Mnoho autorů se opakovaně snažilo o co nejvýstižnější definici tzv. obtížně mobilizovatelného pacienta: t.j. nemocného, u kterého lze obtížně dosáhnout mobilizace ideálního množství kmenových buněk krvetvorby (obtížně mobilizovatelný, v anglickém písemnictví: hard-to mobilize patients, bad mobilizers, atd). Nejběžnější a nejjednodušší definice v současnosti zní následovně: obtížně mobilizovatelný je takový nemocný, u kterého po prvním mobilizačním schématu opakovaný

mi aferézami nelze nastřádat tzv. ideální množství (tedy alespoň 2.5×10^6) CD 34+ buněk na kilogram hmotnosti příjemce (7).

Jakou strategii mohou použít transplantační centra v případě, že nedosáhnou tzv. ideálního množství CD 34+ buněk?

1. Neprovádět vysocedávkovanou léčbu.

Technicky nejjednodušším, nejlevnějším ale současně většínou nejhorsím řešením (je-li indikace provedení k HDCH a BSCT) je tento druh léčby zrušit a hledat alternativní postup (jiné standardně dávkované léčebné schéma, apod.).

2. Provést vysocedávkovanou léčbu, ale transplantovat méně než ideální množství CD 34+ buněk.

Poměrně často lze provést HDCH s následnou PBSCT, během níž se převede méně než ideální množství CD 34+ buněk (tedy méně než 2.5×10^6 CD 34+ buněk/kg). Tato strategie je úspěšná hlavně u nemocných léčených méně intenzivními předtransplantačními přípravnými protokoly, jako jsou například vysoké dávky melfalanu u pacientů s mnohočetným myelomem či kombinace BEAM (BCNU, VP-16, cytosine-arabinosid a melfalan) u nemocných s maligními lymfomy. Nevhodným (někdy až velmi nebezpečným) se jeví tento postup použít u velmi intenzivních režimů s dávkami cytostatik často až na samé hranici maximálně tolerované dávky (např. u solidních nádorů, akutních leukémií, atd.). Nicméně, jak již bylo zmíněno dříve, u nezanedbatelné části nemocných může po transplantaci menší než ideální dávky dojít k významně opožděnému návratu hodnoty leukocytů i trombocytů do normy, což může být spojeno s vyšší mortalitou i finančními náklady (opakované transfúze trombocytů, delší aplikace antibiotik, prodloužení hospitalizace, atd.).

3. Remobilizace (opakovaná mobilizace)

Nelze-li HDCH s PBSCT zrušit, či použít k výkonu menší množství CD 34+ buněk než ideální, tak k nastřádání dostatečného počtu CD34+ buněk je nejlhodnější provést opakovanou mobilizaci progenitorových a kmenových buněk (tzv. remobilizaci). Předem by však vždy individuálně měla být porovnána finanční náročnost remobilizace s odhadovanými náklady způsobenými prodloužením doby normalizace hodnot leukocytů a krevních destiček (a z toho plynoucími komplikacemi).

A) Remobilizace stejným postupem jako poprvé

Remobilizaci lze provést za využití stejného mobilizačního protokolu, který byl již použit poprvé. Tento postup využívá teoretického předpokladu, že identický postup (který je často na pracovištích rutinně zaběhnut a při jehož použití lze dobu sklizně dobře předpovědět) v časovém odstupu vyústí ve „sklizeň“ (harvest) přibližně stejného či vyššího (dokonce i dvojnásobného) množství CD 34+ buněk (37). Pro zjednodušení triviální příklad: pokud se získá po první mobilizaci provedením 5 aferéz 1.5×10^6 CD 34+ buněk/kg, tak po čase lze stejným postupem s velkou pravděpodobností získat nejméně dalších 1.5×10^6 CD 34+ buněk/kg (tudíž celkově relativně slušný počet CD 34+ buněk pro provedení „bezpečné“ PBSCT).

B) Remobilizace jiným protokolem

a) Remobilizace kombinací mobilizačních prostředků (chemoterapie s cytokinem)

I. Remobilizace přidáním dalšího mobilizačního prostředku
Tento kombinovaný postup je možné použít především u nemocných, u kterých nedošlo k dostatečné mobilizaci po monoterapii cytokinem (či po výjimečně prováděné mobilizaci samotným cytostatikem). V této situaci může podání chemoterapie s následnou aplikací cytokinu vést ke sklizni vyššího počtu CD 34+ buněk, než bylo nastřádáno po samot-

ném cytokinem (či cytostatikem), použitým k první mobilizaci. Paradoxně se může úspěšně užít i stejný hematopoetický růstový faktor (nebo cytotoxický lék), který selhal v monoterapii před první neúspěšnou mobilizací. Je ale nutno zvážit všechna rizika, neboť tato strategie teoreticky může vést k vyšší morbiditě.

II. Remobilizace změnou chemoterapie v kombinaci se stejným cytokinem (27,35)

Bylo-li k mobilizaci aplikováno nejpoužívanější cytostatikum: CPA, tak lze teoreticky v budoucnosti použít nejen jiná cytostatika v monoterapii (VP-16, paclitaxel, docetaxel, atd.), ale stejně tak i kombinaci těchto chemoterapeutik (nejčastěji opět s CPA). Je však nutno postupovat individuálně a řídit se i anamnézou nemocných: například u těžce předléčených nemocných nepodávat protokoly obsahující některé léky, které poškozuji kmenové buňky (např. deriváty platiny, melfalan, atd.). Nevhodné může též být podání extrémně vysokých dávek CPA (7 i více g/m²) navzdory tomu, že CPA je považován za lék takřka nepoškozující jak kmenové hematopoetické buňky, tak ani mikroprostředí v kostní dřeni.

Objevují se však první zprávy, které naznačují, že nejen chemoterapeutika, ale že i kombinace cytokinů (např. G-CSF) s cytostatiky by mohla paradoxně vést k prohloubení poškození kmenových buněk (32). Vbrzku na tomto poli je možné očekávat další překvapivá zjištění.

b) Remobilizace aplikací zvýšené dávky cytokinu.

Tento postup se často podaří, neboť se v některých studiích prokázalo, že schopnost G-CSF mobilizovat CD 34+ buňky z kostní dřeni do periferní krve je závislá na dávce: vyšší dávka G-CSF má za následek vyplavení vyššího počtu CD 34+ buněk (37). V současnosti probíhají studie porovnávající dávky G-CSF v rozmezí od 10 do 40 µg/kg. První výsledky ukázaly, že vyšší dávky G-CSF (v rozpětí 16-32 µg/kg/den), i u obtížně mobilizovatelných nemocných s karcinomem prsu či mnohočetným myelomem, u kterých často selhaly mobilizace standardními dávkami cytokinů, vedly k nastřádání ideální hodnoty CD 34+ buněk/kg (11,36,37). Z prvních závěrů tedy vyplynulo, že vyšší remobilizační dávka G-CSF skutečně zlepšila výtěžek CD 34+ buněk. Avšak u tohoto postupu především je nutno, vzhledem k vysokým dávkám velmi drahých cytokinů, přísně individuálně zvažovat, zda je tato léčba finančně výhodná (pomineme-li etické hledisko a budeme-li se řídit i finančními limity našeho zdravotního systému). V kalkulaci je nutno vzít v potaz, že po transplantaci nižšího než ideálního množství CD 34+ buněk, získaných první mobilizací, bude nutno provádět intenzivnější podpůrnou léčbu, především podávat vyšší počet rovněž drahých trombokonzentrátů a širokospektrých antibiotik. Bohužel studie, v nichž by byla provedena finanční analýza obou strategií, zatím nebyly publikovány.

c) Remobilizace kombinací cytokinů (většinou působících jak v časně, tak i pozdní fázi hematopoézy)

V poslední době byly prováděny velmi zajímavé studie, které používají k mobilizaci kombinace rozličných hematopoetických růstových faktorů. Vývoj v této oblasti jde velmi rychle dopředu a zde jsou uváděny výsledky některých dostupných studií bez nároku na úplnost. V dále zmiňovaných studiích byly postupy sice většinou použity jako první mobilizační schémata, nicméně lze odůvodněně předpokládat, že budou úspěšné i jako remobilizační protokoly.

Stem cell factor (SCF)

Jde o zřejmě velmi perspektivní cytokin, speciálně v kombinaci s G-CSF. Nedávno bylo publikováno úspěšné dávkování i u silně předléčených nemocných (13): SCF 10 µg/kg/den: 1. až 3. den, G-CSF 10 µg/kg/den: 4.-10. den (podrobněji v oddíle Mobilizace).

GM-CSF

Další možností je použití kombinací G-CSF a GM-CSF (39), dobrých výsledků bylo dosaženo použitím následujícího schématu: GM-CSF 5 µg/kg/den 1. - 12. den a G-CSF 5 µg/kg/den ve dnech 7.-12. (pokud byl podáván G-CSF jako první a GM-CSF až následně, tak výtežky CD 34+ buněk byly horší).

Interleukin 3 (IL-3)

Dalším cytokinem je IL-3, který se k mobilizaci nejčastěji používá v kombinaci s G-CSF. Příklad úspěšného dávkování byl nedávno publikován (22): po ukončení cyklu chemoterapie ihned zahájí IL-3 v dávce 5 µg/kg/den s.c. po dobu 5 dní a dále pokračovat v aplikaci G-CSF v dávce 10 µg/kg/den. Po vyplavení dostatečného množství CD 34+ buněk se zahájí aferézy, poslední dávka G-CSF se podá v den ukončení leukaferéz.

PIXY 321

Jako PIXY 321 je označován fúzní protein, který sestává z GM-CSF a IL-3. Jsou zkoumány různé dávky (50, 125, 250, 500, 750 a 1000 µg/m² jako kontinuální infuze do ukončení aferéz) (6,12).

Trombopoetin, erytropoetin, apod.

Ve stadiu klinických zkoušek jsou rovněž rozličné kombinace G-CSF s trombopoetinem či erytropoetinem, či některými dalšími cytokiny.

d) Remobilizace jinou formou rekombinovaného G-CSF

Pro použití v klinické praxi jsou t. č. na našem území registrovány dva rekombinantní faktory stimulující růst granulocytárních kolonií. Jde jednak o lenograstim (Granocyte®, Rhone-Poulenc Rorer), který je získáván z buněk ovarií čínské křečka a je glykosylovaný na stejném místě jako molekula přirozeného G-CSF. Druhým produktem je filgrastim (Neupogen®, Amgen), který je produktem E.coli a není glykosylován (obsahuje navíc Met skupinu na N terminálním konci peptidového řetězce). Předpokládá se, že glykosylace by mohla významně ovlivnit funkce cytokinů (usuzuje se například ze závěrů některých studií prokazujících, že neglykosylovaný erytropoetin je in vivo málo účinný, neboť je vychytáván játry). Další provedené studie (např. 9) též prokázaly, že in vitro je glykosylovaná forma G-CSF stabilnější. Klinické studie na zdravých dobrovolnících prokázaly vyšší mobilizační efekt glykosylovaného G-CSF: lenograstimu (17,18,33). Některé další prováděné studie na pacientech (2,23,29) neprokázaly

vyšší efekt glykosylovaného G-CSF: efekt obou G-CSF byl stejný. Nicméně závěry některých publikací nabízejí zajímavou hypotézu: právě u špatně mobilizovatelných nemocných by vyšší účinnost lenograstimu (zjištěná v těchto studiích) mohla mít klinický význam (33).

4. Provést odběr kostní dřeně.

Další možností je nepokoušet se opětovně o získání PBSC, nýbrž provést odběr kostní dřeně.

Závěr

Používání nejrůznějších hematopoetických cytokinů bude v budoucnosti při získávání dostatečného počtu hematopoetických kmenových a progenitorových buněk krvetvorby ještě nejspíše stoupat, neboť se stále objevují další možná použití. Nové objevy by mohly vést k tomu, že i z jedné aferézy by se mohlo nasbírat množství PBSC dostatečné k provedení i více HDCH a PBSCT. Tím by odpadl problém remobilizace či obtížně mobilizovatelných nemocných, neboť v tom případě by nemuselo být na škodu ani získání menšího než ideálního množství CD 34+ buněk: jejich počet bude možno expanzí (viz dále) proměnit v množství významně vyšší.

Selekce a expanze PBSC

Navzdory aplikaci PBSC s potransplantačním podáváním G-CSF (či GM-CSF) přetrvává po PBSCT období 6-12 dnů, tzv. „neutropenické okno“ (neutropenic window). Je způsobeno tím, že PBSC potřebují takto dlouhé období k diferenciaci, vyžrání a uvolnění do periferní krve. Jednou z dalších možností, jak zkrátit (či odstranit) toto „neutropenické okno“, které je vlastně již jen zbytkem z jinak hroziícího období těžké aplázie po HDCH (které by se dostavilo bez již dříve zmíněných postupů: PBSCT a aplikace G-CSF), je provést manipulaci se štěpem. V současnosti se jako přínosné jeví např. udělat selekci a následnou expanzi (kultivaci PBSC v plastických vacích za přítomnosti cytokinů, což vede k mnohonásobnému pomnožení progenitorových buněk). Transplantace těchto expandovaných buněk (obsahujících až 70 % promyelocytů, myelocytů a metamyelocytů) po PBSCT (například v den +1) vede ke zkrácení doby i tíže aplázie (28,37,38).

Práce byla částečně podporována grantem IGA MZD ČR č. 2998-4

Literatura

1. Arbona, C., Prosper, F., Benet, I. et al.: Comparison between once a day vs twice a day G-CSF for mobilization of peripheral blood progenitor cells (PBPC) in normal donors for allogeneic PBPC transplantation. Bone Marrow Transplant., 22, 1998, s. 39-45.
2. Arriba, F., Ortuño, F., Heras, I. et al.: Prospective randomized study comparing the efficacy of bioequivalent doses of filgrastim and lenograstim for mobilizing peripheral blood progenitor cells (PBPC). Bone Marrow Transplant., 19, S1, 1997, S110 (Abstract No.P439).
3. Bassier, R.L., To, L.B., Begley, C.G. et al.: Rapid hematopoietic recovery after multicycle high-dose chemotherapy: enhancement of filgrastim-induced progenitor-cell mobilization by recombinant human stem cell factor. J. Clin. Oncol., 16, 1998, s. 1899-1908.
4. Bensinger, W.I., Appelbaum, F., Rowley, S. et al.: Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. J. Clin. Oncol., 13, 1995, s. 2547-2555.
5. Bensinger, W.I., Longin, K., Appelbaum, F. et al.: Peripheral blood stem cells (PBSCs) collected after recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF): An analysis of factors correlating with the tempo of engraftment after transplantation. Br. J. Haematol., 89, 1995, s. 689-690.
6. Bishop, M.R., Jackson, J.D., O'Kane-Murphy, B. et al.: Phase I trial of recombinant fusion protein PIXY 321 for mobilization of peripheral-blood cells. J. Clin. Oncol., 14, 1996, s. 2521-2526.
7. Byrne, J.L., Haysen, A.P., Russel, N.H.: Use of haematopoietic growth factors: commentary on the ASCO/ECOG guidelines. Blood Reviews 11, 1997, s. 16-27.
8. Cetkovský, P., Koza, V., Jindra, P. et al.: Individual criteria could be optimal for starting G-CSF application after autologous stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant., 20, 1997, s. 639-641.
9. Decleva, E., Cramer, R., Zabucchi, L.J. Glycosylation improves the priming effect exerted by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (lenograstim) on human neutrophil superoxide production. International J Tissue Reactions, 17, 1995, s. 191-198.
10. Demirel, T., Buckner, C., Bensinger, W.: Optimization of peripheral blood stem-cell mobilization. Stem Cells, 14, 1996, s. 106-116.
11. Demirel, T., Buckner, C.D., Gooley, T., et al.: Factors influencing collection of peripheral blood stem cells in patients with multiple myeloma. Bone Marrow Transplant., 17, 1997, s. 937-941.
12. Gheilmimi, M., Pettengell, R., Coutinho, L.H. et al.: The effect of the GM-CSF/IL-3 fusion protein PIXY 321 on bone marrow and circulating haematopoietic cells of previously untreated patients with cancer. Br. J. Haematol., 93, 1996, s. 6-12.
13. Glaspy, J.A., Shpall, E.J., LeMaistre, C.F. et al.: Peripheral blood progenitor cell mobilization using stem cell factor in combination with filgrastim in breast cancer patients. Blood, 90, 1997, s. 2939 - 2951.
14. Haas, R., Mohle, R., Fruhauf, S. et al.: Patients characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood progenitor cells in malignant lymphoma. Blood, 83, 1994, strana 3787-94.
15. Haynes, A., Hunter, A., McQuaker, G. et al.: Engraftment characteristics of peripheral-blood stem-cells mobilized with cyclophosphamide and the delayed addition of G-CSF. Bone Marrow Transplant., 16, 1996, s. 359-363.

16. Hohaus, S., Goldschmidt, H., Ehrhardt, R. et al.: Successful autografting following myeloablative conditioning therapy with blood stem cells mobilized by chemotherapy plus rhG-CSF. *Exp. Hematol.*, 21, 1993, s. 508-514.
17. Hoglund, M., Bengtsson, M., Cour-Chabernaud, V. et al.: Glycosylated rHuG-CSF is more potent than non-glycosylated rHuG-CSF in mobilization of peripheral blood progenitor cells (PBPC) in healthy volunteers. *Blood*, 86, 1995, 464a.
18. Hoglund, M., Smedmyr, B., Bengtson, M. et al.: Mobilization of CD34+ cells by glycosylated and nonglycosylated G-CSF in healthy volunteers - a comparative study. *Eur. J. Haematol.*, 59, 1997, s. 177-183.
19. Jindra, P., Koza, V., Cetkovský, P. et al.: Cyclophosphamide 3g/m² and G-CSF is an effective and safe outpatient-based PBSC mobilising regimen: a single centre experience (Letter). *Bone Marrow Transplant.*, 20, 1997, s. 91-93.
20. Jones, H.M., Jones, S.A., Watts, M.J. et al.: Development of a simplified single-apheresis approach for peripheral-blood progenitor-cell transplantation in previously treated patients with lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, 1693-1720.
21. Klener, P. a kolektiv. *Cytokiny ve vnitřním lékařství*. Grada Publishing, 1997, 264 stran
22. Kolbe, K., Peschel, C., Rupilius, B. et al.: Peripheral blood stem cell (PBSC) mobilization with chemotherapy followed by sequential IL-3 and G-CSF administration in extensively pretreated patients. *Bone Marrow Transplant.*, 20, 1997, s. 1027-1032.
23. Kulkarni, S., Powles, R., Treleaven, J. et al.: Comparison of equal doses of lenograstim and filgrastim for mobilization of peripheral blood stem cells in patients with haematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant.*, 21, S1, 1998, S11 (Abstract No.680).
24. Mavroudis, D., Read, E., Cottlerfox, M. et al.: CD34(+) cell dose predict survival, post-transplant morbidity and rate of haematological recovery after marrow transplants for haematological malignancies. *Blood*, 88, 1996, s. 3223-3229.
25. Mayer, J., Kořístek, J., Vorlíček, J. et al.: Ifosfamide and etoposide based chemotherapy as salvage and peripheral blood progenitor cells mobilizing regimens for poor prognosis lymphoma. *Bone Marrow Transplant.*, 17 S1, 1997, S 193 (Abstract No P769).
26. Mayer, J., Doubek, M., Klabusay, M.: CD 34+ buňky: jejich klinický význam a detekce pomocí průtokové cytometrie. *Klin. Onkologie, Suppl.* 08/1998, s. 24-28.
27. McQuaker, G., Haynes, A.P., Stainer, C. et al.: Stem cell mobilization in resistant or relapsed lymphoma - superior yield of progenitor cells following a salvage regimen comprising ifosfamide, etoposide and epirubicin compared to intermediate dose cyclophosphamide. *Br. J. Haematol.*, 98, 1997, s. 228-233.
28. Ratajczak, M.Z., Ratajczak, J., Machalinski, B. et al.: In vitro and in vivo evidence that ex vivo cytokine priming of donor marrow cells may ameliorate posttransplant thrombocytopenia. *Blood*, 91, 1998, s. 353-359.
29. Saccardi, R., Avanzi, G., Benzini, R. et al.: Mobilization of PBPC for hematological rescue: comparison between glycosylated and non-glycosylated G-CSF. *Bone Marrow Transplant.*, 19, S1, 1997, S11 (Abstract No.043).
30. Sutherland, D.R.: Assessment of peripheral blood stem cell grafts by CD 34+ cell enumeration: Toward a standardized flow cytometric approach. *J. Hematother.*, 5, 1996, s. 209-210.
31. Sutherland, D.R., Anderson, L., Keeney, M. et al.: The ISHAGE guidelines for CD 34+ determination by flow cytometry. *J. Hematother.*, 5, 1996, s. 213-226.
32. Van Os, R., Robinson, S., Sheridan, T. et al.: Granulocyte colony-stimulating factor enhances bone marrow stem cell damage caused by repeated administration of cytotoxic agents. *Blood*, 92, 1998, s. 1950-1956.
33. Watts, M.J., Addison, S.G., Long, S. et al.: Crossover study of the haematological effects and pharmacokinetics of glycosylated and non-glycosylated G-CSF in healthy volunteers. *Br. J. Haematol.*, 98, 1997, s. 474-479.
34. Weaver, A., Chang, J., de Wynter, E. et al.: Randomized comparison of progenitor-cell mobilization using chemotherapy, stem-cell factor, and filgrastim or chemotherapy plus filgrastim alone in patients with ovarian cancer. *J. Clin. Oncol.*, 16, 1998, s. 2601-2612.
35. Weaver, C.H., Hazelton, B., Birch, R. et al.: An analysis of engraftment kinetics as a function of the CD 34 content of peripheral blood progenitor cell collections in 692 patients after the administration of myeloablative chemotherapy. *Blood*, 86, 1995, s. 3961-3969.
36. Weaver, C.H., Birch, R., Greco, F.A. et al.: Mobilization and harvesting of peripheral blood stem cells: A randomized dose escalation trial of filgrastim. *Br. J. Haematol.*, 100, 1997, s. 338-347.
37. Weaver, C.H., Tauer, K., Zhen, B. et al.: Second attempts at mobilization of peripheral blood stem cells in patients with initial low CD34+ cell yields. *J. Hematotherapy*, 7, 1998, s. 241-249.
38. Williams, S.F., Lee, W.J., Bender, J.G. et al.: Selection and expansion of peripheral blood CD 34+ cells in autologous stem cell transplantation for breast cancer. *Blood*, 87, 1996, s. 1687-1691.
39. Winter, J.N., Lazarus, H., Rademaker, A.: Phase I/II study of combined granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage stimulating factor administration for the mobilization of hematopoietic progenitor cells. *J. Clin. Oncol.*, 14, 1996, s. 277-286.

informace

OTEVŘENÝ DOPIS VŠEM ČLENŮM ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI

Vážené kolegyně, vážení kolegové,
výbor ČOS se na Vás obrací s následující prosbou. Mnozí z Vás se nepochybně ve své praxi setkali s případy nemocných, kteří se do Vaší péče dostali ve stadiu značně pokročilého onemocnění proto, že se po stanovení diagnózy podrobili léčení různými neprovedenými a neúčinnými metodami. Zejména přibývá případů léčených Iscadorem nebo Irisapem (ačkoliv ani jeden z těchto přípravků není v ČR registrován a jeho podávání je proto nelegální). Tuto léčbu bohužel v některých případech doporučují i lékaři. Protože chceme dalšímu poškozo-

vání onkologických nemocných zabránit, žádáme Vás, pokud jste se ve své onkologické praxi s podobným případem setkali, abyste nám poskytli přesnější informaci, tj. jméno lékaře a zdravotnického zařízení, které tuto léčbu indikovalo, iniciály, rok narození a diagnózu nemocného, trvání zbytečné prodlévky od nasazení alternativní léčby do zahájení konvenční léčby. Zároveň Vás žádáme, abyste připravili dokumentaci o takto poškozeném pacientovi pro šetření Revizní a etické komise České lékařské komory. Zprávu zašlete co nejdříve na adresu vědeckého sekretáře (doc. L. Petruželka, Onkologická klinika VFN, 128 08 Praha 2, U nemocnice 2).

Děkujeme Vám za vstřícnost a spolupráci

Jménem výboru ČOS, prof. MUDr. P. Klener, DrSc., v. r.

MOBILIZACE KMENOVÝCH BUNĚK KRVETVORBY U NEMOCNÝCH SE ZHOUBNÝMI NÁDORY VARLAT PŘED PLÁNOVANOU LÉČBOU VYSOKÝMI DÁVKAMI CHEMOTERAPIE

MOBILIZATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS IN PATIENTS WITH TESTICULAR CANCER BEFORE HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY

CETKOVSKÝ P., SCHÜTZOVÁ M., JINDRA P., ŠKOPEK P., PITTRVÁ H., VOZOBULOVA V., SVOJGROVÁ M., NAVRÁTILOVÁ J., LYSÁK D., VOKURKA S., FIŠER J., ČERNÁ K., KARAS M., KOZA V.

HEMATOLOGICKO-ONKOLOGICKÉ ODDĚLENÍ, FAKULTNÍ NEMOCNICE, PLZEŇ

Souhrn: *Východiska:* Po léčbě opakovanými cykly chemoterapie, které rovněž obsahují léky toxické pro kmenové buňky krvetvorby (HSC), může dojít k tomu, že se nepodaří získat dostatečné množství HSC. Proto je praktické nasbírat HSC dříve, nežli jsou nemocným tyto cytotoxické léky (včetně cis-platiny) opakovaně podávány. *Typ studie a soubor:* Do analýzy bylo zařazeno 11 nemocných s testikulárními nádory, 3 s relapsem a 8 v partiální remisi, kteří podle mobilizačního postupu byli rozděleni do tří skupin. U 3 pacientů ve skupině I. (Skup.I.) byly HSC získávány po 3 cyklech záchranné léčby (obsahující též cis-platinu) a G-CSF, u 3 pacientů ze Skup.II. byl před sklizní HSC aplikován cyklofosfamid ($3\text{g}/\text{m}^2$) + G-CSF a u 5 nemocných ze Skup.III. střídání HSC probíhalo již po 1. cyklu záchranné léčby + G-CSF. *Metody a výsledky:* Ve Skup.I. Bylo získáno jen nedostatečné množství CD 34+ buněk (1.63×10^6 CD 34+ buněk/kg v průběhu 5 aferéz) a bylo nutno provést odběr kostní dřeně (nebo remobilizaci). Ve Skup.II. bylo dosaženo slušných výsledků (4.54×10^6 CD 34+ buněk/kg během 3 aferéz), ale vzhledem k možnému zesílení skutečného účinku léčby 2. řady, a tím i narušení léčebných protokolů, byl tento postup rovněž opuštěn. Ve Skup. III. bylo nasbíráno 8.8×10^6 CD34+ buněk/kg při 2 aferézách. *Závěry:* U nemocných s relabujícími nádory varlat (či v partiální remisi) lze využít první cyklus léčebné „záchranné“ kombinace jako mobilizační protokol. Tento postup vede k získání dostatečného množství CD 34+ buněk, a to dříve, než následkem opakované aplikace cis-platiny není možné potřebný počet HSC nasbírat.

Klíčová slova: mobilizace kmenových buněk krvetvorby - zhoubné nádory varlat - autologní transplantace kmenových buněk krvetvorby - vysoké dávky chemoterapie - granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) - cis-platina

Summary: Background: Following repeated courses of stem cell-toxic chemotherapy, mobilization of hematopoietic stem cells (HSC) appears to be decreased. For these reasons, HSC should be harvested prior to repeated HSC exposure to stem cell-toxic drugs. *Design and Subjects:* 11 patients with testicular cancer (3 in relapse and 8 with partial response) were included into analysis and according to mobilization protocol they were divided into 3 groups. HSC from 3 patients (pts) in group I (Gr.I.) were harvested after 3 cycles of cis-platin-based salvage chemotherapy (+ G-CSF), in 3 pts from Gr.II. HSC harvesting was performed after cyclophosphamide ($3\text{g}/\text{m}^2$) plus G-CSF, and for HSC mobilization in 5 pts from Gr.III.. The first cycle of „salvage“ chemotherapy (+ G-CSF) was used. *Methods and Results:* In pts from Gr.I., only a small number of CD34+ cells (1.63×10^6 CD 34+ cells/kg during 5 aphereses) was harvested and bone marrow harvesting (or remobilization) was necessary. In patients from Gr.II., successful harvestings were carried out (4.54×10^6 CD34+ cells/kg during 3 aphereses), but due to possible violation of standard salvage protocols we stopped this method. In pts from Gr.III. 8.8×10^6 CD34+ cells/kg were harvested during 2 aphereses. *Conclusions:* Harvesting of a sufficient number of CD 34+ cells in pts with relapsed or partially responsive testicular tumors after the first cycle of disease-specific cis-platin-based salvage therapy, before HSC are compromised because of stem cell-toxic chemotherapy, seems to be a practical approach.

Key words: mobilization of hematopoietic stem cells - testicular cancer - autologous hematopoietic stem cell transplantation - high-dose chemotherapy - stem cell-toxic chemotherapy - cis-platinum

Úvod

Objevem kombinované chemoterapie se germinativní nádory varlat, které do té doby téměř vždy končily rychlým umrtím nemocných, staly modelovou situací, demonstrující úspěšnou léčbu zhoubných nemocí cytostatiky (11). U 70-80 % nemocných s diseminovanou nemocí se tímto léčebným postupem dosáhne kompletní remise (CR) a dlouhodobého přežití bez nemoci. Zbývajících 20-30 % nemocných s rezistentním nádorem by bez další léčby rychle zemřelo na progresi tumoru. Vzhledem k tomu, že „záchranná“ (salvage) léčba v běžných dávkách navodí dlouhodobou CR jen u velmi malého počtu pacientů (u 20-30 % z refrakterních nemocných, tedy u dalších 6-10 % všech nemocných - 4, 16), tak u zbývajících přibližně 20 % pacientů je (při použití konvenční chemoterapie) tato choroba považována za nevléčitelnou (16). Účinná léčba nemocných s diseminovanou chorobou refrakterní na běžné dávky cytostatik je intenzivně hledána. Poměrně slušných

výsledků bylo dosaženo použitím vysokých dávek chemoterapie (high-dose chemotherapy: HDCH) s následnou autologní transplantací kmenových (a progenitorových) buněk krvetvorby (blood stem cells - BSC), kdy dlouhodobá CR byla navozena až u 25-50 % nemocných (4, 6, 10, 15, 18-19), nemajících jinak velkou šanci na přežití. Tento postup, který v ideálním případě má zničit nádor, vychází z experimentálně i klinicky ověřené koncepce tzv. *dose intensity*: vyšší dávka má větší léčebný účinek, a proto HDCH může být úspěšná tedy i u nádoru rezistentního na běžné dávky cytostatik. Suprafaktální hematologickou toxicitu těchto myeloablativních protokolů lze obejít tak, že BSC, získané z kostní dřeně či periferní krve, se ještě před podáním agresivní chemoterapie odeberou, kryokonzervují a po aplikaci HDCH vrátí nemocnému. V současnosti při HDCH se jako zdroj BSC v naprosté většině používají tzv. periferní BSC (PBSC). K vyplavení BSC i progenitorových buněk, označovaných též souhrnně jako CD

34+ buňky (nesou totiž na svém povrchu antigen CD 34), z kostní dřeně se provádí tzv. mobilizace, buď podáváním cytokinů (nejčastěji granulocyte colony-stimulating factor: G-CSF) či aplikací kombinace chemoterapie a cytokinu. Odběr kostní dřeně se provádí často jen v případech, kdy nelze buňky z kostní dřeně mobilizovat do periferní krve. Transplantace PBSC (PB SCT), v porovnání s transplantací kostní dřeně, vede k rychlejšímu přijetí štěpu (tzv. engraftment) a k normalizaci leukocytů dochází již za 8-10 dní a trombocytů za 10-12 dní po PB SCT (1-2, 5, 7). Jako optimální množství, které zaručí takto rychlou rekonstituci hematopoiezy, se doporučuje transplantovat nejméně 2,5 - 5 x 10⁶ CD 34+ buněk na kilogram hmotnosti příjemce (1,5).

Existují však faktory, které způsobují, že nelze získat dostatečný počet CD 34+ buněk, nutných pro „bezpečnou“ PB SCT. Mnohé studie prokázaly, že špatnou mobilizovatelnost CD 34+ buněk z kostní dřeně do periferní krve nejčastěji způsobuje: 1. opakovaná předchozí kombinovaná chemoterapie, 2. i krátkodobá aplikace některých cytostatik: především alkylačních látek, např. BCNU, melphalan, chlorambucil, ale i např. deriváty platiny, atd., 3. vliv dalších faktorů, např. radioterapie v anamnéze, věk nad 50 let, postižení kostní dřeně nádorovým onemocněním, apod. (2-3, 12, 14, 17, 20).

Vzhledem k tomu, že opakované cykly chemoterapie mohou znemožnit získání dostatečného množství CD 34+ buněk, tak je nutno na HDCH a PB SCT myslet od samého počátku a léčebný plán pacienta vystavět i s ohledem na možnou budoucí aplikaci HDCH s PB SCT. To znamená nejen nepodávat určitá cytostatika, ale navíc se pokusit získat optimální počet CD 34+ buněk, nutných k provedení PB SCT, jak nejdříve to jde, často již po prvním cyklu standardně dávkovaných cytostatik. Obvykle není třeba aplikovat zvláštní, tzv. mobilizační protokoly (nejběžněji se používají vysoké dávky cyklofosfamidu: CPA), ale k vyplavení CD 34+ buněk se může použít běžně podávaná léčebná kombinace cytostatik (tzv. disease-specific therapy), po níž následuje aplikace cytokinu (např. G-CSF). Tento postup má výhodu v tom, že se jedná o vyzkoušenou a účinnou léčbu. Naopak, použití tzv. speciálních mobilizačních schémat (např. CPA), nemusí být u příslušného nádoru tím nejúčinnějším postupem.

Cíl práce: V tomto sdělení uvádíme naše první zkušenosti s mobilizací PBSC u nemocných s germinativními nádory varlat a popisujeme, jak se vyvíjel náš postup po neúspěšných mobilizacích na počátku, které byly prováděny po několika chemoterapeutických cyklech. Opakované neúspěšné pokusy nasbírat optimální množství CD 34+ buněk nás přivedly k tomu, že jsme „sklizeň“ PBSC začali provádět již po prvním cyklu „záchranné“ léčby.

Soubor nemocných a metodika

V období od února 1994 do června 1998 bylo do sledování zahrnuto 11 nemocných s germinativními nádory varlat (histologické typy a další bližší charakteristiku nemocných ukazuje Tab. 1). Dle Indiana klasifikace měli 4 nemocní minimální stadium (1. pouze zvýšenou hladinu HCG a/nebo AFP, 2. postižení krčních uzlin +/- přítomnost hmatné retroperitoneální nemoci, 3. neresekovatelné a nehmátne retroperitoneální postižení, 4. méně než 5 plicních metastáz s největším průměrem menším než 2 cm +/- nehmátne postižení retroperitonea), 3 nemocní byli v tzv. středním (moderate) stadiu (5. hmatné abdominální postižení, 6. plicní metastázy v počtu 5-10 v plicním poli s největším průměrem menším než 3 cm nebo postižení mediastina nepřesahující 50 % intrathorakálního průměru nebo solitární plicní metastáza jakékoliv velikosti větší než 2 cm v průměru), 4 pacienti měli pokročilou (advanced) nemoc (7. pokročilé plicní postižení: mediastinální hmoty zasahující více než 50 % intrathorakálního průměru nebo více než 10 plicních metastáz v plicním poli či mnohotné plicní metastázy větší než 3 cm v průměru, 8. hmatné abdominální postižení s jakýmkoliv plicním postižením, 9. metastázy v CNS, játrech či kostech).

3 nemocní byli léčeni pro recidivu nemoci, 8 pro dosažení pouze částečné odpovědi na léčbu 1. linie (tzv. partial response: zmenšení všech měřitelných známek nemoci o 50 % či více a současně žádná progresse jakéhokoliv známého ložiska, dalším předpokladem je, že se nesmí objevit žádné nové postižení). Tato terapie 1. řady (s výjimkou 2 mohutně předléčených nemocných - viz Tab. 1) sestávala z kombinace PEB: cis-platina 20 mg/m² 1.-5. den, etoposid 100 mg/m² 1.-5. den, bleomycin 15 mg/m² v den 1, 8 a 15. U nemocných byla provedena „záchranná“ chemoterapie 2. řady: -VelP: cis-platina 20 mg/m² 1.-5. den, ifosfamid 1200 mg/m² 1.-5. den, vinblastin 0.11 mg/kg 1.+2. den (1 nemocný byl léčen protokolem PEI: cis-platina a ifosfamid ve stejných dnech a dávkách, místo vinblastinu se podával etoposid 75 mg/m² 1.-5. den). Aplikace cytostatik byla ukončena 5. den, od 6. dne bylo zahájeno subkutánní podávání G-CSF (10 µg/kg/den). Od 5. dne aplikace (11. den od začátku chemoterapie) bylo započato měření cirkulujících CD 34+ buněk. Při nálezů více než 10 CD 34+ buněk v mikrolitru (a byla-li současně hodnota leukocytů vyšší než 1.0 x 10⁹/l a trombocytů než 20 x 10⁹/l), byla provedena 1. afe-réza.

Pro analýzu byli nemocní rozděleni do tří skupin: ve skupině I. jsou zahrnuti 3 pacienti, u nichž byla „sklizeň“ prováděna až po 3. cyklu „záchranné“ kombinované chemoterapie (s následnou aplikací G-CSF 10 µg/kg/den). Jedná se o pacienty, u nichž nebylo možno nasbírat dostatečné množství CD 34+ buněk, a proto u 2 z nich (aby bylo možno podat HDCH) byla odebrána kostní dřeň. U zbývajících pacientů byla provedena úspěšná opakovaná mobilizace (remobilizace) vyšší dávkou G-CSF (16 µg/kg/den). Vzhledem k těmto negativním zkušenostem byla u dalších 3 nemocných, označovaných v této studii jako skupina II., před podáním salvage chemoterapie, provedena mobilizace speciálním mobilizačním protokolem. K vyplavení CD 34+ buněk byl použit kombinovaný postup: aplikace vysoké dávky CPA (3g/m²) s následným podáváním G-CSF 10 µg/kg/den (13). Avšak ani toto se nám nejevilo jako ideální, neboť léčba vysokými dávkami CPA není některými nemocnými dobře snášena, neboť podání komplikuje především gastrointestinální toxicita a myelotoxicita. Nejvýznamnějším argumentem proti tomuto postupu je skutečnost, že účinkem CPA by mohlo dojít ke zkrácení skutečného efektu léčby 2. řady (a tím k modifikaci probíhajících studií). Proto u dalších 5 nemocných (skupina III.) bylo využito, stejně jako u skupiny I, mobilizačního efektu tzv. disease-specific therapy „záchranného“ protokolu VelP, ale afe-rézy byly provedeny již po 1. cyklu této chemoterapie. Strádání CD 34+ buněk se zahájilo tedy dříve než se stačil plně projevit toxický účinek cytostatik (především cis-platiny) na kmenové a progenitorové buňky (a rovněž na mikroprostředí v kostní dřeni). Tento postup (strádat PBSC i u onemocnění, které ještě není v remisi) je možný i proto, že kostní dřeň u tohoto druhu zhoubného onemocnění bývá (i při jinak rozsáhlém postihu) infiltrována v méně než 1% případů (u našich nemocných při vstupním vyšetření, jehož součástí je i provedení trepanobiopsie z lopaty kosti kyčelní, nebyly maligní karcinomové buňky v kostní dřeni nalezeny u žádného muže). Navíc vliv nádorových buněk, obsažených v transplantátu, na recidivu tumoru není objasněn, neboť nejčastější příčinou recidivy základního onemocnění není tato nádorová kontaminace transplantátu, ale nedostatečná eradikace primárního nádoru málo účinnou indukční léčbou. „Záchranná“ léčba byla, po 3 cyklech standardně dávkované chemoterapie, u nemocných dokončena podáním HDCH ve složení: karboplatina (2200 mg/m²), etoposid (1800 mg/m²) a cyklofosfamid (6400 mg/m²) s podporou provedením PB SCT (6,10,15).

Všem nemocným byl zaveden centrální žilní dvojluminální dialyzační katétr cestou vena subclavia. Afe-rézy byly prováděny na přístroji Baxter CS 3000 Plus, během každého sezení bylo přístrojem zpracováno 20 000 mililitrů krve. Měření CD 34+ buněk bylo prováděno prostřednictvím dvoubarevné prů-

Tabulka 1. Charakteristika všech pacientů

Skupina	Věk	Diagnóza	Předchozí léčby	Stadium	Důvod	Druh	Odpověď	Mobilizace	Dřeň	Pozn.
I.	29	Embryo.Ca	CH, RT, PEB 4x, EAM 3x, VAB 6 3x	Moderate	Relaps	VeIP 3x	CR	2.8x10/8 NC	Ano	CR – 56 měs.
	41	Seminom	CH, RT, PEB 3x	Minimal	Relaps	VeIP 3x	CR	0.7x10/6 CD 34	Ano	CR – 46 měs.
	39	Seminom + EmbryoCa	PEB 4x	Advanced	PR	VeIP 3x	PR	1.4x10/6 CD 34	Ne	R, E v CR
II.	31	Seminom	PEB 4x	Minimal	PR	VeIP 3x	CR	6.0x10/6 CD 34	Ne	CR – 24 měs.
	40	ChorioCa	PEB 4x	Advanced	PR	VeIP 3x	CR	4.6x10/6 CD 34	Ne	CR – 24 měs.
	25	EmbryoCa + YolkSac	PEB 4x	Advanced	PR	VeIP 3x	CR	3.0x10/6 CD 34	Ne	CR – 26 měs.
III.	31	Seminom	PEB 4x	Moderate	PR	VeIP 3x	PR	6.1x10/6 CD 34	Ne	E, progresse
	28	EmbryoCa + TeratoCa	CH, PEB 4x, RT, VeIP 4x, VAB 6 3x	Advanced	Relaps	PEI 3x	TRM	9.0x10/6 CD 34	Ne	E
	24	EmbryoCa	PEB 4x	Minimal	PR	VeIP 3x	CR	9.3x10/6 CD 34	Ne	CR – 22 měs.
	33	Seminom + EmbryoCa	PEB 4x	Moderate	PR	VeIP 3x	CR	11.7x10/6 CD 34	Ne	CR – 3 měs.
	42	Seminom	PEB 4x	Minimal	PR	VeIP 3x	CR	8.1x10/6 CD 34	Ne	0

Vysvětlivky:

EmbryoCa - embryonální karcinom
Yolk sac - nádory žlutkového vaku
ChorioCa - choriokarcinom
CH - chirurgická léčba (cytoredukce)
RT - aktinoterapie
CR - kompletní odpověď
PR - částečná odpověď
TRM - úmrtí v důsledku léčby
NC - počet nukleárních buněk na kilogram hmotnosti nemocného
CD 34+ - množství CD 34+ buněk na kilogram hmotnosti
Dřeň - Ano - proveden odběr kostní dřeně
Dřeň - Ne - neproveden odběr kostní dřeně
R - remobilizace
E - exitus
0 - vysocedávkovaná chemoterapie zatím neprovedena
Druh - druh (typ) „záchranné“ léčby
Důvod - důvod, proč „záchranná“ léčba podávána
Stadium - dle INDIANA klasifikace (viz text)
Věk - udáván v letech

PEB cis-platina 20 mg/m²; 1.-5. den
etoposid 100 mg/m²; 1.-5. den
bleomycin 15 mg/m²; 1., 8. + 15. den
VeIP cis-platina 20 mg/m²; 1.-5. den
ifosfamid 1200 mg/m²; 1.-5. den
vinblastin 0.11 mg/kg; 1., 2. den
PEI cis-platina 20 mg/m²; 1.-5. den
ifosfamid 1200 mg/m²; 1.-5. den
etoposid 75 mg/m²; 1.-5. den
etoposid 150 mg/m²; 1.-3. den
EAM dactinomycin 2 mg; 1. den
methotrexat 50 mg/m²; 1. den
VAB6 cyklofosfamid 600 mg/m²; 1. den
bleomycin 15 mg/m²; 1.-3. den
vinblastin 0.11 mg/kg; 1., 2. den
cis-platina 120 mg/m²; 4. den

tokové cytometrie (na přístroji Coulter Epics XL, Coulter Corporation, Hialeah, FL, USA) za využití přímo značené PE - konjugované monoklonální protilátky (HPCA-2, Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) proti CD 34 antigenu a FITC - konjugované monoklonální protilátky proti CD 45 (immuno-techn, Marseille, France) dle doporučení ISHAGE.

Výsledky

Podrobné údaje jsou uvedeny v Tab.1.

Od nemocných ze skupiny I (sklizených po 3 cyklech „záchranné“ chemoterapie) bylo získáno 1.63x10⁶ CD 34+ buněk /kg (0.67-2.78), k obstarání tohoto množství bylo průměrně zapotřebí 5 aferéz (3-7), které byly započaty v den 7 (6 - 10) od zahájení aplikace G-CSF, t.j. v den 12 (11 - 15) od startu „záchranného“ protokolu. Ve skupině II (CPA s G-CSF) byly výtěžky velmi dobré: 4.54x10⁶ CD 34+ buněk /kg (3.0 - 6.02), bylo nutno provést průměrně 3 aferézy (2-6), které byly započaty v den 6 (5 - 7) od počátku aplikace G-CSF. Největších výtěžků však bylo docíleno ve skupině III (nyní používaným postupem: „sklizní“ PBSC po 1. cyklu „salvage“ chemoterapie a po aplikaci G-CSF): 8.8x10⁶ CD34+ buněk/kg (6.1-11.7). Průměrně byly CD 34+ buňky nasrádány v průběhu 2 sezení (1-4), sklizení bylo započato v den 7 (6 - 8) od zahájení aplikace G-CSF, t.j. v den 12 (11 - 13) od startu chemoterapie 2. řady. Výhodou tohoto postupu je rovněž fakt, že u žádného pacienta se nevyskytly projevy významnější hematologické či nehematologické toxicity, neboť se jedná o běžný protokol, který se může podávat ambulantně. Naopak, po aplikaci vysokých dávek CPA dochází běžně k projevům hematologické i nehematologické toxicity. Toto se potvrdilo i u všech nemocných ve skupině II.: hodnoty leukocytů alespoň na jeden den poklesly pod

1.0x10⁹/l a trombocytů pod 20x10⁹/l. U jednoho nemocného se rovněž objevil febrilní stav, pro který bylo nutno podávat kombinaci širokospektrých antibiotik.

Diskuse

Při léčbě některých zhoubných nádorů včetně germinativních tumorů varlat je v posledních letech převládajícím trendem provádět HDCH a PBSCT dříve než dojde ke vzniku refrakterního onemocnění. Tento léčebný postup se může aplikovat jednak u nemocných s relapsem nemoci jako součást „záchranné“ léčby. Další možností je použít HDCH u pacientů s některými vstupně prognosticky nepříznivými parametry již dokonce v samotném úvodu terapie (up-front therapy) (10). Zřejmě nejčastější indikací HDCH je její užití u těch pacientů s germinativními nádory varlat, kteří neodpoví optimálně na konvenčně dávkovanou úvodní léčbu a u nichž standardně dávkovanou terapií není dosaženo kompletní, ale pouze jen parciální odpovědi.

Předpokladem aplikace cytostatik v množstvích blízkých se maximálně tolerovaným dávkám a způsobujících následkem letální hematologické toxicity až myeloablaci, je úspěšný odběr dostatečného množství PBSC s jejich následnou kryokonzervací v dostatečném předstihu před HDCH. Důvodem transplantace PBSC po HDCH je urychlení obnovení hematopoese, které vede ke zkrácení doby těžké dřeňové aplázie z několika týdnů na 8 i méně dní (1,5,7). Na HDCH je nutno myslet již od první rozvahy o terapii, neboť jsou-li pacienti při použití „salvage“ léčebných protokolů vystaveni působení léků poškozujících kmenové a progenitorové buňky, jako je cis-platina (nebo například BCNU, melphalan či chlorambucil u nemocných s hematologickými malignitami), tak může dojít

k tomu, že již nikdy nepůjde získat dostatečné množství CD 34+ buněk (1-3,8-9,12,17,20). Aby tedy nebyl tento léčebný postup ohrožen, měly by být PBSC získány dříve, než jsou tyto léky nemocným, většinou v opakovaných cyklech chemoterapie, podány.

To se potvrdilo i v naší praxi, neboť u třech pacientů ve skupině I, kterým v posledních 3 měsících před strádáním PBSC bylo aplikováno nejméně 60 mg/m² cis-platiny, se nepodařilo získat optimální množství PBSC. Proto bylo nutno změnit strategii. U nemocných ze skupiny II. jsme použili speciální mobilizační protokol: CPA s G-CSF, a dosáhli jsme slušných výsledků. Nevýhodou tohoto postupu však bylo možné zkrácení skutečného účinku chemoterapie 2. řady a tím i narušení léčebných protokolů, v nichž je aplikace jiných cytostatik důvodem k vyloučení nemocného ze sledování. Protože kostní dřev je u nemocných s testikulárními nádory postižena jen velmi vzácně (méně než v 1% případů), tak jsme počali „sklizeť“ CD 34+ buňky ihned po 1. cyklu „záchranné“ terapie. Ukázalo se, že se jedná o účinný postup, jehož výhodou je možnost poměrně spolehlivě předpovědět začátek aferéz, což je důležité z organizačních důvodů.

Významný je rovněž časový interval, který uplyne od poslední chemoterapie (9,20). Je-li totiž získávání PBSC prováděno časně po cytostatické léčbě, tak téměř jistý neúspěch je způsoben především tím, že počet progenitorů (jak nezralých, tak i zadaných) je výrazně zredukován. Toto však nemusí být setrvalý stav, neboť v časovém odstupu mnoha měsíců (období

dvou měsíců je považováno za příliš krátké - 9) se odběr dostatečného množství PBSC může podařit i v případě, že tento nemocný byl v dávne minulosti vystaven aplikaci těchto medikamentů. Tato situace se rovněž vyskytla v našem souboru u mohutně předléčeného nemocného ze skupiny III, u kterého byla rok dlouhá pauza mezi poslední chemoterapií obsahující cis-platinu a strádáním CD 34+ buněk. Avšak u pacientů s aktivním zhoubným onemocněním nelze čekat mnoho měsíců na okamžik, kdy dojde k odeznění negativního účinku cis-platiny a proto se jako nejvhodnější jeví provádět „sklizeň“ PBSC jak nejdříve to lze uskutečnit.

Závěr

V současné době ve světě probíhá více randomizovaných studií, zkoumajících úlohu HDCH a PBSCT v léčbě germinativních nádorů varlat. Několik českých pracovišť se účastní studie označované IT-94, která je koordinována Pracovní skupinou pro solidní nádory při Evropské společnosti pro transplantaci krve a kostní dřevě (EBMT - European Group for Blood and Marrow Transplantation, Solid Tumors Working Party) (6). Počty nemocných léčených HDCH s PBSCT tedy budou zřejmě stoupat, a proto se domníváme, že naše zkušenost, byť zatím bohužel limitována nízkým počtem zařazených pacientů, bude využitelná i ostatními centry aplikujícími HDCH.

Práce byla částečně podporována grantem IGA MZD ČR

Literatura

1. Bensinger, W.I., Longin, K., Appelbaum, F. et al.: Peripheral blood stem cells (pbscs) collected after recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rhg-CSF): An analysis of factors correlating with the tempo of engraftment after transplantation. *Br.J.Haematol.*, 89, 1995, s. 689-690.
2. Bensinger, W.I., Appelbaum, F., Rowley, S. Et al.: Factors that influence collection and engraftment of autologous peripheral-blood stem cells. *J.Clin.Oncol.*, 13, 1995, s. 2547-2555.
3. Botnick, L.E., Hannon, E.C., Vigneulle, R. et al.: Differential effects of cytotoxic agents on hematopoietic progenitors. *Cancer Res.*, 41, 1981, s. 2338-2343.
4. Broun E.R., Nichols C.R., Tricot G. Et al.: High dose carboplatin/VP-16 plus ifosfamide with autologous bone marrow support in the treatment of refractory germ cell tumors. *Bone Marrow Transplant.*, 7, 1991, 53-56.
5. Byrne, J.L., Haysen, A.P., Russel, N.H.: Use of haematopoietic growth factors: commentary on the ASCO/ECOG guidelines. *Blood Reviews* 11, 1997, s. 16-27.
6. Cetkovský, P., Koza, V., Jindra P. et al.: Vysoké dávky chemoterapie s transplantací autologních kmenových buněk v léčbě nemocných se zhoubnými nádory varlat: popis případu. současné názory na tento druh léčby a nabídka spolupráce v rámci Evropské skupiny pro transplantace kostní dřevě (EBMT). *Klin.Onkologie*, 6, 1994, s. 175-179.
7. Cetkovský, P., Koza, V., Jindra, P. et al.: Individual criteria could be optimal for starting G-CSF application after autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 20, 1997, s. 639-641.
8. Demir, T., Buckner, C.D., Gooley, T., Et al.: Factors influencing collection of peripheral blood stem cells in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.*, 17, 1997, s. 937-941.
9. Dreger, P., Kloss, M., Petersen, B. et al.: Autologous progenitor cell transplantation: Prior exposure to stem cell-toxic drugs determines yield and engraftment of peripheral blood progenitor cell but not of bone marrow grafts. *Blood*, 86, 1995, s. 3970-3978.
10. Droz J.P., Pico J.L., Biron P. et al.: High-dose chemotherapy with ABMT in first line treatment of poor risk non-seminomatous germ cell tumors. *Bone Marrow Transplant*, 10,S2, 1992, 27.
11. Einhorn L.H.: Testicular cancer as a model for curable neoplasm. The Richard and Linda Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Res.*, 41, 1981, 3275-3280.
12. Haas, R., Mohle, R., Fruhauf, S. et al.: Patients characteristics associated with successful mobilizing and autografting of peripheral blood blood progenitor cells in malignant lymphoma. *Blood*, 83, 1994, s. 3787-94.
13. Jindra, P., Koza, V., Cetkovský, P. et al.: Cyclophosphamide 3g/m² and G-CSF is an effective and safe outpatient-based PBSC mobilising regimen: a single centre experience (Letter). *Bone Marrow Transplant.*, 20, 1997, s. 91-93.
14. Jones, H.M., Jones, S.A., Watts, M.J. et al.: Development of a simplified single-apheresis approach for peripheral-blood progenitor-cell transplantation in previously treated patients with lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, 1693-1720.
15. Linkesch W., Krainer M., Wagner W.: Phase I/II trial of ultrahigh carboplatin, etoposide, cyclophosphamide with ABMT in refractory or relapsed non-seminomatous germ cell tumors. *Bone Marrow Transplant.*, 10,S2, 1992, 28-29.
16. Loehrer P.J., Lauer R., Roth B.J. et al.: Salvage therapy in recurrent germ cell cancer: ifosfamide and cisplatin plus either vinblastine or etoposide. *Ann. Intern. Med.*, 109, 1988, 540-546.
17. Neben, S., Hellman, S., Montgomery, M. et al.: Hematopoietic stem cell deficit of transplanted bone marrow previously exposed to cytotoxic agents. *Exp. Haematol.*, 21, 1993, 156-161.
18. Nichols C., Broun E.R., Einhorn L.: New directions in the treatment of poor risk and recurrent germ cell cancer: review of American clinical trials using high-dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant.*, 10,S2, 1992, 22-25.
19. Nicols C.R., Tricot G., Williams S.D. et al.: Dose-intensive chemotherapy in refractory germ cell cancer: A phase I/II trial of high dose carboplatin and etoposide with autologous bone marrow transplantation. *J. Clin. Oncol.*, 7, 1989, 932-939.
20. Pannacciulli, L., Castello, G., Lerza, R. et al.: Cisplatin inhibits erythroid committed progenitor (BFU-E) mobilization in peripheral blood. *Eur.J.Haematol.*, 61, 1998, s. 65-70.

INDUKČNÍ LÉČBA NEMOCNÝCH S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ PROTOKOLEM ICE

ICE INDUCTION THERAPY OF PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

MAYER J., ŽÁČKOVÁ D., KRAHULOVÁ M., VÁŠOVÁ I., TOMÍŠKA M., KRÁL Z., KRAHULCOVÁ E., KOŘÍSTEK Z., KREJČÍ M., KLABUSAY M., DOUBEK M.

II. INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FN BRNO - BOHUNICE

Souhrn: *Východiska:* Náznaky na indukční léčbu nemocných s akutní myeloidní leukémií (AML) nejsou zcela jednotné. Na našem pracovišti je od roku 1997 používán moderní protokol ICE a jsou předkládány první léčebné výsledky. *Typ studie a soubor:* Popis souboru 20 nemocných s AML léčených indukční chemoterapií ICE: idarubicin 10 mg/m²/den, dny 1-3; cytosinarabiosid 100 mg/m²/den v kontinuální infúzi, dny 1-7; etoposid 100 mg/m²/den, dny 1-5. V práci je také podrobně hodnocena toxicita léčby. *Výsledky:* Kompletní remise byla dosažena u 70 % nemocných, 10 % nemocných remise nedosáhlo a 20 % nemocných během indukční léčby zemřelo. Léčba byla provázána řadou infekčních i neinfekčních komplikací, jak je u tohoto typu terapie běžné. Léčba těchto nemocných je velmi drahá. *Závěry:* AML představuje závažné, rychle probíhající a život bezprostředně ohrožující onemocnění a vyžaduje neodkladné řešení na specializovaném pracovišti.

Klíčová slova: akutní myeloidní leukémie, idarubicin, etoposid, cytosinarabiosid.

Summary: *Background:* There are several possibilities for induction therapy of patients with acute myeloid leukemia (AML). Since 1997, we have used a modern ICE protocol in our department. In this article, we describe our results. *Design and subjects:* We treated 20 patients with induction therapy ICE: idarubicin 10 mg/m²/day, days 1-3; cytosinarabiosid 100 mg/m²/day in continuous infusion, days 1-7; etoposide 100 mg/m²/day, days 1-5. Particular concern was devoted to toxicity of administered therapy. *Results:* Complete remission was achieved in 70% of treated patients, 10% did not achieve remission, and 20% of patients died during the induction therapy. The induction therapy was accompanied by many infectious as well as non-infectious complications. These are common during the induction treatment. The therapy is very expensive. *Conclusions:* AML is serious, rapidly progressing and life-threatening disease, which needs urgent treatment at a specialized department.

Key words: acute myeloid leukemia, idarubicin, etoposid, cytosinarabiosid.

Úvod a cíl práce

Akutní myeloidní leukémie (AML) představují skupinu velmi závažných onemocnění. Slovo akutní vyznačuje, že jde o onemocnění s prudkým nástupem, velmi často u osob bez jakékoliv známé hematologické choroby v anamnéze. První příznaky onemocnění se objevují zpravidla jen několik týdnů před zjištěním definitivní diagnózy (5). Dále termín akutní vyjadřuje průběh onemocnění. Neléčená, nebo nedostatečně léčená choroba nemocného nemilosrdně zahubí většinou během několika týdnů. To je patrné z více starších prací, hodnotících přežití takových nemocných. Boggs et al. (5) udávají medián přežití mezi 2–3 měsíci a podobná data uvádí i Koza et al. (16). Vzhledem k agresivitě tohoto onemocnění představují AML urgentní onkologickou záležitost vyžadující okamžitou intenzivní léčbu na specializovaném pracovišti. Dnešní moderní terapie AML je velmi razantní a náročná, jak pro nemocného, tak pro ošetřující personál, i finančně. Patří mezi nejnáročnější onkologické postupy vůbec. Dnešní snažení je však také korunováno úspěchy a je možné říci, že desítky procent nemocných mohou být vyléčeny. Prognóza starších nemocných (nad 55–60 let) však zatím i nadále zůstává vážná a léčebné výsledky zdaleka nejsou tak dobré jako u nemocných mladších.

Současná strategie léčby AML je založena na úvodní tzv. indukční léčbě a na léčbě postremisní. Indukční léčba (induction therapy) má za cíl navodit kompletní hematologickou remisi onemocnění, léčba postremisní (postremission therapy) potom zabránit relapsu a likvidovat zbytkovou chorobu. Postremisní terapie může obnášet tzv. konsolidaci remise (consolidation therapy) konvenční chemoterapií nebo vysokodávkovanou chemoterapií s následným podáním autologních či

alogenních křvetvorných buněk (autologní či alogenní transplantace). Tím se léčba nemocného ukončí. Součástí postremisní terapie může ale být i déletrvající cytostatická udržovací terapie, zpravidla nízkými dávkami (maintenance therapy). Během celé léčby je nutné velmi šetrně balancovat mezi dvěma nebezpečími: málo intenzivní terapie sice nemá tolik vedlejších efektů, ale je také méně účinná a ve svém důsledku vede k nižšímu procentu vyléčených; intenzivnější terapie s sebou zase nese riziko závažných vedlejších účinků a úmrtí nemocného na komplikace terapie. V současné době jsou sice tyto výše uvedené zásady léčby AML známy, ale o konkrétní provedení této léčby se neustále vedou spory. Řada nemocných je proto stále zařazována do různých studií a léčebných protokolů, ale i přes intenzivní klinický výzkum zůstává mnoho nejasností. Velmi podrobný přehled o možnostech současné léčby AML jsme v současné době publikovali (29).

O tomto závažném onemocnění, kterým AML jednoznačně je, existuje v českém písemnictví z poslední doby jen nemnoho zpráv (16, 17). Proto jsme se rozhodli podat informaci o prvních 20 nemocných léčených na naší klinice podle nového jednotného protokolu. Indukční terapii provádíme kombinací ICE (idarubicin, cytosinarabiosid, etoposid). Idarubicin se v indukční léčbě ukázal účinnější než daunorubicin (3, 35, 36) a přidání etoposidu může remisi zkvalitnit prodloužením jejího trvání a u některých skupin nemocných i prodloužením přežití (4).

Metody

Indukční léčba ICE je úvodním krokem komplexní léčebné strategie, určené pro mladší dospělé nemocné s AML (typ M3) do cca 55 let věku. Poté je plánována konsolidační

chemoterapie, zakončená vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací kostní dřeně nebo s alogenní transplantací periferních kmenových buněk. Autologní transplantace bude provedena u pacientů, kteří nemají HLA identického sourozence ochotného darovat transplantát. Celý léčebný protokol má následující strukturu uvedenou níže. Toxicita indukční chemoterapie byla sledována podle kritérií ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group). Jde o šestistupňové škály, kdy stupeň 0 znamená, že se příslušná toxická reakce nevyskytovala, stupeň 4 znamená výskyt život ohrožující komplikace a stupeň 5 výskyt komplikace, která vedla k úmrtí nemocného. Kompletní remise (CR) byla hodnocena podle kritérií National Cancer Institute (8).

Indukční léčba

Idarubicin 10 mg/m²/den, dny 1-3

Cytosinarabinosid 100 mg/m²/den v kontinuální infúzi, dny 1-7

Etoposid 100 mg/m²/den, dny 1-5.

Není-li po první chemoterapii dosaženo kompletní remise (CR), indukční léčba se opakuje. Po reparaci krvetvorby následuje konsolidační léčba. Přestože je tématem hodnocení v této práci jen indukční terapie, pro úplnost uvedeme celý protokol.

Konzolidace před zamýšlenou autologní transplantací kostní dřeně

Je podána celkem dvakrát, druhá po reparaci krvetvorby po předchozí konsolidaci, v následujícím složení:

Mitoxantron 10 mg/m²/den, dny 1-3

Cytosinarabinosid 1,2 g/m² dvakrát denně v infúzi trvající 2 hodiny po 12 hodinách, dny 1-4.

Konzolidace před zamýšlenou alogenní transplantací periferních kmenových buněk

Mitoxantron 12 mg/m²/den, dny 1-2

Cytosinarabinosid 500 mg/m² dvakrát denně v infúzi trvající 2 hodiny po 12 hodinách, dny 1-4.

Není-li možné z technických důvodů poté provést alogenní transplantaci, je možné podat další konsolidaci se stejnou dávkou mitoxantronu, ale cytosinarabinosid se podá dny 1-5 v dávce 100 mg/m²/den v kontinuální infúzi.

Odběry transplantátů a vysokodávkovaná chemoterapie

Po konsolidačních terapiích se odebere kostní dřeň. V případě autologní transplantace slouží jako vlastní transplantát, v případě alogenní transplantace jako záložní transplantát. Odběr dřeně a její kryokonzervace se provádí podle metodik již dříve publikovaných (21,15). Odběr periferních kmenových buněk pro transplantaci byl již také popsán (25). Vlastní transplantace je provedena po režimu BuCy2 (busulfan celkem 16 mg/kg a cyklofosamid 120 mg/kg). U oběhových pacientů jsou dávky cytostatik upraveny na ideální tělesnou hmotnost.

Podpůrná léčba

Celá léčba AML se neobejde bez masivní podpůrné terapie. Ta je na našem pracovišti prováděna podle zásad, které byly již dříve publikovány (9, 14, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 27, 28). Další zásady byly publikovány v monografii (13). Jde hlavně o zajištění žilního přístupu, řešení nutričních a metabolických problémů, léčbu nevolnosti a zvracení a substituční terapii krevními deriváty. Profylakticky standardně podáváme flukonazol v dávce 2x200 mg denně a cotrimoxazol v dávce 2x480 mg denně. Cotrimoxazol je zamýšlen jako profylaxe Pneumocystis carinii. Do roku 1998 jsme podávali profylakticky také ciprofloxacin v dávce 2x500 denně. Profylaktické podávání je zahájeno per os a v případě nemožnosti této cesty je zajištěno podání iv. Nemocní také pravidelně užívají lokálně do dutiny ústní chlorhexidin. Neutropeničtí nemocní jsou umís-

těni na pokoji se zvýšeným hygienickým režimem, pokud možno sami, perzonal nosí obličejovou masku a důsledně si umývá ruce v dezinfekčním prostředku. V případě febrilní neutropenie je ihned zahajována empirická léčba širokospektrými antibiotiky s antipseudomonádovým účinkem a podle potřeby je přidáván i vankomycin. Mykotické infekce jsou léčeny amfotericinem B. Etiologie plicních komplikací je vyšetřována pomocí bronchoskopie a bronchoalveolární laváže. Trombocytární koncentráty jsou podávány profylakticky při nekomplikovaném průběhu trombocytopenie při hodnotách trombocytů 10-20.10⁹/l. Trombokonzentráty nejsou paušálně deleukotizovány. V případě nutnosti je podávána parenterální výživa, dominantně ve vaku typu „all in one“. O takové nemocné pečují lékaři – specialisti se zaměřením na léčebnou výživu. Růstové faktory nebyly standardní součástí naší léčby. Vyjimečně mohly být použity u nemocných v hluboké neutropenii a se závažnými infekčními komplikacemi. Jsou však plánovány po autologní transplantaci kostní dřeně (GM-CSF v dávce cca 5 µg/kg/den sc.).

Výsledky

Od března 1997 do října 1998 bylo indukční chemoterapií podle protokolu ICE léčeno celkem 20 mladších nemocných s AML. Šlo o 10 žen věkového rozmezí 42-56 let (medián 48 let) a 10 mužů věkového rozmezí 19-53 let (medián 45,5 let). Struktura jednotlivých typů AML dle FAB klasifikace byla následující: M1 – 4 nemocní, M2 – 4 nemocní, M4 – 7 nemocných, M5 – 2 nemocní, M6 – 1 nemocný a M7 – 1 nemocný. Jeden nemocný měl bifenotypickou akutní leukémii. Pacienti sice většinou netrpěli žádným vážnějším souběžným či předchozím onemocněním, přesto se u nich vyskytovalo více různých dalších chorob (např. hypertenzní nemoc, cholecystolitíza, stav po infekční hepatitidě, hypotyreóza, astma bronchiale, těžká artróza s totální endoprotézou kyčlí oboustranně). Medián vstupního skóre podle Karnofskyho byl 70 %. Kompletní remise bylo dosaženo u 70% nemocných, u všech již po první indukční chemoterapii. Dva nemocní (10 %) měli rezistentní chorobu a nedostali se do remise ani po reindukci, ani po jiném záchranném režimu, a 4 nemocní během indukční léčby zemřeli (20 %). Příčiny úmrtí během indukční terapie byly následující: multiorgánové selhání již 3. den chemoterapie u nemocného s velmi pokročilou chorobou, hyperleukocytózou a ve velmi špatném celkovém stavu již při přijetí; mykotická pneumonie u nemocné s prokázanou infiltrací plic blastickými elementy před zahájením chemoterapie; ARDS (šoková plic) a alveolární hemoragie u nemocné ve velmi špatném stavu již při přijetí (např. nekroza části tváře s perforací); těžká mukozitida zažívacího traktu spolu se salmonelovou enterokolitidou. K úmrtím došlo 3. až 25. den od zahájení chemoterapie ICE.

V tabulce č. 1 jsou shrnuty informace o toxicitě indukční chemoterapie ICE podle kritérií ECOG. Hodnoceno bylo jen 19 nemocných. Pacient, který zemřel již 3. den, nebyl do hodnocení zahrnut. Je nutno poznamenat, že všichni nemocní dostávali jako profylaxi nevolnosti a zvracení antiemetika. Většinou se jednalo o antagonisty 5HT₃ receptorů, velmi často ale i v kombinaci s jinými látkami (thietylperazin, metoklopramid, dexametazon, benzodiazepiny). Hemorhagická diatéza se vyskytovala většinou ve formě kožního nebo slizničního krvácení. Závažný byl jeden případ kardiotoxicity. Nemocná 3. den chemoterapie upadla opakovaně do krátkodobého bezvědomí na podkladě závažné bradykardie. Stav si vynutil zavedení dočasné kardiostimulace. Nutnost zavést kanylu do centrální žíly vyvstala u celkem 16 nemocných, ať již hned na začátku indukční terapie nebo při rozvoji závažnějších komplikací. Kanylace byla jednou provázena vznikem pneumothoraxu a jednou vznikem hematomediastinu. Velmi zajímavé je zjištění, že u 42 % nemocných se v průběhu hospitalizace vyvinul toxoalergický exantém. Jeho původ se klinicky jevil spíše po antibioticích než po cytostaticích použitých v indukční léčbě.

Tabulka 1. Přehled toxicit indukční chemoterapie ICE.

Toxicita režimu ICE	Stupeň toxicity podle kritérií ECOG					
	Počet nemocných (%)					
	0	1	2	3	4	5
Nevolnost a zvracení	9 (47)	4 (21)	5 (26)	1 (5)	0	0
Krvácení	3 (16)	9 (47)	6 (32)	1 (5)	0	0
Kardiotoxicita	18 (95)	0	0	0	1 (5)	0
Stomatitida	5 (26)	6 (32)	3 (16)	5 (26)	0	0
Střevní toxicita	9 (47)	5 (26)	3 (16)	2 (11)	0	0
Jaterní toxicita	8 (42)	3 (16)	7 (37)	1 (5)	0	0
Nefrotoxicita	16 (84)	1 (5)	2 (11)	0	0	0

Průměrná doba trvání leukopenie pod $1.10^9/l$ byla 16,5 dne (4-25 dnů) a trvání trombocytopenie pod $20.10^9/l$ 14 dnů (6-26 dnů). Vzestup trombocytů na hodnoty nad $50.10^9/l$ byl pozorován v průměru 23. den od zahájení chemoterapie. Všem hodnoceným 19 nemocným byly v období dřeňového útlumu po ICE chemoterapii podávány krevní deriváty, a to průměrně jednomu nemocnému 9,5 erytrocytárních mas (6-27) a 10 trombokoncentrátů (4-32). Devět nemocných muselo dostávat i mraženou plazmu a dva nemocní antitrombin III. Zejména z důvodů mukozitidy zažívacího traktu byla nutná u 3 (16 %) nemocných částečná a u 4 (21 %) nemocných úplná parenterální výživa. Čtyři nemocní (21 %) dostávali postupně oba typy výživ. Délka podávání částečné parenterální výživy byla v průměru 4 dny (1-9 dnů) a úplné parenterální výživy 11 dnů (4-21 dnů).

Hodnocení infekčních komplikací léčby a febrilních stavů je složité vzhledem k tomu, že nemocní byli často již s horečkami nebo s infekcemi přijati. Febrilní neutropenie byla přítomna u všech nemocných. Její průměrná délka činila 17,6 dne (2-33 dnů). Jako lépe definované infekční komplikace je možné vyjmenovat tyto: sepse (6-krát), soor dutiny ústní (3krát), pneumonie (2-krát) a dále močová infekce, již zmíněná salmonelová enterokolitida, periproktální absces a herpes labialis. Nejčastěji izolovanými mikroorganismy z hemokultur byly koaguláza negativní stafylokoky (10krát), zachyceny byly ale také alfa hemolytické streptokoky (jedenkrát), korynebakteria (2krát), *Pseudomonas aeruginosa* (2krát), *Klebsiella pneumoniae* (2krát) a *Enterobacter aerogenes* (jedenkrát). Další potenciálně patogenní mikroorganismy byly izolovány z moče, stolice, hrdla, sputa a z bronchoalveolární tekutiny. Nemocní dostávali v průběhu dřeňového útlumu po indukční léčbě řadu antibiotik, často v kombinacích. Deset nemocných (53 %) dostávalo také amfotericin B.

Vzhledem k celkově krátkému mediánu sledování celé skupiny nemocných, z nichž mnozí zatím nedokončili celý léčebný plán, se tato práce soustředí jen na indukční fázi. Další analýza celého protokolu bude předmětem jiného sdělení.

Diskuze

V léčbě AML jsme se rozhodli postupovat podle jednotného protokolu, založeného na mnoha zjištěních řady studií posledních let. Jako indukční režim jsme zvolili ICE. Klasickým indukčním režimem je již dlouhou dobu kombinace daunorubicinu a cytosinarabinosidu (32). Idarubicin se však v indukční léčbě ukázal účinnější než daunorubicin (3, 35, 36) a přidání etoposidu může remisi zkvalitnit (4). Režim ICE je v poslední době poměrně často používán a existuje řada jeho modifikací (2). My jsme zvolili dávkování, které publikovali Ganser et al. (11). Režim ICE byl měl zaručovat vysokou antileukemickou aktivitu a navodit solidní CR. Je nutné však podotknout, že velká studie, přímo porovnávající režim ICE s režimem daunorubicin a cytosinarabinosid, publikována dosud nebyla.

Bez intenzivní postremisní terapie dojde záhy k relapsům onemocnění (7). Bylo zjištěno, že intenzivnější postremisní terapie znamená také větší antileukemický efekt. Náš protokol pro mladší nemocné staví na tom, že autologní i alogenní transplantace poskytují větší antileukemický efekt, než samotná konzolidace chemoterapií (6, 24, 29, 34, 37). Nejasná zůstává otázka intenzity konzolidace před autologní či alogenní transplantací. V případě autologní transplantace je vhodné podat intenzivnější konzolidaci, neboť tím dojde k další redukci přežívajících leukemických buněk a může se tak snížit riziko, že odebraný transplantát bude kontaminován maligními buňkami (31). Velmi intenzivní konzolidace však může znamenat riziko, že nebude možné odebrat kvalitní transplantát. Cytosinarabinosid je lék s masivním antileukemickým účinkem a bylo zjištěno, že vyšší podaná dávka poskytuje lepší léčebné výsledky (30). Prokázaný antileukemický účinek má i mitoxantron (1, 36). Proto jsme se rozhodli v konzolidaci použít kombinaci cytosinarabinosidu a mitoxantronu a to v dávkování, které publikovali Sierra et al. (33). Složitá je také otázka vhodné chemoterapie před alogenní transplantací. Jestliže je tato konzolidace málo intenzivní nebo jsou nemocní ponecháni delší dobu do transplantace bez léčby, může to vyústit ve vysokou frekvenci relapsů (37, 12). Naopak, intenzivní konzolidace před alogenní transplantací může znamenat horší toleranci této transplantace (33). Proto jsme se rozhodli před alogenní transplantací použít konzolidace menší intenzity, ale opět s použitím cytosinarabinosidu a mitoxantronu, a to v dávkách, které publikovali Liang et al. (18). Pouze podávání mitoxantronu bylo o jeden den zkráceno.

Vyhodnocení celého průběhu léčby všech nemocných zatím není možné pro krátký interval sledování. Větší důraz byl proto kladen na vyhodnocení efektivity a toxicity indukční chemoterapie. Výsledky této indukční chemoterapie ICE se nezdají špatné. CR byla dosažena u 70 % nemocných. To je srovnatelné s výsledky, které publikovali Berman et al. (3) a Vogler et al. (35). Ti po použití indukční léčby založené na podání idarubicinu a cytosinarabinosidu dosáhli CR u 80 % a 86 % nemocných. Také procento rezistentních onemocnění není vysoké (10%) a je srovnatelné s jinými daty u nemocných léčebných idarubicinem. Berman et al. (3) udávají 13 % rezistentních onemocnění a Vogler et al. (35) 11 %.

Indukční léčba, a nakonec nejen ta, je vždy provázána určitým procentem komplikací. Tyto komplikace jsou někdy i život ohrožující a dokonce někteří nemocní na ně mohou i zemřít. Nejčastější smrtelné komplikace jsou infekční a krvácivé, jak bylo ukázáno například v rozsáhlé studii, analyzující příčiny úmrtí u 378 nemocných s AML (10). V této studii bylo zaznamenáno 49 % úmrtí jen na infekce, 11 % jen na krvácení, 20 % na infekce provázené krvácením, 11 % na orgánové selhávání a zbytek tvořily vícečetné nebo ne zcela jednoznačně známé příčiny. Infekce byly nejčastěji způsobeny bakteriemi a houbami. Těmto datům odpovídají i naše výsledky.

Indukční chemoterapie bývá provázána i řadou dalších komplikací. Ty vznikají jako bezprostřední následek podávání cytostatik, nebo v době útlumu krvetvorby navozeném chemoterapií. Podle dat uvedených ve výsledcích je vidět, že dřevový útlum je velmi závažný a dlouhotrvající. Závažná může být toxicita střevní a slizniční (mukozitida), vedoucí mnohdy k nutnosti parenterální výživy. Nezanedbatelná je i jaterní toxicita. Berman et al. (3) popisují výskyt nevolnosti a zvracení lehčího stupně u 77 % nemocných, těžšího u 17 %, mukozitidy lehčího stupně u 47 %, těžšího stupně u 10 %, průměrně lehčího stupně u 17 %, zvýšení bilirubinu u 38 % a elevaci AST (aspartátaminotransferáza) u 57 % nemocných. K signifikantnímu poklesu ejekční frakce došlo u 17 % pacientů. Byla použita WHO (Světová zdravotnická organizace) kritéria pro hodnocení toxicity a stupně 1 a 2 a také 3 a 4 byly spojeny dohromady. Velmi podobná data uvádí i Vogler et al. (35). Průměr lehčího stupně byl ale zaznamenán u 57 % nemocných a těžšího stupně u 16 %. Těmto údajům principiálně odpovídají i naše data. Je nutno však vzít v úvahu, že režim ICE, obsahující také etoposid, by mohl být celkově více toxický, než jen režim obsahující jen cytosinarabinosid a idarubicin. Zvláště postižení sliznic by mohlo být více vyjádřeno. Bishop et al.

(4), kteří srovnávali režim daunorubicin a cytosinarabinosid s režimem obsahujícím navíc etoposid, našli u nemocných, léčených etoposidem, signifikantně více průjmů.

Závěr

Domníváme se, že při léčbě mladších nemocných s AML podle našeho protokolu je dosažováno standardních výsledků. Režim ICE poskytuje vysokou antileukemickou účinnost a je provázen standardním procentem komplikací. Léčba AML je velmi specializovanou léčebnou procedurou, která by měla být prováděna pouze ve vyčleněných centrech. Tato léčba je také extrémně drahá. Je zodpovědností každého pracoviště vůči nemocným, aby výsledky léčby byly kontinuálně vyhodnocovány. Úspěšnost či neúspěšnost léčby AML je dilem prakticky celého kolektivu lékařů a sester, kteří o nemocné pečují. Naprosto dominantní část léčby totiž probíhá za hospitalizace, často, při rozvoji komplikací, na jednotce intenzivní péče.

Poděkování: autoři děkují pracovníkům z Oddělení klinické hematologie FN Brno Bohunice za zpracování a vyhodnocení nátěrů sternálních punkcí.

Literatura

1. Arlin Z., Case D.C., Moore J. et al.: Randomized multicenter trial of cytosine arabinoside with mitoxantrone or daunorubicin in previously untreated adult patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Leukemia* 4, 1990, 177-183.
2. Bassan R., Barbui T.: Remission induction therapy for adults with acute myelogenous leukemia: towards the ICE age? *Haematologica* 80, 1995, 82-90.
3. Berman E., Heller G., Santors J. et al.: Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood* 77, 1991, 1666-1674.
4. Bishop J.F., Lowenthal R.M., Joshua D. et al.: Etoposide in acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 75, 1990, 27-32.
5. Boggs D.R., Wintrobe M.M., Carter G.E.: The acute leukemias. Analysis of 322 cases and review of the literature. *Medicine* 42, 1962, 163-225.
6. Burnett A.K., Goldstone A.H., Stevens R.M.F. et al.: Randomised comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation to intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. *Lancet* 351, 1998, 700-708.
7. Cassileth P.A., Harrington D.P., Hines J.D. et al.: Maintenance chemotherapy prolongs remission duration in adult acute nonlymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 6, 1988, 583-587.
8. Cheson B.D., Cassileth P.A., Head D.R. et al.: Report of the national cancer institute - sponsored workshop on definitions of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 8, 1990, 813-819.
9. Doubek M., Mayer J.: Chlorhexidin v profylaxi a léčbě ústních komplikací protinádorové chemoterapie. *Klinická onkologie* 10, 1997, 188-191.
10. Estey E.H., Keating M.J., McCredie K.M. et al.: Causes of initial remission induction failure in acute myelogenous leukemia. *Blood* 60, 1982, 309-315.
11. Ganser A., Heil G., Seipelt G. et al.: Aggressive induction chemotherapy with idarubicin, ara-C, VP-16, followed by G-CSF and maintenance immunotherapy with interleukin-2 for high-risk ANLL. *Blood* 82, 1993, Suppl. 1, 128a.
12. Harousseau J.L., Cahn J.Y., Pignon B. et al.: Comparison of autologous bone marrow transplantation and intensive chemotherapy as postremission therapy in adult acute myeloid leukemia. *Blood* 90, 1997, 2978-2986.
13. Klener P., Vorlíček J. (editoři): *Podpůrná léčba v onkologii*. Praha, Galén 1998, 231 s.
14. Krahulová M., Mayer J., Dvořáková D.: Non-nested PCR cytomegalovirus detection as a basis for preemptive therapy of CMV infection. *Bone Marrow Transplant.* 21, 1998, Suppl. 1, S140.
15. Kořístek Z., Mayer J., Navrátil M.: Bone marrow processing by Cobe Spectra cell separator. *Bone Marrow Transplant.* 21, 1998, Suppl. 1, S196.
16. Kozá V., Švojirová M., Šlechtová J., Pittrová H.: Vývoj léčby akutních myeloidních leukémií na I. interní klinice v Plzni. *Vnitřní lékař.* 37, 1991, 160-165.
17. Lemež P., Vítek A., Jelínek J. et al.: Výsledky indukční léčby nově zjištěných akutních myeloidních leukémií ve studii ÚHKT-911. *Vnitřní lékař.* 41, 1995, 34-39.
18. Liang R., Chan T.K., Chu Y.C. et al.: Intensive consolidation chemotherapy for newly diagnosed acute myeloid leukemia using a regime containing moderate dose cytosine arabinoside and mitoxantrone. *Anti-Cancer Drugs* 6, 1995, 224-228.
19. Mayer J., Vorlíček J.: Lze zabránit vzniku mykotických infekcí u onkologických pacientů? *Vnitřní lékař.* 40, 1994, 783-787.
20. Mayer J., Skříčková J., Vorlíček J.: Postižení plic u imunokompromitovaných nemocných. Diferenciální diagnostika a využití bronchoalveolární laváže. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, Brno, 1995, 511 s.
21. Mayer J., Král Z., Kořístek Z. et al.: Zpracování periferních kmenových buněk pro transplantaci. Pracovní dny laboratorní hematologie, Hradec Králové, 27. - 28. 11. 1997, abstrakt č. 33.
22. Mayer J., Krahulová M., Vorlíček J.: Profylaxe časných komplikací spojených s alogenní transplantací krvetvorných progenitorových buněk periferní krve nebo kostní dřeně. *Klinická onkologie* 10, 1997, 115-115.
23. Mayer J., Krahulová M.: Virové infekce u onkologicky nemocných. *Klinická onkologie* 10, 1997, 161-166.
24. Mayer J., Vorlíček J.: Vysokodávkovaná chemoterapie s transplantací krvetvorných buněk v komplexní léčbě zhoubných nádorů. Brno, Masarykova univerzita, 1997, 70 s.
25. Mayer J., Krahulová M., Kořístek Z. et al.: Mobilization of peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation with G-CSF 16 ug/kg/day. *Bone Marrow Transplant.* 21, 1998, Suppl. 1, S196.
26. Mayer J., Krejčí M.: Febrilní neutropenie u onkologicky nemocných. *Klinická onkologie* 10, 1997, 99-105.
27. Mayer J.: Infekce způsobené gram pozitivními bakteriemi u onkologicky nemocných a význam vankomycinu v jejich léčbě. *Klinická Onkologie* 11, 1998, 137-143.
28. Mayer J., Doubek M.: Nefrotoxicita konvenčního amfotericinu B u onkologicky nemocných a možnosti její profylaxe. *Klinická Onkologie* 11, 1998, 101-106.
29. Mayer J.: Jaká je optimální terapie mladších nemocných s akutní myeloidní leukémií? *Klinická onkologie* 12, 1999, v tisku.
30. Mayer R.J., Davis R.B., Schiffer C.A. et al.: Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 331, 1994, 896-903.
31. Mehta J., Powles R., Singhal S. et al.: Autologous bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia in first remission: identification of modifiable prognostic factors. *Bone Marrow Transplant.* 16, 1995, 499-506.
32. Rai K.R., Holland J.F., Glidewell C.J. et al.: Treatment of acute myelocytic leukemia: A study by cancer and leukemia group B. *Blood* 58, 1981, 1203-1212.
33. Sierra J., Brunet S., Granena A. et al.: Feasibility and results of bone marrow transplantation after remission induction and intensification chemotherapy in de novo acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 14, 1996, 1353-1363.
34. Suciu S.: Meta analysis of randomized trials comparing autologous BMT (ABMT) vs chemotherapy or ABMT vs no further treatment as post-remission treatment in adult AML patients. *Blood* 90, 1997, No 10, Suppl. 1, abstract 492.
35. Vogler W.R., Velez-Garcia E., Weiner R.S.: A phase III trial comparing idarubicin and daunorubicin in combination with cytarabine in acute myelogenous leukemia: a southeastern cancer study group study. *J. Clin. Oncol.* 10, 1992, 1103-1111.
36. Wheatley K.: Meta-analysis of randomized trials of idarubicin or mitoxantrone versus daunorubicin as induction therapy for acute myeloid leukemia. *Blood* 86, 1995, No 10, Suppl. 1, abstract No 1724.
37. Zittoun R.A., Mandelli F., Willemze R. et al.: Autologous or allogeneic bone marrow transplantation with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. *N. Engl. J. Med.* 332, 1995, 217-223.

LEIOMYOSARKÓM MECKELOVHO DIVERTIKLA - ZRIEDKAVÁ PRÍČINA AKÚTNEHO KRVÁCANIA DO DOLNEJ ČASTI TRÁVIACEHO TRAKTU

LEIOMYOSARCOMA IN MECKEL'S DIVERTICULUM - LESS FREQUENT CAUSES OF LOWER ACUTE GASTROINTESTINAL BLEEDING

DROBČO J.

CHIRURGICKÉ ODDELENIE NSP LIPTOVSKÝ MIKULÁŠ

Súhrn: Meckelov divertikul je zriedkavou príčinou kvácania do tráviaceho traktu u dospelých. Nádory Meckelova divertikla patria tiež k zriedkavým ochoreniam spôsobujúcim krvácanie do tráviaceho traktu. Leiomyosarkómy predstavujú 10-20 % malígnych tumorov tenkého čreva. V 1 % sú lokalizované v hrubom čreve. Tieto tumory sa nevyznačujú zvláštnou symptomatológiou. Táto je závislá od ich veľkosti, lokalizácie a histologického nálezu. Často sú príčinou urgentného výkonu. Predstavujeme raritný prípad leiomyosarkómu Meckelovho divertikla, ktorý bol príčinou akútneho krvácania do tráviaceho traktu a bol diagnostikovaný počas akútneho chirurgického výkonu. Leiomyosarkóm Meckelovho divertikla sa vyskytuje veľmi zriedkavo.

Kľúčové slová: Meckelov divertikul, leiomyosarkóm, krvácanie do tráviaceho traktu

Summary: Meckel's diverticulum is not a common cause of lower intestinal bleeding in the adult. A tumor arising in the diverticulum is a much less common cause of bleeding. Leiomyosarcomas represent 10-20 % of malignant tumors in the small bowel and 1 % of those located in the large bowel. These tumors have aspecific symptoms depending on their size, location and histology. Intestinal leiomyosarcomas may be the cause of numerous types of surgical emergency. We describe the case of an adult male with acute painless intestinal bleeding, the cause of which was a leiomyosarcoma arising in a diverticulum Meckeli. It was diagnosed during an emergency exploratory celiotomy. The main cause of surgical emergency was an extremely rare complication of gastrointestinal leiomyosarcoma - intestinal bleeding.

Key words: Meckel's diverticulum, leiomyosarcoma, gastrointestinal bleeding

Úvod

Meckelov divertikul sa vyskytuje od 1 do 3 % u zdravej populácie. Je u väčšiny populácie asymptomatický po celý život. Krvácanie z divertikla je častejšie u detskej populácie, zriedkavejšie u dospelých (13). Sarkómy v gastrointestinálnom trakte (ďalej GIT) sa vyskytujú dosť zriedkavo. Iba 10 % zo všetkých sarkómov je lokalizovaných v GIT-e. Predstavujú 1-2 % zo všetkých malígnych nádorov GIT-u. Väčšina z nich je klasifikovaná ako leiomyosarkómy - 98 %, (2,12). V tenkom čreve predstavujú 10-20 % všetkých malígnych tumorov (8, 9, 17). V hrubom čreve je incidencia leiomyosarkómu 0,1-1 % (14, 19). Okolo 50 % leiomyosarkómov GIT-u vyžaduje urgentný chirurgický výkon (10). Asi 40 % leiomyosarkómov tenkého čreva spôsobí hemorágiu. (12). Leiomyosarkóm sa v Meckelovom divertikle vyskytuje v 44 % (11).

Kazuistika

45 ročný pacient bol prijatý na chirurgické oddelenie so známami krvácania do GIT-u v popoludňajších hodinách. Ráno zistil prímies tmavej krvi v stolici, potom mal ešte 2x stolicu s prímiesou čerstvej krvi. Cítil sa slabý. Nezvracal. Pociťoval bolesti v pravom podbrušku. V anamnéze má vredovú chorobu žalúdka. TK 110/70, P - 100/min., HB - 152 g/l pri prijíme s poklesom na druhý deň ráno na HB - 82 g/l. V klinickom náleze bola naznačená rezistencia v pravom podbrušku s palpácnou citlivosťou o priemere 6-7 cm. Ordinovaná konzervatívna terapia s následujúcimi vyšetreniami pre podozrenie na krvácajúci tumor GIT-u. Počas hospitalizácie sme vykonali nasledovné vyšetrenia:

Gastrofibroskopia žalúdka: nález v pažeráku, žalúdka a v dvanástniku až po D III bol bez patologického nálezu a bez nálezu zdroja krvácania.

Kolonoskopia: bola možná len po lienálnej flexúre. Prítomná bola čerstvá krv v lúmene hrubého čreva.

Vzhľadom na pokračujúce známky krvácania bol pacient indikovaný na operačnú revíziu dutiny brušnej a chirurgický výkon podľa pooperačného nálezu.

Peroperačný nález: Nachádzame tumor veľkosti 8x6x4 cm vyrostajúci z Meckelovho divertikla vo vzdialenosti cca 20 cm od cieka. Urobená jeho resekcia.

Histológia - diferencovaný leiomyosarkóm.

Mitotická aktivita: 1 mitóza na 10 polí veľkého zväčšenia. Ojedinele aj patologické mitózy. Excízie z okraja resekátu tenkého čreva sú histologicky bez nádorových zmien.

Pooperačný priebeh prebehol bez závažnejších komplikácií až na hojenie rany per secundam v oblasti umbilika.

Doba hospitalizácie: 3 týždne.

Pooperačne sme ordinovali chemoterapiu: Adriamycín 75 mg/m²/d á 3 t, 6 kúr.

Chemoterapeutická kúra až na alopeciu prebehla bez závažnejších komplikácií.

Pacient je 1,5 roka od operácie bez známok recidívy ochorenia.

Diskusia

Meckelov divertikul je zvyšok neobliterovaného ductus omphaloentericus. Vyskytuje sa asi u 1-3 % zdravej populácie. Je zväčša asymptomatický po celý život. Prvý krát ho popísal Lavater už v roku 1672. J. Meckel ho popísal až v 1809 roku. V 10 % prípadov jeho vrchol fixovaný vláknitým pruhom k umbiliku. v 90 % prípadov je voľne uložený v dutine brušnej. Jeho stena je tvorená všetkými vrstvami črevnej steny. V 50 % prípadov sa v ňom nachádza heterotropné tkanivo. V 80 % prípadov je to sliznica žalúdka. Zriedkavejšie sa v ňom nachádza tkanivo pankreasu, sliznica hrubého čreva, duodena, jejuína, alebo endometria (3, 13, 21).

Krvácanie z divertikla je častejšie u detskej populácie, zriedkavejšie u dospelých (3). Akútne krvácanie z čriev býva miernejšie ako z hornej časti tráviacej rúry, je recidivujúce, anemizujúce. V tenkom čreve tvorí len asi 1-5 % krvácaní do GIT-u.

Maligné nádory tenkého čreva tvoria len od 1,5 % do 3,2 % všetkých malignómov GIT-u, z toho sarkómy predstavujú 33 % (2, 11). O to zriedkavejšie je výskyt leiomyosarkómu v tejto lokalizácii. Dougherty v svojom súbore uvádza, že najčastejšou lokalizáciou leiomyosarkómu je žalúdok so 47 % a až na druhom mieste je tenké črevo s 24 %. Ďalej nasleduje rektum s 11 %, kolon so 7 %, duodenum s 5 % a oesophagus s 5 % (5). Conlon a Spiliotis uvádzajú, že až 25-35 % všetkých sarkómov tráviaceho traktu je lokalizovaných v tenkom čreve (2,19). Fiori a kol. zase uvádzajú trhoch odlišné údaje, kde výskyt leiomyosarkómu v tenkom čreve uvádzajú 14,5 %, adenokarcinómu 44,2 %, karcinoidu 27,6 %, lymfómu 10,5 % iné tvoria 3,2 % (7). V hrubom čreve je výskyt sarkómov nižší a predstavuje 6-10 % všetkých sarkómov tráviaceho traktu.

Incidenca sarkómov čreva je významne vyššia u mužov než u žien (2, 19). Medián veku výskytu pre sarkómy tráviaceho traktu je 60 rokov (13).

Benígne nádory Meckelovho divertikla sú: lipóm, leiomyóm, neurofibróm, angióm.

Maligné nádory Meckelovho divertikla sú: leiomyosarkóm 44 %, karcinoid 36 % a adenokarcinóm 20 % (12).

Leiomyosarkóm v Meckelovom divertikle sa vyskytuje podľa Dixona len v 18 % (4).

Fornaro uvádza jeho výskyt v rozmedzí od 8-22 % s prevalenciou v 5 a 6 dekáde (12). Z uvedených údajov vyniká, že leiomyosarkóm Meckelovho divertikla sa vyskytuje veľmi zriedkavo. Potvrdením toho je aj literárny údaj, že Kusumoto v roku 1992 našiel v literatúre popísaných len 47 prípadov (7).

Od 1992 som v literatúre našiel len 2 prípady - podobný prípad ako náš publikovali Gajdabrus a Denisenko, Konotop. Rusko v 1994, kde leiomyosarkóm Meckelovho divertikla bol taktiež príčinou akútneho krvácania do GIT-u. Bol lokalizovaný vo vzdialenosti 70 cm od coeka s rozmermi 3x5 cm. Antes a Basserman z Kemptenu, Nemecko v 1994 referujú o leiomyosarkóme Meckelovho divertikla, ktorý diagnostikovali pomocou enteroklýzy, s rozmermi 3x3,5 cm.

Klinicky sa nádory tenkého čreva manifestujú nasledovne:

Abdominalgia 63-70 %, palpovateľný tumor 35-40 %, enterorhagia 42,4-50 %, uzáver tenkého čreva 5-30 %, perforácia 7,1-33,4 %, astenia, anorexia 30 % (7). Medzi najčastejšie symptómy nádorov Meckelovho divertikla patrí bolesť a meléna. Iné symptómy ako palpovateľný tumor, intestinálna obštrukcia, pokles váhy, teplota, menej časté perforácie s peritonitídou alebo strangulácia tumoru sa vyskytujú zriedkavejšie. Zriedkavým nálezom je taktiež hemoperitoneum.

Diagnostika - stanovenie diagnózy býva ťažké. Krvácanie z Meckelovho divertikla je charakteristické prímiesou tmavočervenej krvi v stolici. Otázka angiografie v život ohrozujúcom krvácaní je otázna v malom krvácaní môže byť urobená - je otázna jej výťažnosť. Pomocným vyšetrením je vyšetrenie Technécium Tc 99m, ktoré môže preukázať Meckelov divertikel s heterotropnou žalúdočnou sliznicou, pretože Tc je akumulovaný v sliznici mucín produkujúcich bunkách (2, 8, 13, 18). Thus, McGrath a spol. tvrdia, že krvácanie napomáhačasnej diagnostike ochorenia a uvádzajú že až 40 % leiomyosarkómov sa prejavuje krvácaním do GIT-u (13). Z ďalších vyšetrení sa indikujú: GFS, kolonoskopia, USG, CT, MR, enteroklýza podľa ich dostupnosti a klinického stavu pacienta.

Liečba - jedinou efektívnou liečbou je chirurgická liečba zahrňujúca širokú segmentálnu resekciu čreva (10 cm bezpečnostný okraj na čreve) s nádorovo zmeneným Meckelovým divertiklom, ktorá by mala zahrňať aj širokú časť mesenteria. Thus, Hansen uvádzajú že 50 % všetkých sarkómov tráviaceho traktu vyžaduje urgentný chirurgický zákrok. Najčastejšou príčinou je perforácia a krvácanie do GIT-u (10, 21). Odpoveď na chemoterapiu a rádioterapiu je nízka. Prognóza je lepšia než u iných sarkómov, pretože v tejto lokalizácii nádor rastie pomalšie a menej častejšie metastazuje. Najčastejšie metastazovanie je hematogénnou cestou alebo intraperitoneálnym rozsevom (16). Ranchod uvádza 2-ročné prežívanie sarkómov tenkého čreva v 60 % a Akwari uvádza v 50 % 5-ročné prežívanie spoločne pre hrubé a tenké črevo (1, 17).

Záver

Krvácanie z leiomyosarkómu Meckelovho divertikla je zriedkavou príčinou krvácania do GIT-u u dospelých. Napriek tomu by sme mali pri akútnom krvácaní do GIT-u pamätať na možnosť krvácania z nádorového postihnutia Meckelovho diver-

Literatúra:

1. Akwari O. E., Dozols R. R., Weiland L. H., Beahrs O. H.: Leiomyosarcoma of the small and large bowel. *Cancer* 1978; 42: 1375-1384.
2. Conlon K. C., Casper E. S., Brennan M. F.: Primary gastrointestinal sarcomas: Prognostic variables. *AADE Ed J* 1995; 2: 26-31.
3. Černý J.: Chirurgia tráviacej rúry. Osveta, 1998, s. 254-256.
4. Dixon A. Y., McAnaw M., McGregor D. H., Keushkerian S., Miller L. K., Pierce P.: Dual Carcinoid Tumors of meckels Diverticulum Presenting as Metastasis in an Inguinal Hernia Sac: Case report with Literature review. *Am J Gastroenterol* 1998; 83: 1283-8.
5. Dougherty Mathew J., Compton C., Talbert M., Wood William C.: Sarcomas of the Gastrointestinal Tract *Ann Surg Nov.* 1991, s. 569 až 574.
6. Dunphy J. E., Way L. W.: Współczesne rozpoznanie i leczenie w chirurgii. PZWL Warszawa 1980, s. 654-655.
7. Fiori E., Ansali A., Galati G., Graziano P., Drudi F. M., Maccioni F., Cangemi V.: Leiomyosarcoma in diverticulo diguinale. Presentazione di un caso e revisione della Letteratura. *Giorg. Chir.* Vol. 17-n. 5-pp. 269-275 Maggio 1996.
8. Frost D. B., Mercaco P. D., Tyrell J. S.: Small bowel cancer: A 30-year review. *AADE Ed J* 1994; 1: 290-295.
9. Garcia Marcilla J. A., Sanchez Bueno F., Aguiar J., Parrilla Paricio P.: Primary small bowel malignant tumors. *Eur J Surg Oncol* 1994; 20: 630-634.
10. Hansen C. P.: Leiomyosarcomas of the gastrointestinal tract. *Ann Chir Gynaecol* 1994; 83: 13-1.
11. Kusumoto H., Yoshitake Hirokai, Mochida K., Kumashiro R., Sano Ch., Inutsuka S.: Adenocarcinoma in Meckel's Diverticulum: Report of a Case and Review of 30 Cases in the English and Japanese Literature *Am J Gastroenterol* Vol. 87, No 7, 1992, s. 910-913.
12. Lienati A., Iacovoni P., Cavalero G., Dealesi M., Perrone F., Zanardi F., Anselmo E.: Il carinoide del diverticolo di Meckel. *Min Chir.* Vol 50, No 5, 1995, s. 501-505.
13. McGrath P. C., Neifeld J. P., Lawrence W., Kay S., Horsley J. S., Parker G. A.: Gastrointestinal sarcomas. Analysis of prognostic factors. *Ann Surg* 1987; 206: 706-710.
14. Miller L. S., Barbarevich Ch., Friedman L. S.: Less frequent causes of lower gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology Clinics of North America*, Vol. 23, No. 1, 1994, s. 32-33.
15. Minski B. D., Cohen A. M., Hajdu S. L.: Conservative mangement of anal leiomyosarcoma. *Cancer* 1991; 68: 1640-1643.
16. Niv Y., Abu Avid S., Kopleman C., Oren M.: Torsion of leiomyosarcoma of Meckel's diverticulum. *Am J Gastroenterol* 1986; 81: 288-91.
17. Ranchod M., Kempson R. L.: Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitoneum. *Cancer* 1977; 39: 255-262.
18. Serour F., Dona G., Birkenfeld S., Balassiano M., Krispin M.: Primary neoplasms of the small bowel. *J. Surg Oncol* 1992; 49: 29-34.
19. Spiliotis J., Scopa C. D., Kyriakopoulou D., Pitsis A., Melachrinou M., Tzoracoleftherakis E., Androulakis J.: Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. A 10-year experience. *Eur J Surg Oncol* 1992; 18: 580-584.
20. Wolf O., glaser F., Kuntz C., Lehnert T.: Endorectal ultrasound and leiomyosarcoma of the rectum. *Clin Invest* 1994; 72: 381-384.
21. Nyhus L. M., Baker R. J.: *Mastery of Surgery*. Little, Brown, Boston, 1992, s. 1152-1164.

MILTEFOSIN: INOVACE V PALIATIVNÍ TERAPII KOŽNÍCH LÉZÍ KARCINOMU PRSU

MILTEFOSINE: AN INNOVATIVE APPROACH IN THE PALLIATIVE TREATMENT OF CUTANEOUS LESIONS FROM THE BREAST CANCER

J. NĚMEC

Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn: Léčba kožních metastáz karcinomu prsu představuje specifický terapeutický problém. Miltefosin 6% soluce k topické aplikaci je efektivní a dobře tolerovaná paliativní léčba poskytující 27% léčebných odpovědí u neselektované populace předléčených nemocných, u kterých již není indikována chirurgická intervence nebo radioterapie. U pacientek s malými povrchovými kožními lézemi (do 1 cm) a karcinomatózní lymfangoitidou dosahuje až 40% odpovědí, na rozdíl od 15% odpovědí zaznamenaných u nemocných s většími lézemi. Nežádoucí účinky jsou lokální a nevedou k přerušení léčby. Plně ambulantní terapie zlepšující kvalitu života je významná také z psychologického hlediska u viditelných lézí.

Klíčová slova: karcinom prsu, kožní metastázy, miltefosin, topická terapie, paliace

Summary: Cutaneous recurrence and skin metastases from breast cancer present a particular problem when surgery, radiotherapy or systemic treatments are no more options. Visible lesions remind the patients of the disease thus having a negative impact on the patients' well being. Palliative topical treatment with miltefosine 6% solution yields a 27% response rate in a heavily pretreated non-selected patient population. The response rate was found to be higher (40%) in patients with multiple small nodular or purely superficial infiltrations than in patients with predominantly large tumorous nodules (15%). Fully out-patient based palliative treatment is well tolerated and improves patients' quality of life.

Key words: breast cancer, skin metastases, miltefosine, local treatment, palliative approach

1. Úvod

Kožní metastázy a lokální kožní rekurence karcinomu prsu představují specifický klinický problém, zejména pokud se vyskytnou v již ozářeném terénu, nejsou-li chirurgicky řešitelné nebo u nemocných již léčených neúspěšně systémovou chemoterapií či hormonoterapií. Medián doby přežití od diagnózy prvního relapsu se pohybuje od 1,2 do 2,5 roku, ale průběh nemoci může být velmi individuální, od několika měsíců po 10 a více let (5% nemocných). Asi jen polovina nemocných s lokální recidivou po konzervativní operaci může být vyléčena radikální mastektomií (1). Bez ohledu na typ primární operace je asi v 50% lokální relaps omezen výhradně na hrudní stěnu nebo kůži, asi 30% nemocných má navíc postiženy také regionální uzliny, izolované postižení regionálních uzlin se vyskytuje v 10% (2). Kožní metastázy nebo kožní lokální relaps mohou však být provázeny také vzdálenými metastázami. Léčebný postup se liší podle absence/přezence vzdálených metastáz, typu adjuvantní terapie podané v rámci primární léčby, stavu hormonálních receptorů, menstruačního statusu nemocné, celkového stavu pacientky, ev. dalších biologických faktorů.

V případě, že možnosti standardní lokální terapie (chirurgie, radioterapie) již byly vyčerpány a systémová chemoterapie nebo hormonoterapie nepřinášejí očekávaný efekt, či jsou rovněž vyčerpány, je situace obtížně řešitelná. Délka zbývajících života může být podle údajů uvedených výše variabilní, ale je reálné očekávat horizont minimálně několika měsíců, proto i účinná paliace má značný význam.

Protože kožní morfy jsou viditelné nebo alespoň palpovatelné a jejich růst a šíření jsou snadno pozorovatelné, připomínají nemocným stále přítomnost či dokonce progresi nemoci. Navo-

zuji psychologický stres zhoršující významně kvalitu života. Lokální paliativní léčba má za těchto podmínek také polohu psychologickou.

Miltefosin pro zevní topickou aplikaci by mohl významně obohatit možnosti paliativního přístupu ke kožním lézím.

2. Složení, princip účinku, preklinické studie.

Miltefosin, genericky hexadecylfosfocholin, je cytostatikum podobné přirozeným fosfolipidům (3,4). Mechanismus cytostatického účinku není zcela objasněn, ale je známo, že miltefosin je inkorporován do buněčných membrán, kde interferuje s regulací buněčné proliferace (5). Tím se liší od ostatních alkylačních cytostatik, které obvykle zasahují na úrovni DNA. Klíč k účinku spočívá pravděpodobně v inhibici proteinkinázy C a modulaci metabolismu fosfoinositolu (6,7). Je diskutována také schopnost miltefosinu navodit diferenciaci nádorových buněk (4).

In vivo v animálních modelech miltefosin neprokázal mimořádnou efektivitu proti rychle proliferujícím transplantovaným nádorovým buňkám, ale byl překvapivě účinný proti pomalu rostoucím chemicky indukovaným nádorům (4). Léková forma miltefosinu obsahuje navíc tři různé 3-alkoxypropylénové glykoly, které zlepšují penetraci účinné látky do kůže.

3. Klinické studie

První klinické studie fáze I u nemocných s karcinomem prsu probíhaly již od roku 1986 (8,9). Výsledkem byla doporučená koncentrace miltefosinu 6% v dávce 1-2 kapky na plochu 10x10 cm, první týden 1x denně, dále 2x denně.

Vyhodnocování výsledků fáze II u superficiálních kožních lézí naráží na formální a faktické potíže. WHO ve svém posledním

doporučení pro hodnocení účinků protinádorové terapie z roku 1970 zařazuje kožní léze mezi hodnotitelné, ale neměřitelné, protože nelze spolehlivě definovat jejich hloubku a změny jsou obtížně kvantifikovatelné. Proto byl ve studiích fáze II kladen zvláštní důraz na kvalitu hodnocení efektu. Metaanalýza 9 studií fáze II a 1 studie fáze I (dose-finding study) publikovaná na ASCO 1997 podává přehled o současném stavu klinického výzkumu (10). 443 nemocných z multicentrických studií tvoří základní soubor. Dokumentace 302 pacientů byla natolik kvalitní, že umožnila extramurální review efektivity i tolerance podle protokolu, 385 splňovalo podmínku „intent-to-treat“. Všechny nemocné byly před aplikací miltefosinu léčeny minimálně jedním chemoterapeutickým režimem nebo jednou řadou hormonoterapie, většina však byla předléčena více řadami chemo nebo hormonoterapie a kožní léze byly většinou refrakterní k předchozí terapii. Pruritus v místě aplikace se objevil u 31% nemocných a byl nejčastějším nežádoucím účinkem, následuje erytém (18%) a bolestivé nebo pálivé pocity (10%). Ostatní lokální nežádoucí projevy byly řídké (exfoliace kůže 9%, suchost kůže 8%, kožní ulcerace 5%, napětí kůže 4%). Systémové nežádoucí účinky nebyly zaznamenány, ale t.č. je nelze zcela spolehlivě vyloučit. 6% nemocných ukončilo aplikaci miltefosinu pro intoleranci (většina pro kožní komplikace). U 27% nemocných byla doložena objektivní odpověď (kompletní nebo parciální remise). Ve skupině nemocných s plochými lézemi (méně než 1 cm) a karcinomatозní lymfangiitidou byly však výsledky podstatně lepší (objektivní odpověď 40%). Také nemocné, které byly předléčeny pouze hormonoterapií dosáhly vyššího procenta odpovědí (opět přibližně 40%) ve srovnání s nemocnými předléčenými chemoterapií. Medián doby do progresu byl 27 týdnů. Skupina 287 nemocných byla analyzována z hlediska prediktivních faktorů na odpověď (11). Nejsilnějším prediktivním faktorem byla velikost kožních lézí. Nemocné s lézemi pod 1 cm bez zjevné penetrace do podkožních tkání a nemocné s kožní karcinomatозní lymfangiitidou odpověděly signifikantně častěji než ostatní pacientky (39% vs. 15%, $p=0,001$). Nemocné léčené současně hormonoterapií a topicky miltefosinem odpovídaly lépe než ostatní, rozdíl však nedosáhl statistické signifikance, ale čas do progresu byl signifikantně delší než u nemocných bez konkomitanti hormonální medikace (25 vs. 13 týdnů). Předchozí chemoterapie snižovala šanci na odpověď, rozdíl však opět nedosáhl statistické významnosti, ale byla signifikantně kratší doba do progresu. Velikost lézí, inflamatorní infiltrace, konkomitanti systém-

mová chemoterapie ani předchozí hormonoterapie pravděpodobně čas do progresu neovlivňují. Nebyla prokázána žádná potenciace vedlejších nežádoucích účinků u nemocných léčených konkomitanti systémovou chemoterapií nebo hormonoterapií s topickým miltefosinem. Procento odpovědí pravděpodobně není ovlivněno předchozí radioterapií. Nejdůležitějším prediktivním faktorem léčebné odpovědi je tedy velikost (hloubka) kožní léze.

Retrospektivní hodnocení kvality života je metodologicky sporné, navíc není k dispozici adekvátní dotazník, který by mohl specificky analyzovat změny kožní infiltrace. Protože u nevyléčitelně nemocných je kvalita života základní sledovanou veličinou, byl přesto učiněn pokus o vyhodnocení. 89 ze 150 dotázaných (59%) pocítovalo zlepšení celkového komfortu, 14/150 (9%) udalo zhoršení. U všechny těchto nemocných se však jednalo také o progresi v jiných lokalizacích než kožních léčených miltefosinem. Tyto údaje jsou však velmi orientační a vyžadují metodologicky správné ověření. Takřka všechny nemocné byly schopny po krátké instruktáži aplikovat miltefosin samostatně doma.

Podobné závěry byly publikovány na ESMO 1998 (12), avšak pouze jako předběžné výsledky na omezeném počtu nemocných.

O zkušenostech Edinburg Breast Unit referoval R.C.F. Leonard v září 1998 na 1st European Breast Cancer Conference (13): 12 z 22 silně předléčených nemocných dosáhlo parciální remise, minor response nebo stabilizace byla zaznamenána u dalších 6 nemocných, progresu u 4 nemocných. Z důvodu toxicity byla léčba ukončena pouze u jedné pacientky. Všechny nemocné bey potíží zvládly samostatnou aplikaci léku.

4. Závěr

Miltefosin 6% soluce pro topickou aplikaci je efektivní a dobře snášený přípravek pro paliativní terapii kožních metastáz nebo kožních projevů lokálního relapsu karcinomu prsu tam, kde není indikována chirurgická intervence nebo radioterapie, včetně nemocných již léčených chemoterapií. Obohacuje lokální paliativní přístupy.

a) Je účinný i v ozářeném terénu.

b) Nejvyšší procento léčebných odpovědí je u nemocných s lézemi do 1 cm a lymphangioitis carcinomatosa (40%).

c) Je možná konkomitanti systémová chemoterapie nebo hormonoterapie.

d) Jedná se o plně ambulantní léčbu.

Literatura:

- Recht A., Eberlein T. J., Sadowsky N. L. (1991): Local recurrence following breast conservation. In: Breast diseases. Harris J. R., Kellman S., Henderson J. C., Kinne D. W. (Eds.). 2nd Edition. J.B. Lippincot Verlag.
- Recht A., Hayes D. F. (1991): Local recurrence following mastectomy. In: Breast Diseases. Harris J. R., Kellman S., Henderson J. C., Kinne D. W. (Eds.). 2nd Edition. J. B. Lippincot Verlag.
- Hilgard P., Stekar J., Voegeli R., Engel J., Schumacher W., Eibl H., Unger C., Berger M. R.: Characterisation of the antitumor activity of hexadecylphosphocholine. Eur. J. Cancer 1988; 24:1457-1461.
- Hilgard P., Stekar J., Voegeli R., Harleman J. H.: Experimental therapeutic studies with miltefosine in rats and mice. In: Eibl H. J., Unger P. (eds.): Alkylphosphocholines: New drugs in Cancer Therapy. Prog. Exp. Tumor Res. Basel. Karger, 1992, pp. 116-130.
- Fleer E. A. M., Berkovic D., Kim D., Ries U.: Cellular uptake and metabolic fate of hexadecylphosphocholine. In: Eibl H. J., Hilgard P., Unger C. (eds.): Alkylphosphocholines: New Drugs in Cancer Therapy. Prog. Exp. Tumor Res. Basel. Karger, 1992, pp. 33-46.
- Überall F., Oberhuber H., Maly K., Zaknun J., Demuth L., Grunicke H. H.: Hexadecylphosphocholine inhibits inositol phosphate formation and Protein Kinase C activity. Cancer Res. 1991; 51:807-812.
- Geilen D. G., Weider T., Haase R., Reuter W.: Hexadecylphosphocholine, a new inhibitor of the SDP-Choline pathway. Abstr. Internat. Symposium and NATO Workshop Phospholipids and Signal Transmission. Wiesbaden 1991: P.75.
- Unger C., Eibl H. J., Nagel G. A.: First clinical trials with alkylphosphocholines. 1st International Symposium on Ether Lipids in Oncology. Göttingen 1986. Abstract p.43.
- Unger C., Eibl H. J., Breiser A., von Heyden H. W., Engel J., Hilgard P.: Hexadecylphosphocholine in the topical treatment of skin metastases. A phase I trial. Onkologie 1988; 11:295-296.
- David M., Sinderman H., Junge K., Peukert M.: Topical treatment of skin metastases with 6% miltefosine solution in patients with breast cancer. A meta-analysis of 443 patients.
- Sinderman H., Junge K., Burk K.: Miltefosine solution: Prognostic factors for the outcome of topical treatment of skin metastatic breast cancer. Onkologie 1994; 17:21-26.
- Czap E., Koliren L., Jovtis S., Mickiewicz G., Temperley G.: Phase II study of 6% miltefosine solution as local treatment in cutaneous metastatic breast cancer patients. Preliminary results. Annals of Oncology. Suppl. 4, 1998; 9: p. 31, abstract No. 146.
- Leonard R. C. F.: Clinical experience of miltefosine 6% topical solution in breast cancer. 1st European Breast Cancer Conference, Florence, Italy. Satellite symposium: New options for palliative treatment of breast cancer. Abstract book p.13.

ADVANCES IN HEAD AND NECK ONCOLOGY

K. T. ROBBINS

SINGULAR PUBLISHING GROUP,
SAN DIEGO - LONDON 1998
181 STR., 37 OBR., 22 TAB., ISBN 1-56593-840-2,
CENA 67,50 GBP

Kniha je pokusem o zachycení současného stavu v oblasti onkologie hlavy a krku; obsahuje 12 kapitol vzniklých za spolupráce 21 odborníků převážně z USA (jeden je z Francie, jeden z Hong Kongu) s touto tematikou: biologie karcinomu horního aerodigestivního traktu, hyperfrakcionovaná radioterapie spinocelulárního karcinomu hlavy a krku, selektivní desekce v oblasti krku při karcinomu horního aerodigestivního traktu, chirurgické přístupy k nosohltanu, cílená cisplatinová chemoterapie při pokročilých nádorech hlavy a krku, endoskopická resekce laryngeálních nádorů, částečná laryngektomie, pokroky v hodnocení řeči a polykací funkce pacientů léčených pro nádory hlavy a krku, orální komunikace po laryngektomii, rhabdomyosarkom hlavy a krku u dětí, stav techniky rekonstrukce mandibuly, kvalita života, komorbidita (přítomnost nezhoubného onemocnění u onkologických pacientů) a nákladová efektivita léčby nádorů hlavy a krku.

B. Davidson a S. Schantz referují o nových pozorováních účinku chromozomálních mutací na karcinogenézu a o úloze apoptózy v progresi nádorů a odezvě na léčbu; pokrok v genové terapii umožňuje manipulaci s apoptickým potenciálem nádorů a zlepšení léčby. Urychlené a hyperfrakcionované ozařovací režimy přinášejí účinnější lokoregionální potlačení nádorů a lepší přežívání (J. Parsons a W. Mendenhall). Dřívější neúspěšná chemoterapie na bázi cisplatin podávané intravenózně byla nahrazena podstatně nadějnější cílenou intraarteriální aplikací cisplatin v množství až o řád vyšším (K. T. Robbins). Endoskopická resekce laryngeálního nádoru představuje z funkčního a kosmetického hlediska méně morbidní postup s lepšími výsledky než u metod radikálnějších (R. K. Davis). G. Woodson specifikuje parametry důležité pro hodnocení laryngeální funkce u pacientů s pokročilými nádory po cílené chemoterapii a radioterapii. A. Pappo a W. Christ poskytují výtečný chronologický přehled postupného zdokonalování multimodální terapie rhabdomyosarkomů u dětí. B. Haughey a W. Colin popisují současné postupy mandibulární rekonstrukce u pacientů po léčbě nádorů hlavy a krku, jež se zakládají na přenosu kostní tkáně s použitím mikrovaskulární techniky. V poslední kapitole E. A. Weymuller a spol. diskutují používání pojmu „obsah

kvality života“ (Content of Quality of Life, zkratka QOL) definovaného jako pacientův odhad spokojenosti s jeho stávajícím funkčním stavem ve srovnání s tím, co považuje za ideální nebo možné; ke komponentám QOL náleží zejména funkční stav, somatické a psychologické potíže a sociální interakce, spokojenost s lékařskou péčí aj. Současnou snahou je uvést QOL do klinických trialů a používat je jako vodítko při volbě léčebného postupu. Tato kapitola bude vzhledem k obecnému pojetí a uváděným příkladům dotazníků pro pacienty bezpochyby zajímavá pro všechny onkology a další odborníky zabývající se problémem „měření“ kvality života.

Příspěvky v knize vynikají vysokou odbornou úrovní a přehledným členěním do odstavců včetně závěrů. Poskytují onkologům, chirurgům a dalším odborníkům souhrny nových poznatků, jež jim pomohou v týmovém úsilí o dokonalejší zvládnutí nádorových onemocnění v oblasti hlavy a krku spojených se značnou somatickou a psychologickou morbiditou. V Evropě knihu distribuují Plymbridge Distributors Limited, Estover, Plymouth, PL6 7PY, UK.

V. H.

PALIATIVNÍ MEDICÍNA

J. VORLÍČEK, Z. ADAM a kol.

GRADA PUBLISHING, s. r. o., 1998

Paliativní (úlevná medicína, která v dnešní době konečně získává více pozornosti, je asi nejstarší lékařskou disciplínou vůbec. Vždyť již Hippokrates sám pojímal medicínu především jako odstraňování utrpení nemocných a jako zmírňování prudkosti jejich chorob. Uvedená kniha 29 autorů se věnuje právě tomu, vpravdě hippokratovskému principu - vždyť všichni víme, že lékař jen někdy uzdravuje, vždy však by měl - až do posledního vydechnutí - řádně tlumit příznaky a řádně pečovat o toho, jenž mu věří a jenž se mu svěřuje ve své nejvyšší nouzi. V moderní řeči bychom mohli formulovat - o tom je tato kniha, a to o tom, jak ke všemu přistupovat s nejvyšší odborností a s nejvyšším respektem k celostnímu pojetí každého jednotlivce, s cílem zlepšit kvalitu jeho života v každé fázi onemocnění.

Publikace je velmi užitečným pomocníkem v praxi, vedoucím k nenásilnému, velmi zajímavému a kvalitnímu doškolení v různých oblastech medicíny. Současně zdůrazňuje ošetřování všech dimenzí člověka - zcela v duchu zakladatelky hospicového hnutí, Dr. Cicely Saundersové, která knihu vysoce zhodnotila. Jako nejlepší publikaci loňské edice jí rovněž byla udělena - dle zásluhy - Cena Grady 1998. Lze ji bez výhrad doporučit onkologům a také lékařům všech ostatních oborů.

M. M.

OPRAVA

V I. čísle tohoto ročníku došlo v článku Hormonální systém vitamínu D3 a onkologie (str. 12–21) k politováníhodné technické chybě v číslování literatury k II. části článku. Prosíme proto čtenáře, aby laskavě od čísla citace v textu II. části odečetli 2, a tak získal správné číslo citace v seznamu literatury II. části. Tak např. citace č. 3 v textu II. části má č. 1 v seznamu. Redakce se za toto nedopatření omlouvá.

POTŘEBUJEME PREDIKTIVNÍ ONKOLOGII

J. ŽALOUĐÍK, R. VYZULA, L. DUŠEK
UNIVERZITNÍ ONKOLOGICKÉ CENTRUM V BRNĚ

Vědecké poznání v onkologii postupně ovládá molekulární biologie. Do hodnocení dat i šíření vědeckých poznatků pronikají informační technologie. Množství nových poznatků narůstá exponenciálně. Pokrok v onkologické praxi se však děje spíše jen pozvolna, řekněme lineárně. Více než aplikací nových biologických poznatků je u nás pokrok v klinické onkologii určen aktivitou farmaceutických firem. Převládá dojem, že zlepšení léčebných výsledků je možné jen za pomoci nových léků. Vzniká pocit, že spolehlivým zdrojem informací z klinického výzkumu jsou pouze randomizované klinické studie. V diagnosticko-léčebných standardech je ražena zásada tzv. *evidence-based medicine* (medicíny založené na průkazných výsledcích).

V rutinní praxi se často zapomíná, že standardní postupy přinášejí pouze standardní výsledky a ty nelze na současně úrovni nazvat uspokojivými. Zapomíná se, že *evidence-based medicine* stojí v současném pojetí pouze na statistické pravděpodobnosti a statistická úspěšnost léčby neznamená úspěch v každém jednotlivém případě. Zapomíná se, že stratifikační parametry skupin v klinických studiích neodpovídají molekulárně biologickým poznatkům a skutečné heterogenitě nádorového onemocnění definovaného dosud pouze morfologicky. Slabinou randomizovaných klinických studií jistě není propracovanost metodiky, nýbrž v zoufale povrchní stratifikace případů. Pro běžnou léčebnou praxi máme k dispozici informaci o typu nádoru, případně stupni jeho histologické diferenciaci a stadiu onemocnění. To není více informací než měly generace onkologů před námi.

Jednou z progresivních cest v onkologii je individualizovaný přístup založený na důkladnějším poznání nádoru samotného v každém jednotlivém případě. Neznamená to odmítání randomizovaných klinických studií, nýbrž lépe cílené studie založené na podrobnější stratifikaci, respektive hlubším popisu vlastností nádorů srovnávaných skupin. Biomatematické multivariační postupy umožňují vytvářet prediktivní modely, které do značné míry nahradí potřebu velkých souborů a urychlí získání klinicky relevantních výsledků. Je pravděpodobné, že i dosavadní léčebný arzenál aplikovaný cíleně podle biologických charakteristik nádoru má stále značný potenciál zlepšit léčebné výsledky.

Metodické požadavky na diagnostiku a interpretaci nových biologických parametrů přesahují běžné možnosti dosud diagnosticky angažovaných oborů jako jsou patologická anatomie a biochemie. Dozrál čas pro nový diagnostický obor - prediktivní onkologii. Bude znamenat nové požadavky na formulování klinických otázek, odběr a zpracování nádorového materiálu, metodické vybavení laboratoří i analýzu výsledků (viz Schéma 1). Při narůstajících nákladech na léčbu je třeba proporcionálně investovat do diagnostické infrastruktury a měnit vědomí klinických onkologů spolu s novými parametry pro jejich rozhodování. Tento proces bude nesporně obtížnější než dodržování léčebného standardu nebo zavádění nového léku.

Je třeba odlišovat současné pojetí prognostických parametrů a nádorových charakteristik s prediktivní hodnotou. Využití prognostických parametrů je omezené zejména tam, kde nemáme účinné léčebné alternativy pro skupinu prognosticky příznivější a nepříznivou. Navíc mají prognostické faktory smysl jen v časných stadiích nádorových onemocnění, kdy mohou spolupřihlížet k indikaci pooperační systémové léčby nebo zajišťovací radioterapie. U pokročilejších stadií je prognóza jasně nepříznivá a otázkou je spíše volba optimálního způsobu léčby, její intenzity, kompromisu mezi očekávanou citlivostí nádoru a nežá-

doucími účinky terapie. Do prognostických znaků nejsme ostatně ochotni ani příliš investovat jak o tom svědčí běžná onkologická a patologická praxe. Důvodem je zčásti i jejich matoucí množství, metodicky neujasněný způsob použití výsledků multivariačních analýz v klinické praxi a zejména jejich směřování s charakteristikami pokročilosti onemocnění (viz publikované závěry, že „stadium onemocnění je nevýznamnějším prognostickým faktorem“).

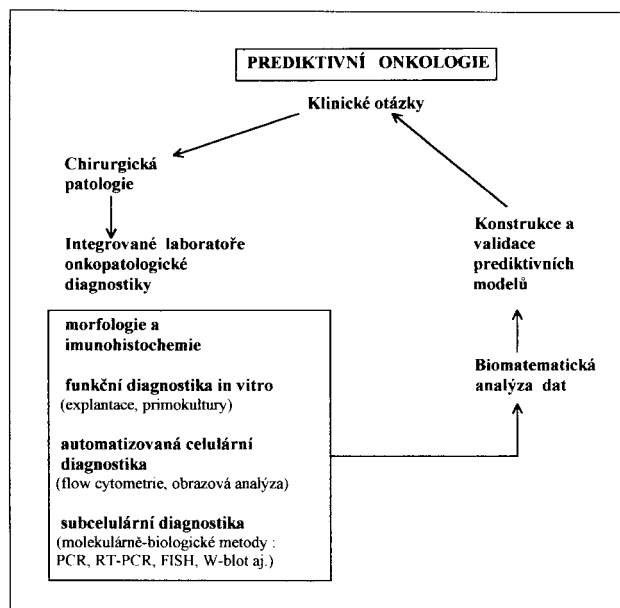
Musí však jít o pragmatickou analýzu biologických vlastností, které nám poodhalí zejména „slabé stránky“ nádoru pro co nejúčinnější léčbu jak v jednotlivém případě, tak i při zobecňování většího množství výsledků. Faktory, které nám pomohou racionálně volit a průběžně usměrňovat individuálně účinnou léčbu je lépe než prognostickými nazývat prediktivními, protože mají především pomoci předpovědět optimální léčebný postup bez ohledu na obecně pojímanou prognózu choroby bez terapie. Je přitom zcela zřejmé, že nové informace už nenajdeme v morfologicko-anatomických znacích ověřovaných po mnoho desetiletí jako jsou histopatologický typ nádoru, stupeň diferenciaci nebo jeho anatomické šíření místní, regionální či do vzdálených orgánů.

Znaky, které charakterizují biologické vlastnosti nádoru lze rozdělit do několika skupin: 1. proliferací parametry vypovídající o dynamice buněčného dělení, 2. parametry apoptózy čili přirozeného zániku nádorových buněk 3. proliferací-apoptotický poměr (index, ratio) charakterizující celkovou růstovou dynamiku nádoru, 4. znaky charakterizující celkovou genomovou instabilitu nádoru, desintegraci genomu, diverzifikaci znaků a v důsledku i vulnerabilitu nádorové tkáně vůči zevním vlivům, 5. znaky charakterizující metastatický potenciál nádorových buněk, 6. parametry neoangiogenní aktivity v nádoru, respektive jeho vaskularizace a angiogenní dependence, 7. znaky související s odezvou imunitního systému organismu na přítomnost abnormální nádorové tkáně, 8. receptory regulující růstové a jiné vlastnosti nádoru, které je možno farmakologicky ovlivnit, 9. znaky nebo funkční testy vypovídající o individuální chemorezistenci (chemosenzitivitě) či radiorezistenci (radiosenzitivitě) nádoru, 10. metabolické produkty nádoru, které je možno využít pro monitorování choroby či které přímo ovlivňují průběh nádorového onemocnění. Ke každé z těchto skupin lze již v současnosti u většiny nádorů přiřadit příslušné parametry, tedy biomarkery, a zároveň i metody stanovení, z nichž lze volit podle dostupnosti, spolehlivosti a ekonomických ukazatelů v rutinní praxi. Takto pojatá charakteristika nádorů však vyžaduje splnění dvou podmínek na vstupu i výstupu.

Na vstupu, tedy na počátku, je nutná formulace potřeby a klinických otázek, které chceme novými vyšetřeními zodpovědět. Je-li nádorové onemocnění daného typu a stadia zcela spolehlivě vyléčitelné dosavadními postupy, bylo by další diagnostické úsilí neefektivní. Není-li, je třeba si ujasnit jaké informace nám chybějí a k čemu jich využijeme. To klade nesporně nároky na onkologické vzdělání lékaře, který se odhodlal převzít odpovědnost za léčbu nemocného se zhoubným nádorem.

Aby mohla být příslušná dosud nestandardní vyšetření provedena, je třeba předoperační nebo peroperační rozvahy o uchování a distribuci nádorového materiálu, které jsou odlišné od rutiny odložení biopsie nebo resekátu do formaldehydu. Nový přístup označovaný jako chirurgická onkopatologie vyžaduje změny ve stereotypch hlavních akterů - angažovanost nejen patologa, nýbrž i chirurga, který je s tkáňovým materiálem v bezprostředním styku jako první. Má-li část nádoru přežít v médiu pro funkční testy v primokultuře a část být zamražena pro specializované molekulárně-biologické vyšetřovací metody, nesmí být resekát fixován jako celek a nesmí být na druhé straně ani znemožněno či ztíženo patologovi provést standardní

Schéma 1 :
Nezbytné složky vize prediktivní onkologie a jejich zpětnovazebná souvislost



morfologické hodnocení. Má-li být jakékoli specializované vyšetření uvedených parametrů relevantní, musí být jistota o reprezentativnosti nádorového vzorku apod.

Lpění na prioritě standardního patologického vyšetření se stává samoučelným u nádorů pokročilých, recidivujících a opakovaně histologicky ověřených. Zde bychom se rádi dozvěděli více o citlivosti nádoru na léčbu, dynamice růstu nebo metabolických produktech nádoru. U časných stadií s minimální nádorovou masou a nepředpokládanou systémovou léčbou zůstane naopak standardní morfologické posouzení a potvrzení iniciálního sta-

dia v popředí diagnostiky a snahy o analýzu dalších biologických vlastností budou limitovány malým množstvím zpracovatelného tkáňového materiálu. Význam chirurgické patologie pro moderní onkologii je dosud opomíjen jak ve vzdělávání chirurgů tak i patoložů a v rutinní praxi se stereotypy dosud mnoho nezměnily od dob Billrotha a Virchowa. Hematoonkologové mají diagnostiku z tohoto hlediska již vyspělejší a situaci snazší, a to především pro dostupnost opakovaných odběrů jak periferní krve tak i kostní dřeně zejména v případech leukemií.

Provedené analýzy a nové informace o nádoru si ovšem vynucují také změnu na výstupu, tedy v klinických interpretacích. Na rozdíl od současného rozhodování ve dvou, třech, zřídka více variantách se dostane klinik do multifaktoriálního prostředí a nutnosti vícerozměrného chápání vztahů naměřených parametrů. V souborech nemocných to znamená rutinní zavedení kvalifikované biomatematické analýzy, a to nikoli jako prostředku pro prezentaci nebo vylepšení publikačního designu studií, nýbrž především jako praktického nástroje k vytváření prediktivních modelů použitelných jako vzorce diskriminačních funkcí. Do validovaných vzorců z větších souborů si informovaný lékař při své rozvaze o léčebném postupu dosazuje hodnoty naměřené u daného nádoru, respektive u konkrétního onkologického pacienta. Je jisté, že takto popsany stav je cílový a nejde o primární nabídku ihned po zavedení molekulárně-biologických metod jak se někteří naivně domnívají.

Přirovnáme-li nové přístupy v klasifikaci individuálních vlastností nádorů (*prediktivní onkologii*) například ke změně v pojetí dopravy při přechodu z pozemní na leteckou, je zřejmé, že pro její funkčnost nepostačuje pouze nabídka letadel a letišť (*metod detekce biomarkerů*), nýbrž je zapotřebí také nové kvalifikace pilotů a techniků (*onkochirurgů, patoložů a onkologů*), systému organizace a monitorování letů (*biomatematické zpracování*) a konečně i nabídky letových řádů cestujícím (*zpracovávání nových parametrů do klinické praxe*). Používání prediktivních testů v onkologii nám má pomoci, aby cíle onkologické léčby byly naplňovány efektivněji a s návratností investovaných sil a prostředků, především však s omezením zbytečné toxicity neefektivní léčby. Že jde o cestu kladoucí zvýšené nároky na práci, informovanost i motivaci lékařů je přitom jisté.

AMERICKÝ POCHOD PROTI RAKOVINĚ

GERYK E.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

Na podzim 1998 bylo ve Spojených státech zahájeno velké společenské hnutí ve formě Pochodu proti rakovině. Jeho iniciátory jsou nemocní, kteří přežili rakovinu a jejich příznivci po celých Spojených Státech. Cílem hnutí je připomenout zákonodárcům, že nádory se musí stát prvořadou otázkou výzkumu, zdravotní péče a prevence. Účastníci Pochodu upozornili na obrovské národní ekonomické náklady a ničivý vliv této nemoci na každého obyvatele. Statistiky uvádějí, že 8 milionů obyvatel Spojených Států trpí rakovinou a denně na ni umírá průměrně 1 500 nemocných. Hnutí proti rakovině zdůrazňuje silné přesvědčení, že rakovinu lze vyléčit a lze ji zabránit jen celonárodním úsilím. Tato výzva je určena všem, jejichž života se rakovina dotkla, aby se sjednotili a dali americké vládě a kongresu najevo, že už nebudou dále tolerovat finanční nedostatky a malou pozornost, která je věnována současnému onkologickému riziku. Poskytnutí pouhého jednoho centu na výzkum rakoviny z každých deseti dolarů vybraných federálních daní je pro účastníky hnutí nepřijatelné. Obrátí se na onkology, výzkumné týmy a širokou americkou veřejnost s výzvou, aby zaslali své stanovisko kongresu. Uvádí se, že netrpělivost a rozhořčení obyvatel bude trvat tak dlouho, dokud problém nádorů nebude uspokojivě vyřešen. Ve výzvě se uvádí, že v době, kdy je nádor diagnostikován v průběhu života u každého třetího obyvatele USA a každý pátý na něj zemře, musí být přiděleny dostatečné prostředky na podporu onkologické prevence, výzkum nádorů u ohrožené populace a na dostupnou kvalitní onkologickou péči pro všechny občany.

Akce proti rakovině byly zahájeny v červenci 1998 cyklistickou jízdou od pobřeží k pobřeží napříč Amerikou se zastávkami v důležitých onkologických centrech. Státisíce obyvatel a přes dva tisíce státních, lékařských a občanských organizací se účastnilo svými delegacemi Pochodu, který vyvrcholil shromážděním 26. září ve Washingtonu. Předcházelo mu noční setkání s rozžatými svíčkami večer 25. září u Lincolnova památníku na památku 560 000 lidských životů, které si v USA nádory za rok vyžádaly. Podobná noční setkání lékařů s lidmi, přežívajícími rakovinu a jejich rodinami se uskutečnila na různých místech po celé zemi jako projev solidarity celého národa.

Americká asociace pro výzkum rakoviny (AACR) uskutečnila 26. 9. veřejné Vzdělávací Fórum, prezentující současný pokrok ve výzkumu nádorů, sjednocující všechny nemocné v pevné víře, že výzkumem lze rakovinu vyřešit. Přednesené výsledky byly také připomínkou, že pokračování výzkumu rakoviny vyžaduje zvýšení federálních fondů právě nyní, v této době. V průběhu celé akce se účastníci seznámili s různými protinádorovými aktivitami a exponáty, sponzorovanými významnými firmami a organizacemi.

Součástí aktivit hnutí Pochodu proti rakovině byl projekt, ve kterém řada výzkumných center vypracovala společnou doporučující zprávu americké vládě a kongresu na urychlení pokroku v boji proti nádorům. Na závěr zprávy, podporované rozpočtovým výbojem Národního onkologického institutu se uvádí: „Vyzýváme všechny členy i nečleny AACR, aby se angažovali a projevíli svou podporu nebyvalému úsilí, které má šanci posílit onkologický výzkum a způsob, jakým tento národ bude řešit svůj problém rakoviny v budoucnosti. Celonárodní podpora přichází v době, kdy všichni věříme, že pokud budeme jednat **nyní**, budeme moci uspat pokrok v boji proti této nemoci.“

onkologické společnosti

Oznámení o výsledcích voleb 23. 2. 1999

Dne 23. 2. 1999 proběhlo zasedání odstoupajícího a nově zvoleného výboru Onkologické společnosti ČLS JEP.
Do nového výboru byli zvoleni v řádných dvoukolových korespondenčních volbách (uvedeno bez titulů, v závorce počet hlasů): Petruželka (95), Klener (94), Žaloudík (88), Vorlíček (83), Koutecký (79), Drbal (54), Fischer (47).
Revizní komise: Jelínek, Šmelhaus, Příbylová O.
Zvolení funkcionářů nového výboru:
Předseda: Klener. Místopředseda: Vorlíček.
Vědecký sekretář: Petruželka.
Předseda revizní komise: Jelínková.
Oznamujeme, že zprávy ze zasedání nového výboru budou v plném rozsahu zveřejňovány v časopise Klinická onkologie.

Zápis ze schůze výboru onkologické společnosti dne 30. 3. 1999

- Kontrola zápisu z minulého zasedání:
 - Postavení krajských odborníků a jejich kompetence: Všechny navržené krajské odborníky uvědomí dopisem prof. Vorlíček. Kompetence určí výbor OS, protože Mzd ČR zatím nevydalo žádné instrukce. Po definitivním určení regionů budou určení příslušní odborníci. (připomínkováno dopisem MUDr. Hanuše).
 - Výbor souhlasí s podmínkou specializované atestace v klinické onkologii, jako předpoklad pro vykonávání této funkce. Výjimka platí pouze šest měsíců.
 - Zprávu o činnosti OS za uplynulé období v angličtině pro přihlášku do UICC dodá odstoupivší výbor do konce dubna.
 - Byla vypracována pracovní verze doporučených postupů onkologické péče (1. etapa) a dokonce dubna budou distribuovány všem členům OS a ostatním odbornými společnostmi JEP s průvodním dopisem. Seznam adres a průvodní dopis bude dodán do nakladatelství Galén.
 - Výbor souhlasí s revizí vyhlášky 77/1981 paragraf 28 odstavec b, o udělování specializačních atestací, a zrušení přidělování bez atestační zkoušky pro obor klinická onkologie. Dopis bude zaslán na Mzd ČR. (Klener)
 - Zástupcem v ESO za OS byl navržen doc. Žaloudík. Toto bude sděleno výboru ESO dopisem. (Klener)
 - Zástupci oborové komise ČLK byli jmenováni kromě předsedy OS doc. Petruželka, prim Němec z MOU Brno. Bude sděleno dopisem vedení ČLK. (Klener)
 - Výbor nesouhlasí s koncepcí informovaného souhlasu připravenou prof. Šolcem, odpověď bude zaslána na Mzd ČR. (Klener)
 - Výbor projednal připomínky k obecné koncepci oboru. Schválil obecnou koncepci oboru a dopis bude zaslán do 8. 4. 1999 na Mzd ČR. (Petruželka)
- Korespondence
 - Výbor vzal na vědomí výzvu k odstoupení ředitele Drbala, podepsanou současnými a bývalými zaměstnanci MOU, a nebude se k ní dále vyjadřovat.
 - Podklady pro Historii OS, které žádá ČLS, budou shromážděny do příštího zasedání výboru OS. Doc. Žaloudík zjistí údaje od MUDr. Mechla a MUDr. Konečného, a prof. Koutecký od bývalé sekretářky MUDr. Stankušové, a další podklady dodá doc. Bek. Za konečnou verzi zodpovídá as. Příbylová, u níž budou veškeré materiály shromážděny do konce května a která kontaktuje též Ústav Dějin lékařství.
 - Výbor souhlasí s vydáním nové verze TNM klasifikace, a souhlas výboru bude zaslán MUDr. Mazánkové na UZIS, MUDr. Beška byl pověřen zastupováním OS v dané záležitosti.
 - Výbor vzal na vědomí dopis firmy Sanofi ohledně cytostatika Eloxatin, nepovažuje za nutné udělovat výjimku z registrace.
 - Výbor souhlasí s dodáním indikačních kritérií pro přípravu Eprex v onkologii obdobně jak je tomu v nefrologii, pro účely kategorizační komise. Pověřen doc. Petruželka.
- Výbor souhlasí s urychleným uveřejněním příspěvku prof. Klenera o léčitelích v časopise Klinická onkologie.
- Doc. Petruželka podal informaci o aktivitách ligy proti rakovině týkajících se screeningů a prsu, příštího zasedání výboru OS se na vlastní žádost zúčastní prof. Dienstbier.
- Výbor souhlasí s aktivitou doc. Žaloudíka a založením onkochirurgické sekce OS.
- Výbor schválil přijetí nových členů, Helmichová, Kubát, Bacoková, Odrážka, Vaculíková, Vyzula, Kalbáčová, Trčátníková, Březinová, Kalábová, Kocáková, Kotorová.
- Byl zvolen pokladník OS: prim. Fischer.
- Výbor schválil zástupce pro výběrová řízení pro obor klinická onkologie (pokud se uskuteční v plánovaném dubnovém termínu) a jmenoval tyto zástupce: Petruželka, Jelínková, Fischer, Vorlíček, Macháček, Klener.
- Příprava koncepce oboru. Výbor souhlasí s urychleným vypracováním nové koncepce oboru klinické onkologie. Pro aktualizaci sítě ambulantní a lůžkové

péče v oboru osloví prof. Vorlíček všechny krajské odborníky k dodání podkladů. Vypracování definitivní verze bude náplní příští schůze.
10. Bude připravena WWW stránka OS, ČLS nabízí vlastní server.
11. Bude provedena revize financí OS a hledány nové zdroje.
12. Výbor souhlasí s úvazkem slečny Dagmar Tomkové jako sekretářky OS, bude uzavřena smlouva s JEP.
13. Výbor souhlasí s dopisem proti přemístění centra pro trofoblastickou nemoc z VFN do ÚPDM.
14. Další zasedání 11. 5. 1999.
Za výbor OS: Doc. MUDr. L. Petruželka, CSc., Prof. MUDr. P. Klener, DrSc.

Zápis ze schůze výboru ČOS 11. 5. 1999

- Jako host se účastnil prof. Dienstbier za Ligu proti rakovině.
Projednáno:
 - obnovení činnosti komise pro screening karcinomu prsu, dr. Drbal uvědomí Mzd ČR.
 - rekondiční pobyty léčených nemocných s karcinomem prsu budou letos sponzorovány menším množstvím finančních prostředků
 - garance za schůzku mladých onkologů nebere ani výbor ČOS ani Liga proti rakovině ani IPVZ - nebylo předem projednáno.
- Kontrola zápisu
 - Jmenování krajských odborníků - prof. Vorlíček projedná tuto otázku s ministrem zdravotnictví. Není jasno v otázce kompetencí krajských odborníků a jejich vztahu k NOR.
 - Přihláška ČOS do UICC s přiložením anglického překladu zprávy o činnosti ČOS - zařídí doc. Petruželka. Otázka zaplacení členského poplatku - pověřen doc. Petruželka.
 - Prof. Zielinski souhlasí s kooptací doc. Žaloudíka do výboru ESO
 - TNM klasifikace - nebyla zařazena do plánu ÚZIS z finančních důvodů - prof. Vorlíček požádá ministra zdravotnictví o úhradu nákladů na vydání.
 - Standardy léčby nejčastějších nádorů byly rozeslány členům ČOS k připomínkování, konečná redakce s případným doplněním bude provedena v září. Standardy budou brány jako závazné minimum pro obor klinická onkologie.
 - Centrum pro léčbu nemocí oka - výbor seznámen s dopisem řed. Aluškové a prof. Kuchyňky. Centrum bude orientováno na terapii dospělých
 - Sepsání konceptu historie ČOS - úkol trvá, dr. Příbylová.
- Korespondence
 - Výbor seznámen s dopisem dr. Talače z MOU, nebude se k němu vyjadřovat.
 - Na žádost dr. Krajhanzla Janssen Cilag - doc. Petruželka provedl kvalifikovaný odhad nutné spotřeby erythropoetinu u nemocných se solidními nádory (včetně dětí) - bude projednáno kategorizační komisí MZd - prof. Vorlíček.
 - Dr. Lapeš se obrací na IPVZ se žádostí o přejmenování katedry radio-terapie na katedru radiační onkologie - výbor ČOS požádá o stanovisko. Výbor nesouhlasí, radioterapie je jednou z terapeutických modalit. V tomto smyslu bude informováno IPVZ - prof. Klener.
 - Na žádost VZP o vyslání odborníka do výběrového řízení na revizní lékaře 28. 5. 1999 deleguje výbor doc. Petruželku.
- Přijetí nových členů
Výbor souhlasí s přijetím nových členů: dr. Trněný, Vykoukal, Šmakal.
Ukončení členství:
Vyřazení již zemřelých členů - otázka každoročního dotazu na změnu údajů - bydlíště.
Provede Inre-sones na žádost OS.
- Různé
 - Prof. Vorlíček podal informaci o možnosti přesunu preparátu Gemzar v určitých indikacích do kategorie P, výbor doporučuje omezit na: pankreas a NSCLC st. III a.b. - jako neoadjuvanci.
 - Koordinace akcí se Slovenskou onkologickou společností - bude projednáno na příštím výboru OS.
 - Internetová stránka-definitivní zadání bude projednáno na příštím výboru ČOS.
 - Koordinace činnosti regionálních odborníků v klinické onkologii s regionálními odborníky radioterapeuty a hematologů - zajistí doc. Petruželka.
 - Hesla pro kontinuální vzdělávání v klinické onkologii, požadovaná ČLK - doplní prof. Klener.
 - Výbor projednal návrh kritérií pro výběrová řízení v oboru klinická onkologie a navrhl zástupce ČOS do komise pro tato řízení.
 - Výbor obdržel pozvánku na konferenci LYMPHO 99, pořádanou v Praze 15.-16. října 1999.
 - Výbor upozorňuje členy na možnost objednání časopisu Onkologická péče vydávaný Českou společností sester ve spolupráci s BMS.

POKYNY PRO AUTORY ČASOPISU

Časopis je vydáván *Českou lékařskou společností J. E. Purkyně*, je úzce odborně profilovaný *Českou a Slovenskou onkologickou společností*. Je odborným lékařským časopisem s vědeckým zaměřením, který soustřeďuje informace s onkologickou tematikou.

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. K publikaci v časopisu „Klinická onkologie“ může být přijat pouze takový rukopis, který **nebyl publikován v jiném časopise**. Výjimku tvoří pouze abstrakta a sborníky vědeckých konferencí.

Rukopisy zasílejte v originále a jedné kopii včetně tabulek, grafů, obrázků, fotografií i seznamu použité literatury. Může být napsán v **českém, slovenském** nebo **anglickém** jazyce; s nadpisem článku, souhrnem a klíčovými slovy přeloženými do anglického (českého, nebo slovenského) jazyka.

Pokud píšete na stroji, pak pište na stroji s obvyklou velikostí typu po jedné straně bílého nelesklého papíru formátu A4; na jedné straně 30 řádků po 60 úhozech. Text, který má být zvýrazněn, pište proložené, který má být vysázen kurzívou, podtrhnout vlnovkou. Na jedné straně smí být maximálně 5 oprav; nesmí být vpisovány celé věty.

Při použití textového editoru zvolte větší fonty a zajistěte dobrou čitelnost.

Rukopis na disketě 3,5" je vítán; prosíme nepoužívat automatické zarovnávání textu, klávesu „Enter“ použít jen na konci odstavce, uvést použitý textový editor.

Omezte používání zkratk. Pokud je uvedena, musí před jejím prvním použitím v textu předcházet plný název. V nadpise souhrnu nelze zkratky použít.

Práce musí být formulovány s konečnou platností. Při autorské korektuře není dovoleno měnit, eventuálně doplňovat text. Korektury musí být podle platných zvyklostí (ČSN 88 0410).

Grafy, obrázky, fotografie musí mít profesionální úroveň. Obvyklé, je provedení černo-bílé. Písmena, číslice a symboly musí být tak velké a silné, aby i po zmenšení byly dobře čitelné. Podobně zpracujte i tabulky. Každou ilustraci označte na rubu jménem autora a počátkem názvu práce a označte horní okraj. Legendy k ilustracím se píší na zvláštní list.

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.

Úpravy jednotlivých typů článků

Přehled

- Krátký výstižný název práce/přeložený do angličtiny
- příjmení, zkratka jména autora/ů
- úřední název pracoviště autora/ů
- 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, kasuistika

- krátký výstižný název práce/přeložený do angličtiny
- příjmení, zkratka jména autora/ů
- ústřední 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*
- *cíl práce*
- *metody*
- *výsledky*
- *diskuse*
- *závěr*

- literatura
- poděkování jiným organizacím, sponzorům.

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
- vlastní text
- podle potřeby literatura

Na konci každého typu článku uvede první autor plné jméno s tituly, přesnou adresou a rodné číslo.

Každý rukopis je hodnocen redakcí a prochází **recenzním řízením**. Nepřijaté práce jsou vráceny.

Redakce nepřijme práce, které

- neodpovídají požadavkům na úpravu rukopisů určených k publikaci v lékařských a biologických časopisech
- byly nepříznivě posouzeny recenzenty
- jestliže redakce v poslední době příspěvek stejného tématu přijala nebo již publikovala
- není-li v záměru redakce a v poslání časopisu danou problematiku publikovat.

Rukopisy, vyhovující uvedeným požadavkům, zasílejte na adresu:

Redakce časopisu „Klinická onkologie“
Masarykův onkologický ústav
CZ-656 53 Brno
Žlutý kopec 7
Česká republika