

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

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

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

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:
Bohuslav Havlíček

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

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

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLEČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO
REDAKTORA: KOZA IVAN
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

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

REDAKČNÍ RADA:

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

Přehled

Doubek M., Mayer J. Filgrastim a akutní myeloidní leukemie	161
Soumarová R., Perková H., Bartlová R., Tichá H., Šeneklová Z. Konformní plánování intersticiální brachyterapie s využitím 3D plánovací konzoly	168
Kuncová J., Mandys V., Heráček J., Lukeš M., Zachoval R. Význam alterací adhezivních molekul CD44 v maligním chování nádorů	171
Mayer J., Doubek M., Brychtová Y., Vorlíček J. Využití rituximabu v léčbě chronické lymfatické leukemie	178

Původní práce

Felzl D. Potřebujete radioterapii v léčbě Hodgkinovy choroby?	184
Kocáková I., Špelda S., Kocák I., Gálová M., Vetchá H., Kovářová M., Lakomý R., Čaňková L., Zvaríková M. Irinotecan/cisplatin jako chemoterapie II. linie v léčbě metastatického adenokarcinomu žaludku a gastroezofageální junkce – pilotní studie ...	187

Kazuistika

Šterfanková I., Dušan D., Fabián J. Transplantácia srdca od darcu s melanómom. Ako ďalej?	193
--	-----

Zprávy

Šimíčková M. Z 20. Mezinárodní konference o lidských nádorových markerech 2003	196
---	-----

Informace

– knihy	192 195 198
---------------	-------------

Onkologické společnosti	199
--------------------------------------	-----

CONTENTS**Reviews**

Doubek M., Mayer J. Filgrastim in acute myeloid leukaemia	161
Soumarová R., Perková H., Bartlová R., Tichá H., Šeneklová Z. Three dimensional conformal planning of interstitial brachytherapy	168
Kuncová J., Mandys V., Heráček J., Lukeš M., Zachoval R. Significance of CD44 adhesion molecules alteration in the malignant behaviour of tumors	171
Mayer J., Doubek M., Brychtová Y., Vorlíček J. Rituximab in chronic lymphocytic leukemia	178

Original publications

Felzl D. Radiotherapy in the treatment of Hodgkin's disease-do we need it at all?	184
Kocáková I., Špelda S., Kocák I., Gálová M., Vetchá H., Kovářová M., Lakomý R., Čaňková L., Zvaríková M. Irinotecan/cisplatin in the second line chemotherapy of metastatic gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma – pilot study	187

Case Report

Šterfanková I., Dušan D., Fabián J. Heart transplantation from the donor with melanoma. What should be the next step?	193
--	-----

Report

Šimíčková M. 20th International Conference on Human Tumor Markers	196
--	-----

Notification

– book	192 195 198
--------------	-------------

Oncological association	199
--------------------------------------	-----

FILGRASTIM A AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE

FILGRASTIM IN ACUTE MYELOID LEUKAEMIA

DOUBEK, M., MAYER, J.

INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA LF MU A FN BRNO

Souhrn: Klinické studie s filgrastimem a dalšími kolonie stimulujícími faktory jsou prováděny už více než 10 let. Tyto látky byly u pacientů s akutní myeloidní leukémií zkoušeny proto, aby redukovaly procento závažných infekcí po chemoterapiích. Randomizované studie potvrdily, že aplikace filgrastimu vede ke snížení rizika infekce po chemoterapii. Druhým důvodem k podávání kolonie stimulujících faktorů u nemocných s akutní myeloidní leukémií byl „priming“ leukemických blastů – zvýšení účinnosti chemoterapie. Filgrastim byl podáván před a během chemoterapie, aby došlo ke zvýšení citlivosti leukemických blastů na léčbu. Výsledky randomizovaných studií ale zatím nepotvrdily účinnost této strategie. U pacientů s akutní myeloidní leukémií je filgrastim úspěšně používán i při mobilizaci krvetvorných buněk periferní krve. Podávání filgrastimu u nemocných s akutní myeloidní leukémií je bezpečné.

Klíčová slova: filgrastim – akutní myeloidní leukémie

Summary: Clinical trials of filgrastim and other colony-stimulating factors have been conducted for over 10 years. These agents were hypothesized to reduce rates of infection in the initial weeks after administration of chemotherapy in acute myeloid leukaemia patients. Large randomized trials has reported that a decrease in infection occurs as a result. The second major use of filgrastim has been in priming acute myeloid leukaemia blasts to the cytotoxic actions of chemotherapy. Filgrastim has been administered before and during chemotherapy with the aim to increase the number of leukaemic blasts in cell cycle and enhance their responsiveness to chemotherapy. The results of several randomized trials do not justify application of this strategy. In acute myeloid leukaemia patients, filgrastim is successfully used in peripheral blood stem cells mobilisation as well. Filgrastim administration is safe in acute myeloid leukaemia patients.

Key words: filgrastim – acute myeloid leukaemia

Úvod

Již před několika desítkami let bylo známo, že krvetvorba je řízena specifickými faktory ovlivňujícími zrání a diferenciaci krevních buněk. Tyto faktory byly postupně poznávány a syntetizovány.

Rekombinantní neglykozylovaný granulocytární kolonie stimulující faktor (G-CSF) – filgrastim – byl syntetizován v letech 1984 – 1986 (74). Souhlas k rutinnímu podávání filgrastimu pacientům po chemoterapii byl dán v roce 1991 ve Spojených státech (86).

Kromě filgrastimu je používána i druhá forma rekombinantního G-CSF, glykozylovaný G-CSF – lenograstim, který byl v Evropě registrován o dva roky později než filgrastim. Lenograstim se v účinnosti nijak od filgrastimu neliší (86).

Filgrastim je nyní používán k rychlejšímu obnovení krvetvorby u pacientů po chemoterapiích, po transplantacích kostní dřeviny, při sběru hematopoetických kmenových buněk z periferní krve (*peripheral blood stem cells*, PBSC) nebo v terapii některých neoplastických krevních nemocí jako aplastické anémie či chronických neutropenií. Dosud není zcela jasné a pevně určené postavení filgrastimu v terapii akutní myeloidní leukémie (AML).

Filgrastim

Filgrasim je glykoprotein o molekulární hmotnosti přibližně 20 kDa. Je produkován makrofágy, buňkami stromatu kostní dřeviny, endoteliemi a fibroblasty (1). Úlohu filgrastimu v obraně proti bakteriální infekci ukazuje obrázek 1.

Struktura filgrasimu je znázorněna na obrázku 2.

Farmakologie a farmakokinetika filgrastimu byla studována na hladavcích, primátech i zdravých dobrovolnících a pacien-

tech (33, 80). Podle těchto studií má lék stálý a dobře predikovatelný farmakologický profil, dává-li se podkožně nebo intravenózně (86).

Myši s deficitem endogenního G-CSF trpí chronickou neutropenií (49). Množství endogenního G-CSF v krvi vzrůstá při infekci nebo u jedinců s neutropenií způsobenou jinými faktory než nedostatkem endogenního G-CSF (18).

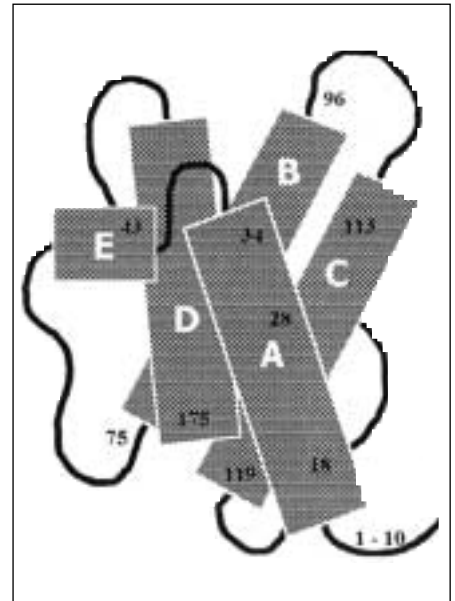
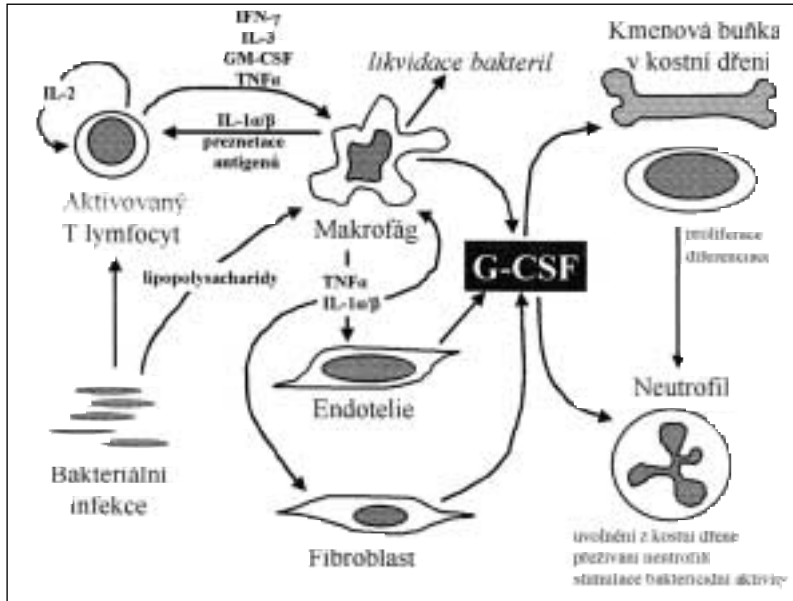
Filgrasim selektivně a specificky stimuluje proliferaci a diferenciaci neutrofilních prekurzorů (85). Filgrastim účinkuje stejně u mladých zdravých dobrovolníků i jedinců vyššího věku (42).

Lék se váže se na specifický receptor (viz dále). Gen kódující G-CSF se nachází na dlouhém rameni 17. chromozomu (17q21-23) (86).

Jediná podkožní aplikace filgrastimu v dávce 10 µg/kg vede k maximálnímu vzestupu sérové koncentrace této látky za 2 – 4 hodiny po podání. Podání je prováděno dvojevrcholovým vzestupem absolutního počtu neutrofilů. Jeden vzestup nastává během 2 - 4 hodin po aplikaci, další pak za 1 – 2 dny po podání G-CSF. Maturace neutrofilů je zkrácena z 5 dní na 1 den (51, 86). Některé studie ukazují, že po aplikaci filgrastimu nastává iniciálně přechodný pokles cirkulujících neutrofilů. Tento jev je podle všeho dán adhezí neutrofilů k endotelu (10, 86). Klinický efekt filgrastimu je dán jeho působením na buňky neutrofilní linie. Objevily se ale také zprávy, že lékem mohou být stimulovány i progenitorové buňky, čili blasty (61).

Po podání filgrastimu onkologickým nemocným v dávce 11,5 µg/kg formou třicetiminutové intravenózní infuze byla dosažena maximální sérová koncentrace 384 ng/ml. Hladina léku se vrací k normě po 14 až 18 hodinách od podání (86). Lék se po subkutánní aplikaci vstřebává velmi rychle, takže není roz-

Obr. 1. G-CSF (filgrastim) a bakteriální infekce. • **Obr. 2. Schematické znázornění struktury filgrastimu.** Filgrastim je glykoprotein skládající se ze čtyř antiparalelních α helixů označených A, B, C a D. Pátý helix, E, je krátký. Helixy jsou spojené jednou krátkou a dvěma dlouhými smyčkami. Čísla udávají pořadí aminokyselin. Podle: Welte a kol., 1996.



díl v rychlosti dosažení maximálních sérových koncentrací po intravenózním či podkožním podání (59). Biologická dostupnost filgrastimu podávaného v malých dávkách (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) zdravým dobrovolníkům byla 53 %. Pokud je lék podáván v dávkách terapeutických, jeho biologická dostupnost vzrůstá nad 80 % (90).

Receptor pro filgrastim

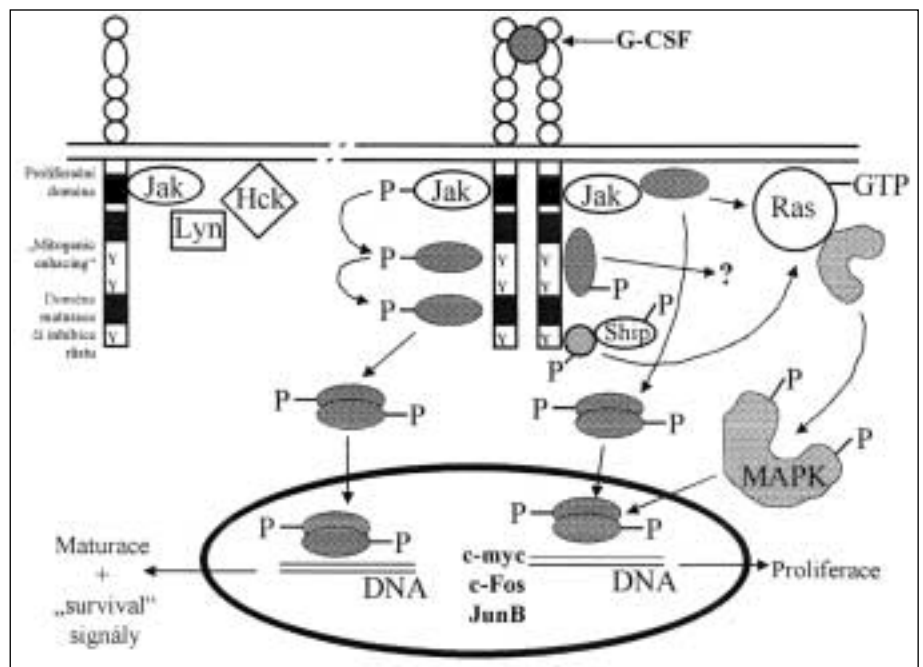
Receptor pro filgrastim (G-CSF-R) je zástupcem superodiny cytokinových receptorů typu I. G-CSF-R je exprimován dominantně na povrchu buněk neutrofilní řady. Počet receptorů pro filgrastim na povrchu buněk se zprvu zvyšuje s maturací buňky, nejvíce je jich na promyelocytech, posléze mírně klesá (1, 86). Na povrchu jednoho neutrofilního granulocytu v periferní krvi je 1000 – 2000 G-CSF-R (36). G-CSF-R může být přítomen i na krvetvorných kmenových buňkách (i na leukemických blastech), dále je slabě zastoupen na povrchu krevních destiček i na endoteliích, placentě a na mnoha fetálních orgánech (1, 57). Hlavní funkcí G-CSF-R je přenos signálů ovlivňujících proliferaci, diferenciaci a přežívání buňky (1).

Gen pro G-CSF-R se nachází na krátkém rameni 1. chromozomu (1p35-p34.3) (86). G-CSF-R byl studován především na myším modelu. Myší gen pro G-CSF-R vykazuje 72% shodu v pořadí nukleotidů s lidským G-CSF-R genem a myší G-CSF je, co se týká pořadí aminokyselin, s lidským G-CSF shodný ze 62 % (1). Lidský receptor pro filgrastim má 5 izoform, což je dáno různými možnostmi sestřihu mRNA pro G-CSF-R (48). Fyziologický význam izoform G-CSF-R není dosud objasněn (1).

G-CSF-R je transmembránový glykoprotein o molekulární hmotnosti přibližně 130 kDa (1). Extracelulární oblast G-CSF-R má šest strukturálních domén (1, 48). Na transmembránovou doménu G-CSF-R navazuje cytoplazmatická část, která obsahuje dvě velmi konzervativní oblasti homologní s ostatními typy cytokinových receptorů typu I. Filgrastim se váže na G-CSF-R extracelulárně v oblasti tzv. F-G kličky (1). Mutace v extracelulárních oblastech G-CSF-R mohou vést k závažným klinickým projevům. Byl například popsán případ těžké kongenitální neutropenie, která nebyla léčitelná podáním filgrastimu (84).

G-CSF-R tvoří po navázání ligandu, podobně jako receptor pro erythropoetin, homodimery (viz obrázek 3). Heterodimery

Obr. 3. Schéma přenosu signálu prostřednictvím G-CSF receptoru (G-CSF-R). Navázání G-CSF způsobuje tvorbu homodimerů G-CSF-R, která je následována aktivací řady cytoplazmatických signálních proteinů, které pak ovlivňují proliferaci, diferenciaci a/nebo přežívání buňky. Blíže viz text. Podle: Akbarzadeh a Layton, 2001.



tvorí například receptor pro interleukin-2, jiné komplexy receptor pro interleukin-6 (1).

Filgrastim je hlavním regulátorem granulopoézy *in vivo*. Stimuluje proliferaci, diferenciaci a přežívání granulocytů. Stimuluje i jejich uvolňování z kostní dřeně (1, 9). Tyto jeho účinky jsou zprostředkovány G-CSF-R a signálními drahami, které na G-CSF-R navazují. Po navázání ligandu je G-CSF-R fosforylován (na tyrozinech). Tím je iniciována kaskáda fosforylace dalších proteinů. U zralých neutrofilů jde o tyrozinkinázy Lyn a Syk, serinové/treoninové kinázy ERK1, ERK2 a MEK a dále o regulační transkripci Stat3 a *c-rel*. V případě proliferujících buněk jsou fosforylovány Janus tyrozinkinázy (Jak1, Jak2 a Tyk2) či transkripční faktory Stat1, Stat3 a Stat5 (1). Zkratka Stat znamená *signal transducer and activator of transcription*. Přenos signálu z G-CSF-R do nitra buňky je znázorněn na obrázku 3. Jak kinázy představují jednu z nejdůležitějších signálních drah. Jak1 deficitní myši zmírají v prenatálním období (1). Zajímavé ale je, že žádná z Jak deficitních myši nevykazuje defektní odpověď na podávání filgrastimu. Jejich role v přenosu signálu z G-CSF-R je pravděpodobně redundantní (23). Kromě Jak/Stat cesty přenosu signálu hraje velmi významnou roli v přenosu informace z G-CSF-R ještě cesta Ras/MAPK (1). MAPK je *mitogen-activated protein kinase*. Inhibiční vliv na přenos signálu z G-CSF-R má například SH2 obsahující inositol fosfatáza (Ship) či supresory signální transdukce Socs inhibující cestu Jak/Stat (76).

Otázkou funkce neutrofilů stimulovaných G-CSF nebo GM-CSF bez ohledu na jejich absolutní počet se zabývala řada prací. Filgrastim *in vitro* i *in vivo* stimuluje schopnost adherence neutrofilů, fagocytózu, baktericidní schopnosti granulocytů, zvyšuje expresi Fcγ immunoglobulinového receptoru a podílí se na zvýšení produkce reaktivních forem kyslíku. Pozitivní ovlivnění chemotaxe filgrastimem není zcela jednoznačné (75, 79).

Terapeutické užití filgrastimu

Ačkoli podle studií *in vitro* není filgrastim tak silným stimulantem granulopoézy jako GM-CSF či interleukin-3, výsledky klinických studií ukazují, že *in vivo* jsou jeho účinky s uvedenými cytokiny plně srovnatelné (1). Proto je filgrastim v klinice hojně používán. Bodey a kol. (7) z MD Anderson Cancer Center ve své přelomové práci prokázali už v roce 1966, že závažné bakteriální infekce (hlavně gram-negativní bakteriémie) se objevují především u nemocných s akutní leukémií, kteří mají méně než 100 granulocytů v 1 μl periferní krve. Těžká neutropenie, která trvá déle než 3 týdny je velkým nebezpečím rozvoje život ohrožující infekce. Z tohoto poznatku je zřejmé, jak důležitá může být aplikace filgrastimu neutropenickým nemocným. Argumentem pro užívání filgrastimu je i jeho nízká toxicita (29).

Filgrastim je používán v terapii mnoha chorob. Je podáván pacientům s chronickými neutropeniemi – cyklická, idiopatická, těžká kongenitální (41, 67, 86), od roku 1991 je úspěšně dáván po chemoterapiích u pacientů se solidními tumory či lymfoidními malignitami (2, 19, 29, 43, 79, 86), může být součástí terapie těžké aplastické anémie (21), byl zkoušen u pacientů s AIDS a bakteriálními infekcemi (39) nebo u nemocných s mykózami, po transplantaci jater, s ARDS či u septických pacientů (86). Filgrastimem lze navodit zlepšení parametru krevního obrazu pacientů s myelodysplastickými syndromy (21, 86). Filgrastimu a AML budou věnovány další odstavce. Samozřejmostí je dnes již použití filgrastimu k mobilizaci a získání štěpu PBSC. Multilineární příhojení PBSC po vysoko-dávkované chemoterapii je rychlejší než příhojení krvetvorných buněk z kostní dřeně. Mobilizaci PBSC je rutinně prováděna buď samotným růstovým faktorem krvetvorby nebo růstovým faktorem doplňujícím podání chemoterapie. Filgrastimem lze stimulovat zdravé dárce PBSC (73) a samozřejmě i pacienty s hematologickými či nehematologickými chorobami. První zprávu o takovéto mobilizaci podal Dührsen a kol.

(24). Jednou z prvních prací věnující se stimulaci filgrastimem v hematonekologii je práce Sheridana a kol. (70), kteří tímto lékem stimulovali pacienty s nemyeloidními malignitami špatné prognózy.

Toxicita a bezpečnost filgrastimu

Toxicita filgrastimu u pacientů s AML stála ve středu zájmu několika studií. Závěr všech prací zní, že toxicita filgrastimu je nízká. Častější (u 10 – 20 % pacientů) jsou jen bolesti svalů a kostí. Raritní jsou lokální kožní změny v místě aplikace. Mohou se vyskytnout elevace sérových hladin alkalické fosfatázy a kyseliny močové (22, 63, 79, 86). Viz dále.

Poměr cena/prospěch při užití filgrastimu

Na téma cena/prospěch filgrastimu bylo publikováno několik sdělení. Některá z nich se týkají přímo pacientů s AML. Bennett a kol. (5) nezjistili žádný zásadní rozdíl v ceně terapie starších pacientů s AML dostávajících po chemoterapii placebo nebo filgrastim. Šlo o pacienty zařazené do studie Godwina a kol. (35). Průměrná cena terapie nemocného dostávajícího placebo byla 49 693,- \$, průměrná cena terapie pacienta dostávajícího filgrastim byla jen nepatrně vyšší: 50 593,- \$. Ti samí autoři dokonce při analýze nákladů terapie nemocných zařazených do studie Roweho a kol. (68), jedné studie jednoznačně prokazující prospěch podávání růstového faktoru krvetvorby (konkrétně GM-CSF) nemocným s AML po chemoterapii, zjistili, že cena terapie ve skupině dostávající placebo byla o něco vyšší než cena terapie ve skupině dostávající GM-CSF (40 722,- \$ versus 38 412,- \$)(6).

Většina dalších prací zaměřených na analýzu cena/prospěch podávání růstových faktorů krvetvorby u pacientů s hematologickými malignitami přišla také k závěru, že podávání těchto preparátů přináší nejen klinický, ale i ekonomický benefit u mladých i starších pacientů (6, 54).

Akutní myeloidní leukemie a filgrastim

Klinické studie s filgrastimem a ostatními cytokiny v terapii AML už jsou prováděny více než 10 let.

Ačkoliv bylo prokázáno, že filgrastim urychluje restituci krvetvorby po myelosupresivní léčbě, jeho použití u pacientů s AML bylo donedávna předmětem sporů. Odpovědi na mnoho otázek se ještě stále hledají a těžko odhadnout, zda bude někdy vysloven definitivní závěr (29, 64, 71). *In vitro* totiž může filgrastim stimulovat růst klonu leukemických buněk (81). *In vivo* však tyto obavy nakonec potvrzeny nebyly (29, 52). Americká společnost Food and Drug Administration dokonce zpočátku odmítala používání filgrastimu u pacientů s AML (29).

Rozhodnutí podávat filgrastim pacientům s AML má několik rovin. Nezanedbatelný je již zmiňovaný fakt, že filgrastim urychluje obnovu krvetvorby po chemoterapii („recovery“ neutrofilů zkracuje průměrně o 2 – 5 dní) (25). Další rovinu představuje skutečnost, že růstové cytokiny krvetvorby pravděpodobně mohou zvýšit citlivost nádorových blastů k chemoterapeutikům (*priming*) (8, 12, 25, 32). Růstové cytokiny krvetvorby by mohly zvýšit počet blastů v S-fázi buněčného cyklu či ovlivnit pro- a antiapoptické proteiny buňky (25). Dále zvyšují například inkorporaci cytosinarabosidu do DNA blastů (40, 79). Jiné práce naopak ukazují, že filgrastim snižuje tvorbu cytosinarabosid trifosfátu, aktivního metabolitu cytosinarabosidu, v leukemických buňkách (30, 31), ale zvyšuje tvorbu aktivního metabolitu fludarabinu (31). Dlouho se již spekuluje i o tom, že filgrastim by mohl obnovit zastavenou maturaci leukemických blastů (79). Všechny tyto poznatky si vyžadují další výzkum (32). Důvody, proč by mohly být růstové cytokiny krvetvorby u nemocných s AML podávány již během chemoterapie, jsou uvedeny v tabulce 1.

První klinické studie zabývající se podáním cytokinů během nebo po chemoterapii pacientů s AML se objevují počínaje rokem 1990.

Tab. 1. Důvody podávání růstových cytokinů krvetvorby u nemocných s AML během chemoterapie.

Zvýšení přechodu buněk z G0 fáze do G1 a S fáze buněčného cyklu
Zvýšení intracelulární inkorporace ARA-C trifosfátu
Zvýšení cytotoxicity chemoterapie
Zvýšení chemoterapií navozené apoptózy
Zvýšení hladiny topoizomerázy II
Downregulace MDR-1

Ohno a kol. (63) publikovali v roce 1990 výsledky randomizované prospektivní studie zabývající se účinností a bezpečností filgrastimu po standardní chemoterapii u 108 pacientů s refrakterní nebo relabovanou AML. Filgrastim v dávce 200 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{den}$ byl podáván od druhého dne po ukončení chemoterapie do vzestupu leukocytů nad $1,5 \times 10^9/\text{l}$. Filgrastim o týden zkrátil „recovery“ neutrofilů ve srovnání se skupinou nemocných, kteří filgrastim nedostávali. Incidence febrilní neutropenie filgrastimem ovlivněna nebyla, ale incidence prokázaných infekcí byla ve skupině pacientů dostávajících filgrastim snížena. Procento remisí AML po terapii se ve skupině pacientů léčených filgrastimem nelišilo od pacientů ostatních.

Podobné výsledky lze při terapii filgrastimem po chemoterapiích očekávat i u starších nemocných s AML (8).

Ohno a kol. (64) se dále zabývali otázkou, zda podávání filgrastimu nemocným s AML již před chemoterapií a dále v jejím průběhu může vést ke zvýšení účinnosti léčby stimulací „klidových“ leukemických buněk. Tato studie prokázala rychlejší obnovení krvetvorby u filgrastimem léčených nemocných, avšak incidence febrilní neutropenie byla stejná. Kompletní remise dosáhlo 50 % pacientů léčených filgrastimem a 37 % léčených placebem. Tento rozdíl ale nebyl statisticky signifikantní. Přežití bez příznaku nemoci u pacientů dostávajících filgrastim nebylo zlepšeno.

Estey a kol. (27) studovali, zda filgrastim aplikovaný před, v průběhu a po chemoterapii s fludarabinem a cytosinarabinosidem u pacientů s nově diagnostikovanými AML nebo myelodysplastickým syndromy (MDS) ovlivňuje počet kompletních remisí, infekcí, restituci krvetvorby a přežití nemocných. Celkem byly analyzovány výsledky terapie 112 pacientů. Vesměš šlo o pacienty staré s negativními prognostickými faktory. Tato studie neprokázala, že by filgrastim představoval pro tyto nemocné zlepšení prognózy.

Výsledky těchto prací potvrzují i další sdělení (86).

Pacienti s AML, kterým se nemoc vrátila po alogenní transplantaci kostní dřeně mají velmi špatnou prognózu. Jen menšinu z nich ustupuje nemoc po podání další chemoterapie a téměř nikdo dlouhodobě nepřezívá. Giralta a kol. (34) proto sledovali, zdali může filgrastim u těchto nemocných stimulovat normální krvetvorbu. Filgrastim (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{den}$) byl podáván sedmi ženám, kterým AML relabovala do 360 dnů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Tři z nich dosáhly hematologické a cytogenetické remise. Autoři práce se proto

domnívají, že filgrasim může být efektivní u určité skupiny pacientů s časným relapsem AML po alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Interpretace totiž může ale činit fakt, že za 7 – 14 dní po nasazení filgrastimu byl vysazen cyklosporin a steroidy. K remisím mohlo proto dojít v důsledku vysazení imunosuprese a potenciace účinku štěpu proti leukemii. Godwin a kol. (35) neprokázali studií na 234 nemocných s AML vliv filgrastimu podávaného s a po chemoterapii na počet dosažených kompletních remisí. Ke stejnému výsledku dospěli i japonští autoři, kteří podávali filgrastim po indukční terapii pacientům s nově diagnostikovanou AML. Výsledky léčby těchto nemocných byly srovnávány se skupinou dostávající placebo. Celkem bylo analyzováno 270 nemocných. Počty kompletních remisí, pravděpodobnost pětiletého přežití bez příznaku nemoci a celkové přežití obou skupiny pacientů nebylo statisticky rozdílné (82).

K rozdílným zjištěním naopak dospěli Dombret a kol. a Ogata a kol. Dombret a kol. (22) srovnávali filgrastim s placebem podávané 173 pacientům s AML léčeným chemoterapií. Zjistili, že nemocní, jimž byl filgrastim podáván, dosáhli vyššího počtu kompletních remisí (70 % remisí u nemocných léčených filgrastimem a 47 % remisí ve skupině dostávající placebo). Ogata a kol. (60) publikovali, že filgrastim podávaný pacientům s AML spolu s postremisní chemoterapií přináší nemocným s AML benefit. Filgrastim snižoval toxicitu konzolidační léčby složené z cytosinarabinosidu, daunorubicinu, 6-merkaptopurinu a prednisolonu, a také prodloužoval trvání kompletních remisí. Šlo však o pilotní studii jen na 26 nemocných.

Výsledky podobně postavených studií s GM-CSF dospěly k podobně nejednoznačným výsledkům (79). Shrnutí závěrů několika studií fáze III studujících roli růstových faktorů krvetvorby (zejména GM-CSF) shrnuje tabulka 2.

Vliv růstových faktorů krvetvorby na zlepšení celkového přežití nemocných s AML tedy jednoznačně prokázán nebyl (38, 82). Studiemi, jejichž výsledek jednoznačně prokazuje pozitivní vliv růstového faktoru krvetvorby na celkové přežití nemocných nebo přežití bez příznaku nemoci jsou práce Roweho a kol. (68) (pozitivní vliv GM-CSF) a práce Kerna a kol. (46) (pozitivní vliv filgrastimu). Prodloužení celkového přežití nemocných s AML publikované v práci Roweho a kol. je ale nutné přičíst zejména snížení mortality na infekční komplikace. Jen v jediné studii (93) bylo přežití nemocných s AML dostávajících růstový faktor krvetvorby (GM-CSF) kratší než v kontrolní skupině. Možné příčiny rozdílů výsledků studií zabývajících se rolí růstových faktorů krvetvorby v terapii AML uvádí tabulka 3.

Dovolují však tyto ne zcela jasné závěry vyřadit filgrastim z terapie AML? Na tuto otázku je třeba odpovědět, že ne. Je potřeba dalších studií. Vždyť mnoho z těch dosud publikovaných bylo prováděno zejména na starších pacientech nebo na pacientech s rezistentními chorobami, což jejich výsledky nepochybně poznamenalo (79). V současné době se tak množí zprávy o chemoterapeutických režimech doplněných o filgrastim a jejich účinnosti v terapii AML. Polští autoři (66) publikovali zprávy o účinnosti režimu CLAG (kladribin + cytosinarabinosid + filgrastim) v terapii rezistentní AML, kterým lze navodit 50 % kompletních remisí. Nemálo zpráv bylo

Tab. 2. Shrnutí výsledků studií fáze III zabývajících se podáváním růstových faktorů krvetvorby s chemoterapií u nově zjištěných AML.

Studie	Typ CSF	Toxicita CSF	Stimulace leukemického klonu	„Recovery“ polymorfonukleárů	Počet kompletních remisí	Celkové přežití
CALBG - Stone a kol. (77)	GM-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	NEOVLIVNĚN	NEOVLIVNĚNO
Witz a kol. (81)	GM-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	NEOVLIVNĚN	NEOVLIVNĚNO
Zittoun a kol. (91)	GM-CSF	NE	ANO	NEOVLIVNĚNO	SNÍŽEN	NEOVLIVNĚNO
ECOG - Rowe a kol. (68)	GM-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	NEOVLIVNĚN	ZLEPŠENO
Büchner a kol. (12)	GM-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	ZVÝŠEN	NEOVLIVNĚNO
Dombret a kol. (22)	G-CSF	NE	NE	ZKRÁCENO	ZVÝŠEN	NEOVLIVNĚNO

Tab. 3. Příčiny diskrepancí výsledků klinických studií hodnotících vliv růstových faktorů krvetvorby na terapii AML. Podle: Geller, 2002.

Rozdílný věk pacientů ve studiích
Rozdílné chemoterapie
Různá pokročilost choroby
Rozdílné typy AML (<i>de novo</i> , sekundární, relabované)
Rozdílný „timing“ podávání růstových faktorů
Různý stupeň hypoplázie kostní dřeně
Aplikace různých růstových faktorů

napsáno o efektu režimu FLAG (fludarabin + cytosinarabosid + filgrastim) nebo FLAG-Ida (FLAG + idarubicin) v terapii rezistentních nebo relabovaných AML. Těmito režimy lze navodit u více než 50 - 70 % nemocných kompletní remisí nemoci (16, 26, 69). Podobnými režimy jsou chemoterapie FLANG (FLAG + mitoxantron), účinná v terapii rezistentních AML i blastických zvrátů chronické myeloidní leukemie (56), S-HAM (vysokodávkovaný cytosinarabosid a mitoxantron) + filgrastim (46) či chemoterapie kombinující vysokodávkovaný cytosinarabosid, idarubicin a filgrastim, jejíž efekt byl ověřen zejména u *de novo* AML (4). Nejde ale, bohužel, o studie randomizované. Filgrastim lze bezpečně použít u pacientů s AML i k urychlení obnovy krvetvorby po autologní transplantaci krvetvorných buněk (3).

Byly dokonce publikovány ojedinělé zprávy, že samotný filgrastim bez podání chemoterapie může navodit kompletní remisí některých AML (hypoplastická AML, AML s t(8;21)) (28, 78).

Využití filgrastimu při získání autologního štěpu krvetvorných buněk u nemocných s akutní myeloidní leukémií

O počáteční nedůvěře k podávání filgrastimu u pacientů s AML jsme se již zmínili. Navíc také nepanuje úplná shoda v tom, který pacient s AML by měl být léčen transplantací krvetvorných buněk a který ne, či který nemocný s AML by měl být adeptem transplantace autologní a který alogenní. Jsou případy, kdy rozporů nejsou, je ale mnoho nemocných, u kterých je rozhodování nesnadné (13, 20, 50). Mnohdy není jednoduché ani interpretovat výsledky statistických analýz terapie AML (87).

U dospělých byly v posledních 10 letech publikovány výsledky několika velkých prospektivních studií srovnávajících chemoterapii, autologní a alogenní transplantaci kostní dřeně u pacientů s AML. Šlo o studie skupin The European Organization for Research and Treatment of Cancer – Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (EORTC-GIMEMA), The Groupe Ouest d'études de leucémies Aigues Myeloblastiques (GOLEAM), The Medical Research Council (MRC) a US Intergroup (14, 15, 17, 37, 92).

Ve světle publikovaných dat se zdá, že u pacientů s AML lze filgrastim bezpečně podat jako stimulaci před sběrem autologního štěpu PBSC. Výťažnost takového sběru by měla převýšit výťažnost při odběru kostní dřeně, z čehož by posléze měl pramenit významný prospěch pro pacienta zkrácením období do přihojení krvetvorných buněk po jejich autologní transplantaci, a tedy snížením všech komplikací, které dlouhodobě obnovování krvetvorby provází (11). Lze také předpokládat, že štěp získaný stimulací filgrastimem a odebraný z periferní

krve bude méně kontaminován leukemickými blasty než v případě kostní dřeně. Mobilizace filgrastimem a sběr autologních PBSC je úspěšně prováděn u pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií a nyní častěji i u nemocných s chronickou myeloidní leukémií (45).

O využití filgrastimu při mobilizaci před sběrem autologních PBSC u nemocných s AML v první kompletní remisi nemoci je častěji referováno především v posledních letech. Schiller a kol. (72) provedli sběr periferních krvetvorných buněk u 17 starších pacientů (medián věku 63 let) s AML po konzolidační chemoterapii vysokodávkovaným cytosinarabosidem (2 g/m² každých 12 hodin po dobu 4 dní) a mitoxantronem (10 mg/m² 3 dny), která byla následována denní aplikací filgrastimu v dávce 5 µg/kg. Medián provedených separací byl 5. Celkem bylo získáno 1,18 x 10⁶/kg CD34+ buněk (medián), rozpětí 0,34 – 30,9 x 10⁶/kg. Chemoterapie byla metodou *in vivo* čištění štěpu. Po následné autologní transplantaci po režimu s cyklofosfamidem a celotělovým ozářením dlouhodobě přežívá 53 % nemocných. Dlouhodobě je v celkové remisi AML 41 % nemocných. Výraznější toxicita autologní transplantace byla zaznamenána jen u 3 pacientů, z nichž zemřel jediný. Linker a kol. (50) léčili 128 nemocných s AML, kteří dosáhli první remise po indukci konzolidační chemoterapií vysokodávkovaným cytosinarabosidem (2 g/m² každých 12 hodin po dobu 4 dní) a etoposidem (40 mg/m² 4 dny). Od čtrnáctého dne po zahájení chemoterapie bylo zahájeno podávání filgrastimu v dávce 5 µg/kg/den a byl proveden sběr PBSC. Během konzolidace zemřel 1 pacient. Medián posbíraných CD34+ buněk byl 14 x 10⁶/kg, což mnohonásobně převyšuje výťažnost odběrů krvetvorných buněk z kostní dřeně! Celkem 117 pacientů bylo následně autologně transplantováno. Kalkulované pětileté přežití bez příznaku nemoci je 55 % pro všechny nemocné a dokonce 73 % pro nemocné s příznivou cytogenetikou.

Podobné výsledky jako ukazují tyto práce jsou uvedeny i v dalších publikacích (44, 53, 65, 83). Autologní transplantace PBSC by neměla zhoršovat přežití nemocných s AML ve srovnání s autologní transplantací kostní dřeně (83, 89). Právě naopak (47, 55). PBSC mohou být sbírány už po první konzolidační nebo až v rámci pozdějších konzolidačních chemoterapií. Zdá se, že lepší je varianta druhá. Více konzolidačních chemoterapií má větší antileukemický efekt. Nerandomizované studie naznačují, že dlouhodobě přežití bez příznaku nemoci je v tomto případě zlepšeno a kontaminace štěpů leukemickými buňkami je skutečně menší (11, 55, 58).

Jak už bylo uvedeno, filgrastim lze bezpečně použít u pacientů s AML i k urychlení obnovy krvetvorby po autologní transplantaci krvetvorných buněk. Je-li podáván ode dne +1 po transplantaci či až ode dne +5 není podle všeho rozhodující (3). Kromě filgrastimu je ke stimulaci pacientů s AML užíván i GM-CSF, *stem cell factor* nebo interleukin-3 (11).

Závěr

Podávání filgrastimu nemocným s AML, včetně stimulační aplikace před sběrem autologních PBSC, je bezpečné. Pacientovi s AML by mělo přinášet i prospěch. Výťažnost sběru autologních krvetvorných buněk získaných stimulací filgrastimem převyšuje výťažnost při odběru kostní dřeně. Proto lze očekávat zkrácení období do přihojení krvetvorných buněk po jejich případné autologní transplantaci, a tedy snížení všech komplikací, které dlouhodobě obnovování krvetvorby provází.

Literatura

1. Akbarzadeh, S., Layton, J. E.: Granulocyte colony-stimulating factor receptor: structure and function. *Vit. Hormones*, 63, 2001, s. 159 – 194
2. American Society of Clinical Oncology: American society of clinical oncology recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based, clinical practice guidelines. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, s. 2471 – 2508

3. Azevedo, A. M. de, Nucci, M., Maiolino, A. et al: A randomized, multicenter study of G-CSF starting on day +1 vs day +5 after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 29, 2002, s. 745 – 751
4. Baer, M. R., Christiansen, N. P., Frankel, S. R. et al.: High-dose cytarabine, idarubicin, and granulocyte colony-stimulating factor remission induction therapy for previously untreated *de novo* and secondary adult acute myeloid leukemia. *Semin. Oncol.*, 20, 1993, s. 6 – 12

5. Bennett, C. L., Hynes, D., Godwin, J. et al.: Economic analysis of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) as adjunct therapy for older patients with acute myelogenous leukemia (AML): estimates from a Southwest Oncology Group (SWOG) clinical trial. *Blood*, 92, 1998, suppl. 1, abstrakt 615a
6. Bennett, C. L., Stinson, T. J., Tallman, M. S. et al.: Economic analysis of a randomized placebo-controlled phase III study of granulocyte macrophage colony stimulating factor in adult patients (> 55 to 70 years of age) with acute myelogenous leukemia. *Ann. Oncol.*, 10, 1999, s. 177 – 182
7. Bodey, G. P., Buckley, M., Sathe, Y. S. et al.: Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann. Intern. Med.*, 64, 1966, s. 328 – 340
8. Bolam, S., Hamblin, T.: Colony-stimulating factors in the treatment of older patients with acute myelogenous leukaemia. *Drugs Aging*, 15, 1999, s. 451 – 460
9. Bovolenta, C., Gasperini, S., Cassatella, M. A.: Granulocyte colony-stimulating factor induces the binding of STAT1 and STAT3 to the IFNgamma response region within the promoter of the Fc(gamma)RI/CD64 gene in human neutrophils. *FERS Lett.*, 386, 1996, s. 239 – 242
10. Bronchud, M. H., Potter, M. R., Morgenstern, G. et al.: In vitro and in vivo analysis of the effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients. *Br. J. Cancer*, 58, 1988, s. 64 – 69
11. Bruserud, Ø., Tjønnfjord, G., Gjertsen, B. T. et al.: New strategies in the treatment of acute myelogenous leukemia: mobilization and transplantation of autologous peripheral blood stem cells in adult patients. *Stem Cells*, 18, 2000, s. 343 – 351
12. Büchner, T., Hiddemann, W., Wormann, H. et al.: GM-CSF multiple course priming and long-term administration in newly diagnosed AML. Hematologic and therapeutic effects. *Blood*, 84, 1994, suppl., s. 144a
13. Burnett, A. K.: Current controversies: which patient with acute myeloid leukemia should receive a bone marrow transplantation? – an adult treater's view. *Br. J. Haematol.*, 118, 2002, s. 357 – 364
14. Burnett, A. K., Goldstone, A. H., Stevens, R. et al.: Randomized comparison of addition of autologous bone-marrow transplantation in intensive chemotherapy for acute myeloid leukaemia in first remission: results of MRC AML 10 trial. *Lancet*, 351, 1998, s. 700 – 708
15. Burnett, A. K., Wheatley, K., Goldstone, A. H. et al.: The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML10 trial. *Br. J. Haematol.*, 118, 2002, s. 1 – 16
16. Carella, A. M., Cascavilla, N., Greco, M. M. et al.: Treatment of „poor risk“ acute myeloid leukemia with fludarabine, cytarabine and G-CSF (Flag regimen): a single center study. *Leuk. Lymphoma*, 40, 2001, s. 295 – 303
17. Cassileth, P. A., Harrington, D. P., Appelbaum, F. et al.: Chemotherapy compared with autologous or allogeneic bone marrow transplantation in the management of acute myeloid leukemia in first remission. *N. Engl. J. Med.*, 339, 1998, s. 1649 – 1656
18. Cebon, J., Layton, J. E., Maher, D., Morstyn, G.: Endogenous haemopoietic growth factors in neutropenia and infection. *Br. J. Haematol.*, 86, 1994, s. 265 – 274
19. Crawford, J., Ozer, H., Stoller, R. et al.: Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small cell lung cancer. *N. Eng. J. Med.*, 325, 1991, s. 164 – 170
20. Creutzig, U., Reinhardt, D.: Current controversies: which patient with acute myeloid leukemia should receive a bone marrow transplantation? – a european view. *Br. J. Haematol.*, 118, 2002, s. 365 – 377
21. 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, s. 1732 – 1746
22. Dombret, H., Chastang, C., Fenaux, P. et al.: A controlled study of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in elderly patients after treatment for acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 332, 1995, s. 1678 – 1683
23. Dong, F., Liu, X., de Koning, J. P. et al.: Stimulation of Stat5 by granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is modulated by two distinct cytoplasmic regions of the G-CSF receptor. *J. Immunol.*, 161, 1998, s. 6503 – 6509
24. Dührsen, U., Villeval, J. L., Boyd, J. et al.: Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood*, 72, 1988, s. 2074 – 2081
25. Estey, E.: Growth factors in acute myeloid leukaemia. *Best Practice Res. Clin. Haematol.*, 14, 2001, s. 175 – 187
26. Estey, E., Plunkett, W., Gandhi, V. et al.: Fludarabine and arabinosyl cytosine therapy of refractory and relapsed acute myelogenous leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 9, 1993, s. 343 – 350
27. Estey, E., Thall, P., Andreeff, M. et al.: Use of granulocyte-colony stimulating factor before, during and after fludarabine plus cytarabine induction therapy of newly diagnosed acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndromes: comparison with fludarabine plus cytarabine without granulocyte colony-stimulating factor. *J. Clin. Oncol.*, 12, 1994, s. 671 – 678
28. Ferrara, F., Noto, R. di, Viola, A. et al.: Complete remission in acute myeloid leukaemia with (t8;21) following treatment with G-CSF: flow cytometric analysis of in vivo and in vitro effects on cell maturation. *Br. J. Haematol.*, 106, 1999, s. 520 – 523
29. Finley, R. S.: Colony-stimulating factors in acute leukemia: will we ever have an answer? *Ann. Pharmacother.*, 35, 2001, s. 120 – 122
30. Gandhi, V., Du, M., Kantarjian, H. M., Plunkett, W.: Effect of granulocyte macrophage colony-stimulating factor on the metabolism of arabinosyl cytosine triphosphate in blasts during therapy of patients with chronic myelogenous leukemia. *Leukemia*, 8, 1994, s. 1463 – 1468
31. Gandhi, V., Estey, E., Du, M. et al.: Modulation of the cellular metabolism of cytarabine and fludarabine by granulocyte colony-stimulating factor during therapy of acute myelogenous leukemia. *Clin. Cancer Res.*, 1, 1995, s. 169 – 178
32. Geller, R. B.: Use of cytokines in the treatment of acute myelocytic leukemia: a critical review. *Clas Papers Curr Comments*, 7, 2002, s. 222 – 234
33. Gillio, A. P., Bonilla, M. A., Potter, G. K. et al.: Effects of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor on hematopoietic reconstitution after autologous bone marrow transplantation in primates. *Transplant. Proc.*, 19, 1987, s. 153 – 156
34. Giral, S., Escudier, S., Kantarjian, H. et al.: Preliminary results of treatment with filgrastim for relapse of leukemia and myelodysplasia after allogeneic bone marrow transplantation. *N. Engl. J. Med.*, 329, 1993, s. 757 – 761
35. Godwin, J. R., Kopecky, K. J., Head, D. R. et al.: A double blind placebo controlled trial of G-CSF in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group Study. *Blood*, 91, 1998, s. 3607 – 3615
36. Hanazono, Y., Hosoi, T., Kuwaki, T. et al.: Structural analysis of the receptors for granulocyte colony-stimulating factor on neutrophils. *Exp. Hematol.*, 18, 1990, s. 1097 – 1103
37. 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, s. 2978 – 2986
38. Harousseau, J. L., Liou, W. B., Hunaull-Berger, L. M. et al.: Granulocyte colony-stimulating factor after intensive consolidation chemotherapy in acute myeloid leukemia: results of a randomized trial of the Groupe Ouest-Est Leucémies Aigues Myeloblastiques. *J. Clin. Oncol.*, 18, 2000, s. 780 – 787
39. Hermans, P., Franchioly, P., Thioux, C. et al.: Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF [filgrastim]) for treatment of neutropenia in patients with AIDS. *Inf. AIDS Conf.*, 9, 1993, s. 65a
40. Hiddeman, W., Kiehl, M., Zühlendorf, M. et al.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-3 enhance the incorporation of cytosine arabinoside into the DNA of leukemic blasts and the cytotoxic effects on clonogenic cells from patients with acute myeloid leukemia. *Semin. Oncol.*, 19, 1992, suppl. 1, s. 31 – 37
41. Horwitz, M., Benson, K. F., Person, R. E. et al.: Mutations in ELA2, encoding neutrophil elastase, define a 21-day biological clock in cyclic haematopoiesis. *Nat. Genet.*, 23, 1999, s. 433 – 436
42. Chatta, G. S., Price, T. H., Allen, R. C. et al.: Effects of in vivo recombinant methionyl human granulocyte colony-stimulating factor on the neutrophil response and peripheral blood colony-forming cells in healthy young and elderly adult volunteers. *Blood*, 84, 1994, 2923 – 2929
43. Johnston, E. M., Crawford, J.: Hematopoietic growth factors in the reduction of chemotherapeutic toxicity. *Semin. Oncol.*, 25, 1998, s. 552 – 561
44. Jowitt, S. N., Chang, J., Morgenstern, G. R. et al.: Factors which affect the CFU-GM content of the peripheral blood haematopoietic progenitor cell harvests in patients with acute myeloid leukemia. *Br. J. Haematol.*, 100, 1998, s. 688 – 694
45. Kantarjian, H. M., Talpaz, M., Hester, J. et al.: Collection of peripheral-blood diploid cells from chronic myelogenous leukemia patients early in the recovery phase from myelosuppression induced by intensive-dose chemotherapy. *Classic Papers Current Comments*, 7, 2002, s. 368 – 374
46. Kern, W., Aul, C., Maschmeyer, G. et al.: Granulocyte colony-stimulating factor shortens duration of critical neutropenia and prolongs disease-free survival after sequential high-dose cytosine arabinoside and mitoxantrone (S-HAM) salvage therapy for refractory and relapsed acute myeloid leukemia. *Ann. Hematol.*, 77, 1998, s. 115 – 122
47. Korbling, M., Flinder, T. M., Holle, R. et al.: Autologous blood stem cell (ABSC) versus purged bone marrow transplantation (pABMT) in standard risk AML: influence of source and cell composition of the autograft on hematopoietic reconstitution and disease-free survival. *Bone Marrow Transplant.*, 7, 1991, s. 343 – 349
48. Larsen, A., Davis, T., Curtis, B. et al.: Expression cloning of a human granulocyte colony-stimulating factor receptor: a structural mosaic of hematopoietin receptor, immunoglobulin, and fibronectin domains. *J. Exp. Med.*, 172, 1990, s. 1559 – 1570
49. Lieschke, G. J., Graill, D., Hodgson, G. et al.: Mice lacking granulocyte colony-stimulating factor have chronic neutropenia, granulocyte and macrophage progenitor cell deficiency, and impaired neutrophil mobilization. *Blood*, 84, 1994, s. 1737 – 1746
50. Linker, Ch. A., Ries, C. A., Damon, L. E. et al.: Autologous stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first remission. *Biol. Blood Marrow Transpl.*, 6, 2000, s. 50 – 57
51. Lord, B. I., Bronchud, M. H., Owens, S. et al.: The kinetics of human granulopoiesis following treatment with granulocyte colony-stimulating factor in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 1989, s. 9499 – 9503
52. Löwenberg, B., Touw, I. T.: Hematopoietic growth factors and their receptors in acute leukemia. *Blood*, 81, 1993, s. 281 – 292
53. Löwenberg, B., van Putten, W. L. J., Ferrant, A. et al.: Peripheral blood progenitor transplantation as an alternative to autologous marrow transplantation in the treatment of acute myeloid leukemia. *Stem Cells.*, 25, 1997, suppl. 1, s. 177 – 181
54. Lyman, G. H., Kuderer, N. M., Balducci, L.: Cost-benefit analysis of granulocyte colony-stimulating factor in the management of elderly cancer patients. *Curr. Opin. Hematol.*, 9, 2002, s. 207 – 214
55. Martin, C., Torres, A., Leon, A. et al.: Autologous peripheral blood stem cell transplantation (PBSC) mobilized with G-CSF in AML in first complete remission. Role of intensification therapy in outcome. *Bone Marrow Transplant.*, 21, 1998, s. 375 – 382

56. Martinelli, G., Testoni, N., Zuffa, E. et al.: FLANG (fludarabine + cytosine arabinoside + novantrone + G-CSF) induces partial remission in lymphoid blast transformation of Ph+ chronic myelogenous leukaemia. *Leuk. Lymphoma*, 22, 1996, s. 173 – 176
57. McKinstry, W. J., Li, C. L., Rasko, J. E. et al.: Cytokine receptor expression on hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*, 89, 1997, s. 65 – 71
58. Miyamoto, T., Nagafuji, K., Harada, M. et al.: Significance of quantitative analysis of AML1/ETO transcripts in peripheral blood stem cells from t(8;21) acute myelogenous leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 25, 1997, s. 69 – 75
59. Morstyn, G., Lieschke, G. J., Cebon, J. et al.: Early clinical trials with colony-stimulating factors. *Cancer Invest.*, 7, 1989, s. 443 – 456
60. Ogata, K., An, E., Kamikubo, K. et al.: Repeated cycles of G-CSF-combined postremission chemotherapy for acute myeloid leukemia in a first complete remission: a pilot study. *Stem Cells*, 16, 1998, s. 280 – 287
61. Ogawa, M.: Effects of hemopoietic growth factors on stem cells in vitro. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.*, 3, 1989, s. 453 – 464
62. Ohno, R., Naoe, T., Kanamaru, A. et al.: A double-blind controlled study of granulocyte colony-stimulating factor after intensive induction therapy in refractory acute myeloid leukemia. *Blood*, 83, 1994, s. 2086 – 2092
63. Ohno, R., Tomonaga, M., Kobayashi, T. et al.: Effect of granulocyte colony-stimulating factor after intensive induction chemotherapy in refractory acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 323, 1990, s. 871 – 877
64. Ozer, H., Armitage, J. O., Bennett, Ch. L. et al.: 2000 update of recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based, clinical practice guidelines. *J. Clin. Oncol.*, 18, 2000, s. 3558 – 3585
65. Pavlovsky, S., Fernandez, I., Milone, G. et al.: Autologous peripheral blood progenitor cell transplantation mobilized with high-dose cytarabine in acute myeloid leukemia in first complete remission. *Ann. Oncol.*, 9, 1998, s. 151 – 157
66. Robak, T., Wrzesień-Kuś, A., Lech-Marañá, E. et al.: Combination regimen of cladribine (2-chlordeoxyadenosine), cytarabine and G-CSF (CLAG) as induction therapy for patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 39, 2000, s. 121 – 129
67. Rosen, R. B., Kang, S. J.: Congenital agranulocytosis terminating in acute myelomonocytic leukemia. *J. Pediatr.*, 94, 1979, s. 406 – 408
68. Rowe, J. M., Andersen, J., Mazza, J. J. et al.: A randomized placebo-controlled study of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adult patients (>55 – 70 years of age) with acute myelogenous leukemia (AML): a study of the Eastern Cooperative Oncology Group (E1490). *Blood*, 86, 1995, s. 457 – 462
69. Rubia, J. de la, Regadera, A. I., Martín, G. et al.: FLAG-IDA regimen (fludarabine, cytarabine, idarubicin and G-CSF) in the treatment of patients with high-risk myeloid malignancies. *Leuk. Res.*, 26, 2002, s. 725 – 730
70. Sheridan, W., Begley, G., Juttner, C. et al.: Effect of different doses and schedules of r-metHuG-CSF (filgrastim) on mononuclear cell and PBPC collections and haematopoietic recovery after high dose chemotherapy (HDC) and infusion of r-metHuG-CSF mobilized peripheral blood progenitor cells (PBPC) without bone marrow. *Blood*, 80, 1992, suppl. 1, s. 331a
71. Schiffer, C. A.: Hematopoietic growth factors as adjuncts to the treatment of acute myeloid leukemia. *Blood*, 88, 1996, s. 3675 – 3685
72. Schiller, G., Lee, M., Paquette, R. et al.: Transplantation of autologous peripheral blood progenitor cells procured after high-dose cytarabine-based consolidation chemotherapy for adults with secondary acute myelogenous leukemia in first remission. *Leuk. Lymphoma*, 33, 1999, s. 475 – 484
73. Schwinger, W., Mache, C., Urban, C. et al.: Single dose of filgrastim (rhG-CSF) increases the number of hemopoietic progenitors in the peripheral blood of adult volunteers. *Bone Marrow Transplant.*, 11, 1993, s. 489 – 492
74. Souza, L. M., Boone, T. C., Gabilove, J. et al.: Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science*, 232, 1986, s. 61 – 65
75. Spiekermann, K., Roesler, J., Emmendoerffer, A. et al.: Functional features of neutrophils induced by G-CSF and GM-CSF treatment: differential effects and clinical implications. *Leukemia*, 11, 1997, s. 466 – 478
76. Starr, R., Hilton, D. J.: Negative regulations of the JAK/STAT pathways. *Bioessays*, 21, 1999, s. 47 – 52
77. Stone, R. M., Berg, D. T., George, S. L. et al.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after initial chemotherapy for elderly patients with primary acute myelogenous leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 332, 1995, s. 1671 – 1677
78. Takamatsu, Y., Miyamoto, T., Iwasaky, H. et al.: Remission induction by granulocyte colony-stimulating factor in hypoplastic acute myelogenous leukemia complicated by infection: a case report and review of the literature. *Acta Haematol.*, 99, 1998, s. 224 – 230
79. Terpstra, W., Löwenberg, B.: Application of myeloid growth factors in the treatment of acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 11, 1997, s. 315 – 327
80. Ulrich, T. R., del Castillo, J., Souza, L.: Kinetics and mechanisms of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor-induced neutrophilia. *Am. J. Pathol.*, 133, 1988, s. 630 – 638
81. Usuki, K., Iki, S., Endo, M. et al.: Granulocyte colony-stimulating factor in acute myeloid leukemia. *Stem Cells*, 13, 1995, s. 647 – 654
82. Usuki, K., Urabe, A., Masaoka, T. et al.: Efficacy of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of acute myelogenous leukaemia: a multicentre randomized study. *Br. J. Haematol.*, 116, 2002, s. 103 – 112
83. Visani, G., Lemoli, G. M., Tosi, P. et al.: Use of peripheral blood stem cells for autologous transplantation in acute myeloid leukemia allows faster engraftment and equivalent disease-free survival compared with bone marrow. *Bone Marrow Transplant.*, 24, 1999, s. 467 – 472
84. Ward, A. C., van Aesch, Y. M., Gits, J. et al.: Novel point mutation in the extracellular domain of the granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) receptor in a case of severe congenital neutropenia hyporesponsive to G-CSF treatment. *J. Exp. Med.*, 190, 1999, s. 497 – 507
85. Weisbart, R. H., Golde, D. W.: Physiology of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors in host defense. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 3, 1989, s. 401 – 409
86. Welte, K., Gabilove, J., Bronchud, M. et al.: Filgrastim (r-metHuG-CSF): the first 10 years. *Blood*, 88, 1996, s. 1907 – 1929
87. Wheatley, K.: Current controversies: which patient with acute myeloid leukemia should receive a bone marrow transplantation? – a statistician's view. *Br. J. Haematol.*, 118, 2002, s. 351 – 356
88. Witz, F., Harousseau, J. L., Cahn, J. Y. et al.: GM-CSF during and after remission induction treatment for elderly patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood*, 84, 1994, suppl., s. 231a
89. Witte, T. de, Keating, S., Suci, S. et al.: A randomized comparison of the value of autologous BMT versus autologous PSCT for patients with AML in first CR in the AML 10 trial of the EORTC LCG and GIMEMA. *Blood*, 98, 2001, suppl., s. 859a
90. Young, J. D., Cheung, E. N., Tanaka, H. et al.: Bioavailability of subcutaneously administered non-glycosylated recombinant hG-CSF (filgrastim) in normal and neutropenic rats and humans. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 13, 1994, s. 162 – 168
91. Zittoun, R. A., Mandelli, F., de Witte, T. et al.: Recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) during induction treatment of acute myelogenous leukemia (AML). A randomized trial from EORTC-GIMEMA leukemia cooperative groups. *Blood*, 84, 1994, suppl., s. 231a
92. Zittoun, R. A., Mandelli, F., Willemze, R. et al.: Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. *N. Engl. J. Med.*, 332, 1995, s. 217 – 223
93. Zittoun, R. A., Suci, 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, s. 2150 – 2159

KONFORMNÍ PLÁNOVÁNÍ INTERSTICIÁLNÍ BRACHYTERAPIE S VYUŽITÍM 3D PLÁNOVACÍ KONZOLY

THREE DIMENSIONAL CONFORMAL PLANNING OF INTERSTITIAL BRACHYTHERAPY

SOUMAROVÁ R.¹, PERKOVÁ H.¹, BARTLOVÁ R.², TICHÁ H.², ŠENEKLOVÁ Z.¹

¹ ODDĚLENÍ RADIAČNÍ ONKOLOGIE

² ODDĚLENÍ RADIOLOGICKÉ FYZIKY

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, ŽLUTÝ KOPEC 7, 656 53 BRNO

Souhrn: Cílem konformního plánování intersticiální brachyterapie je možné zvýšení dávky v nádorovém ložisku bez většího ozáření okolních zdravých tkání a struktur. Konečným důsledkem by měla být lepší lokální kontrola onemocnění a snížení akutních a pozdních nežádoucích účinků. V zevní radioterapii je konformní plánování dnes téměř standardem, v brachyterapii se jedná o rozvíjející se metodu.

Klíčová slova: brachyterapie, intersticiální aplikace, poresekční brachyterapie, optimalizace, konformita, třírozměrné plánování

Summary: The aim of conformal interstitial brachytherapy planning is a dose escalation in target volume with minimal irradiation of surrounding normal tissues. It improves local control of disease and lowers acute and late toxicity. Conformal planning has become a standard in external beam radiotherapy, but has been developing in brachytherapy.

Key words: brachytherapy, interstitial implants, optimization, conformity, three-dimensional treatment planning

Cílem **konformní radioterapie (CRT)** (conform = přizpůsobit) je přizpůsobit tvar ozařovaného objemu nepravidelnému tvaru nádorového ložiska (cílového objemu). V ideálním případě lze aplikovat do nádorového ložiska vysokou dávku záření, jelikož okolní zdravé tkáně jsou mimo ozařovaný objem. Eskalace dávky v cílovém objemu umožní zlepšení lokální kontroly onemocnění až o 20%. U některých nádorů může zvýšení lokální kontroly vést k prodloužení celkového přežití pacienta.

Příčinou vzniku lokální recidivy po předchozím ozáření může být:

- Nepřesná definice a lokalizace cílového objemu
- Nepřesné nebo nedostatečné dodání dávky záření

Dokonalá detekce nádorového ložiska zobrazovacími diagnostickými metodami (CT, MRI, PET) s kvalitní prostorovou rekonstrukcí obrazu a propojení diagnostických a plánovacích přístrojů on-line nám dovolí třírozměrné zobrazení nádorového ložiska, okolních zdravých orgánů, i námi zakreslených cílových objemů. Plánování ozařování s pomocí CT přístroje je základem třírozměrného (tzv. 3D) plánování. 3D-plánování je předpokladem pro konformní radioterapii. Ideální konformní technika má tzv. index konformity $IC = 1$, kdy cílový objem je prakticky totožný s objemem ozářeným. Zlepšení lokální kontroly onemocnění aplikací vyšší dávky záření do cílového objemu může být také dosaženo použitím **brachyterapie (BRT)**. Slovo pochází částečně z řečtiny, kdy brachys znamená krátký a mluvíme tak o metodě léčby zářením, kdy zdroj záření má malou (krátkou) vzdálenost od nádoru resp. jeho lůžka. Zdroj záření může být umístěn:

- ve speciálních aplikátorech na povrchu nádoru - technika muláží (např. kožní nádory)
- implantován do nádoru resp. nádorového lůžka - intersticiální BRT (např. sarkomy, nádory prsu)
- v tělních dutinách - intrakavitární BRT (např. gynekologické malignity)
- v tubicových orgánech - intraluminární BRT (např. nádory jícnu, bronchů, žlučových cest).

Tabulka 1. Metody intraoperační radioterapie.

zevní radioterapie	ortovoltážní fotony (RTG přístroje)
	vysokoenergetické elektrony (lineární urychlovače)
permanentní intraoperační implantace	radioizotopy ^{125}I , ^{103}Pd
dočasná intraoperační implantace plastických aplikátorů (poresekční brachyterapie)	HDR afterloading (vysoký dávkový příkon) ^{192}Ir
	LDR afterloading (nízký dávkový příkon) ^{137}Cs
experimentální přístupy	konkomitantní hypertermie
	využití radiosenzibilizátorů
	fotodynamická terapie

Tabulka 2. Výhody poresekční intersticiální brachyterapie.

umístění aplikátorů během operace – přímá kontrola lokalizace
spojení resekčního výkonu s intersticiální aplikací (není nutný další invazivní výkon spojený s opakovanou anestézií)
plánování radioterapie po resekčním výkonu beze spěchu
zahájení radioterapie po obdržení definitivní histologie
zahájení radioterapie bez ohledu na zhojení operační rány
možnost frakcionovaného ozáření
maximální snížení radiační zátěže zdravotnického personálu umožněné technikou afterloading

Tabulka 3. Principy třírozměrného plánování brachyterapie.

Zobrazení cílového objemu a dalších anatomických struktur
Optimalizace prostorové dávkové distribuce
Zobrazení a zhodnocení dávkové distribuce

Brachyterapie může dosáhnout vyššího indexu konformity než zevní radioterapie.

V poslední době se dostává do popředí zájmu intraoperační radioterapie (IORT) a její specifická forma tzv. **poresekční brachyterapie** (tabulka 1). Tyto metody umožňují aplikaci vyšších dávek záření během operace nebo po skončení operačního výkonu s minimálním ozářením okolních zdravých tkání. Každá z metod IORT má svoje výhody a nevýhody. K všeobecným výhodám patří jasná lokalizace lůžka tumoru přímou vizualizací, možnost lepší ochrany radiosenzitivních tkání a struktur (nižší akutní a pozdní toxicita), možnost kombinace se zevní radioterapií, konkomitantní chemoterapií (CHT), hypertermií atd. Jedná se též o téměř jedinou možnost léčby relapsu onemocnění v již ozářeném terénu. V konečném důsledku tento přístup umožňuje provedení méně mutilujících a více orgán zachovávajících výkonů při stejné lokální kontrole onemocnění. U lokálně pokročilých nádorů s omezenou možností totální chirurgické resekce zlepšit lokální kontrolu.

Mezi velmi podstatné výhody intraoperační implantace s použitím afterloadingových katetrů nebo jehel (poresekční brachyterapie) patří zejména přesné umístění aplikátorů pod vizuální kontrolou během operace. Na rozdíl od intraoperační radioterapie elektronovým svazkem je možné provedení frakcionovaného ozáření a zahájení radioterapie až po obdržení definitivní histologie. V neposlední řadě díky afterloadingovému systému je snížena radiační zátěž ošetřujícího personálu na minimum. K dalším výhodám techniky afterloading patří plánování dávkové distribuce po implantaci bez časové tísně (tabulka 2).

Definice cílového objemu u brachyterapie byla tradičně založena na ortogonálních (dvou na sebe kolmých) RTG snímcích, které poskytovaly představu o umístění aplikátoru s rtg kontrastními maketami, ale neumožňovaly prostorové (3D) zobrazení kritických orgánů a struktur. Plánování brachyterapie tak výrazně „pokulhávalo“ za plánováním zevní radioterapie, které již bylo založeno na prostorové rekonstrukci na podkladě CT řezů (2). Konformní plánovací systémy pro brachyterapii vyvinuté v posledních letech umožňují 3D rekonstrukci. Jejich velkou výhodou je přesné plánování optimální dávkové distribuce v cílovém objemu a možnost prostorového zobrazení kritických orgánů (tabulka 3).

Konformní intersticiální brachyterapie je s výhodou využívána u karcinomu prsu a u sarkomů měkkých tkání. K dalším indikacím patří recidivující nádory v oblasti hlavy a krku, nádory CNS, nádory pankreatu.

U první skupiny (nádorů prsu a sarkomů měkkých tkání) se jedná zejména o poresekční adjuvantní brachyterapii, u ostatních nádorových lokalit spíše o výkony paliativní v již ozářeném terénu.

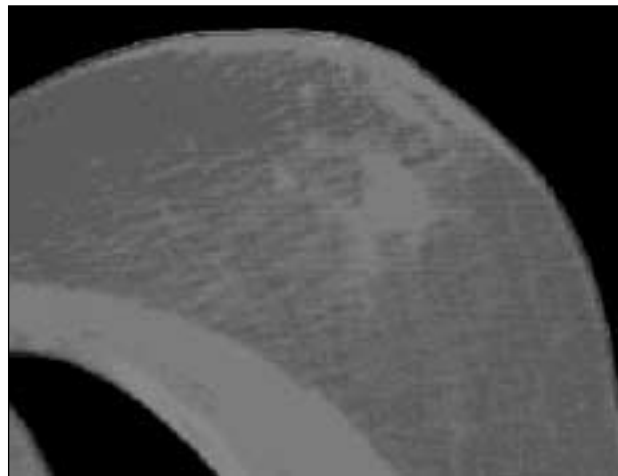
Poresekční intersticiální brachyterapie

Po totální exstirpaci tumoru jsou peroperačně umístěny do lůžka nádoru, označeného klipů, plastické trubičky pro intersticiální brachyterapii (obr. 1). Počet a rozmístění vodičů závisí na velikosti ozařovaného ložiska. Katetry jsou vzdáleny od sebe 1,0 až 1,5 cm, vzdálenost rovin v případě dvourovinné punkturny je též 1,0 až 1,5 cm. Zavedení katetrů je provedeno, tzv. „free hand“ technikou. S časovým odstupem cca 3 - 5 dnů po výkonu je provedeno plánovací CT vyšetření. Vzdálenost jednotlivých řezů je 3 - 5 mm. Tyto skeny jsou on-line přeneseny do plánovacího systému. Systém BrachyVision umožňuje konturování a prostorové zobrazení všech důležitých tkání a struktur. V každém řezu jsou též zakresleny aplikátory. Čím je vzdálenost mezi jednotlivými CT skeny menší, tím více prostorová rekonstrukce odpovídá realitě. Cílový objem (lůžko nádoru s bezpečnostním lemem) je v každém řezu zakreslen na podkladě předoperačního CT vyšetření, umístění kontrastních klipů a aplikátorů (obr. 2, 3). Plánovací systém umožňuje trojrozměrné znázornění tvaru cílového objemu a umístění vodičů (obr. 4, 5). V plánovacím modulu je poté provedena optimalizace dávkové distribuce a stanovení „dwell

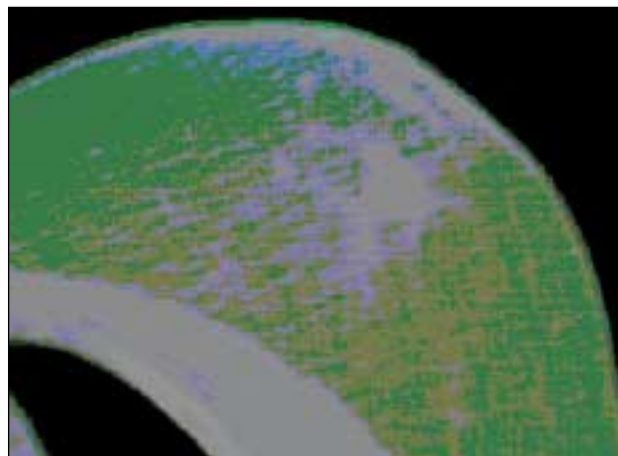
Obr. 1: Peroperační umístění vodičů pro brachyterapii.



Obr. 2: Předoperační CT vyšetření prsu s nádorovým ložiskem.

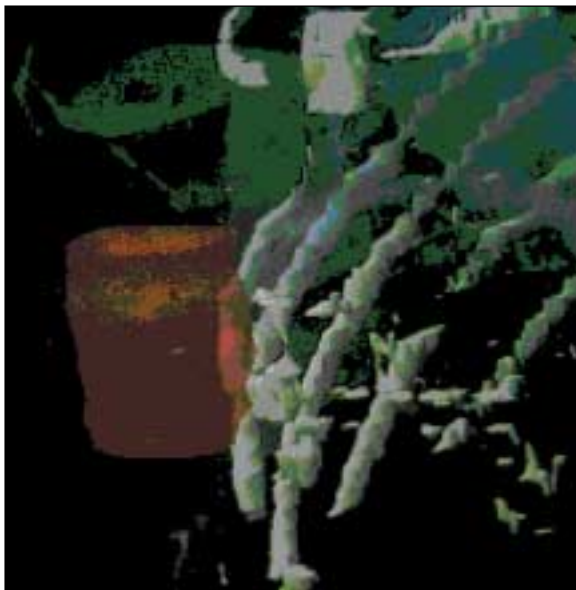


Obr. 3: Zakreslení cílového objemu v CT řezu.

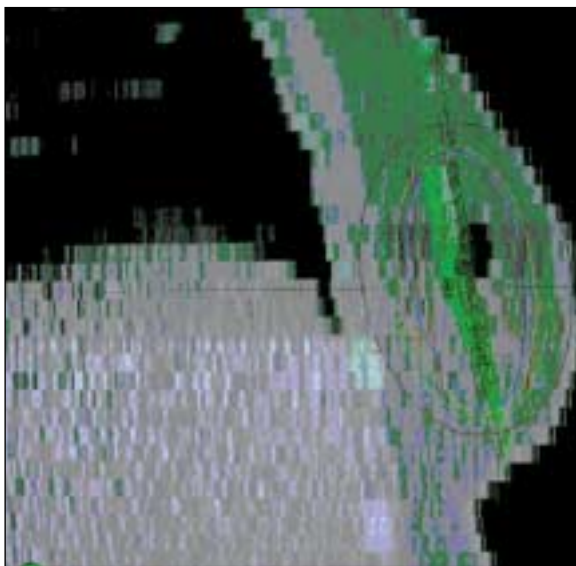


time“ – ozařovacích časů v každé poloze zdroje (obr. 6, 7). Možnost úpravy časů v každé pozici zdroje dává větší klinickou volnost v úpravě dávkové distribuce v cílovém objemu. Použitím tzv. lokálního posunu referenční izodózy můžeme přizpůsobovat tvar ozařovaného objemu objemu cílovému (konformní „inverzní“ plánování). K ozáření je používán high dose rate (HDR) afterloading VariSource firmy Varian. Po skončení brachyterapie, zpravidla do 10 dnů od resekčního výkonu, jsou plastické trubičky zcela bezbolestně odstraněny.

Obr. 4: Prostorová rekonstrukce cílového objemu (červeně) s klipy.

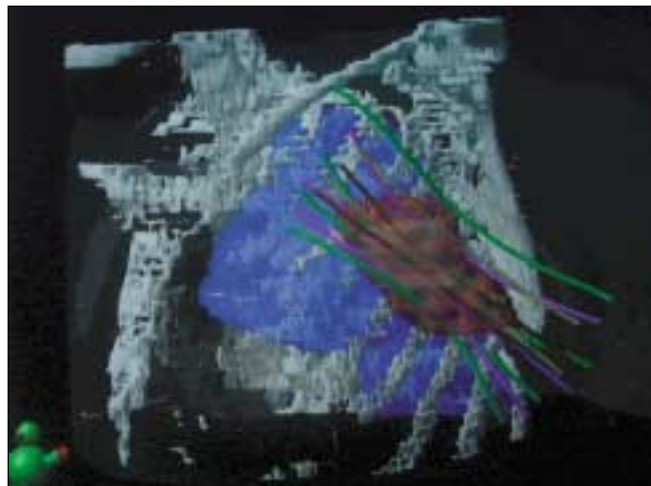


Obr. 5: Prostorové znázornění cílového objemu (červeně) a vodičů pro brachyterapii.

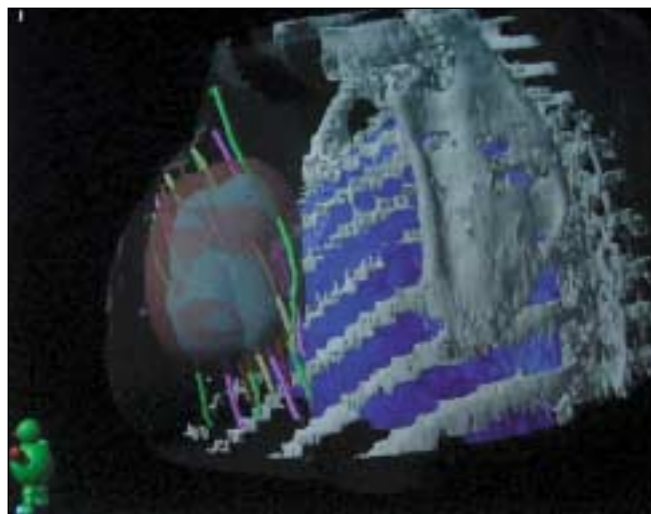


Po desetiletí používaný Pařížský dozimetrický systém pro různé nádorové lokality byl vyvinut původně pro LDR after-loadingové přístroje a pro HDR aplikace v případě časové uniformity („dwell time“) v každé pozici zdroje (3). Možnost trojrozměrného zobrazení dávkové distribuce poukazuje na limitaci Pařížského systému. Doporučení pro rozmístění aplikátorů platí stále (vzdálenost mezi katetry, mezi jednotlivými rovinami), ale rozložení dávky musí být vztaženo k nádorovému lůžku a ne ke geometrii implantace (4)! Tím je značně zlepšena klinická dostupnost aplikace. Práce, srovnávající provedení intersticiální implantace dle Pařížského dozimetrického systému a konformního dozimetrického systému (používají rozdílné optimalizační

Obr. 6: Dávková distribuce v sagitálním řezu.



Obr. 7: Prostorové rozložení dávkové distribuce se zobrazením 100% (světle modře) a 50% (hnědě) izodózy.



algoritmy: dávka v tzv. referenčním bodě x geometrická optimalizace), ukázala zlepšení dávkové distribuce, indexu konformity a podstatnou redukcí objemu ozářených zdravých tkání a struktur (5).

Závěr

S použitím 3D plánovacího systému pro brachyterapii je možné dosáhnout konformního ozáření cílového objemu s minimálním ozářením okolních zdravých tkání a struktur. Hlavním přínosem této metody je možnost eskalace dávky v nádorovém ložisku bez zvýšení rizika vzniku akutních a pozdních změn po ozáření. Díky třírozměrnému zobrazení lze lépe plánovat dávkovou distribuci. Nutným předpokladem je ovšem přesné umístění vodičů pro brachyterapii a přesné stanovení cílového objemu. Stále ovšem zůstává otázkou, zda tyto metody prakticky zlepšují léčebné výsledky. Teoretické předpoklady jsou jasné, praktické ověření však bude nutné.

Práce je podpořena grantových projektem MZ IGA NC7108-3/2002

Literatura

1. Kovács, G., Hebbinghaus, D., Dennert, P., et al.: Conformal treatment planning for interstitial brachytherapy. *Strahlenther. Onkol.* 172: 469-474, 1996
2. Grisby, P., Georgiou, A., Williamson, J., et al.: Anatomic variation of gynecologic brachytherapy prescription points. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 27: 725-729, 1993
3. van der Laarse, R.: The stepping source dosimetry system as an extension of the Paris system. In: Mould, R. F., Battermann, J. J., Martinez, A. A.,

Speiser, BL., editors. *Brachytherapy from radium to optimization*, Veenendaal: Nucletron International B.V., 319-330, 1994.

4. Hennequin, C., Mazon, J. J., Chotin, G.: How to use the Paris system in the year 2001? *Radiother Oncol* 58: 5-6, 2001
5. Major, T., Polgár, C., Fodor, J., et al.: Conformality and homogeneity of dose distributions in interstitial implants at idealized target volumes: a comparison between the Paris and dose-point optimized systems. *Radiother Oncol* 62: 103-111, 2002

VÝZNAM ALTERACÍ ADHEZIVNÍCH MOLEKUL CD44 V MALIGNÍM CHOVÁNÍ NÁDORŮ

SIGNIFICANCE OF CD44 ADHESION MOLECULES ALTERATIONS IN THE MALIGNANT BEHAVIOUR OF TUMOURS

KUNCOVÁ J., MANDYS V., HERÁČEK J., LUKEŠ M., ZACHOVAL R., URBAN M.

UROLOGICKÁ KLINIKA A ÚSTAV PATOLOGIE 3. LF UK A FNKV PRAHA
ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ MEDICÍNY AV ČR PRAHA

Souhrn: V progresi maligních nádorů hrají významnou úlohu změny mezibuněčných interakcí, jež jsou mimo jiné zajišťovány adhezivními molekulami. Proteiny CD44 skupiny jsou buněčné adhezivní molekuly, ubikviterně exprimované na buněčných membránách mnoha tkání organismu. Standardní forma i variantní izoformy CD44 jsou kódovány jedním genem a při jejich vzniku se zásadním způsobem uplatňuje mechanismus variabilního sestřihu. CD44 proteiny zajišťují mezibuněčnou adhezi v embryogenezi, hrají důležitou roli v procesu myelopoese, lymfopoese a angiogeneze, v aktivaci a „homingu“ lymfocytů a účastní se např. i degradace hyaluronátu. V maligních nádorech není význam alterací proteinů skupiny CD44 zcela přesně objasněn, ale jejich exprese a zastoupení variantních izoform v maligních tkáních jsou nepochybně odlišné od tkání nenádorových. V různých typech epitelových nádorů byl kromě up- a down-regulace popsán i změněný vzorec exprese variantních izoform. Předkládaná práce shrnuje současné poznatky o expresi CD44 molekul v nádorové tkáni a uvádí přehled exprese CD44 v karcinomu močového měchýře, ovaria, mléčné žlázy, žaludku, v renálním a v hepatocelulárním karcinomu, v dlaždicobuněčném karcinomu hlavy a krku a v nemalobuněčných karcinomech plic.

Klíčová slova: CD44, adhezivní molekuly, epitelové nádory, progresse nádorů, imunohistochemie.

Summary: Changes of intracellular interactions which are also mediated by the cell adhesion molecules play an important role in the progression of malignant tumours. Proteins of the CD44 family are cell adhesion molecules, which are ubiquitously expressed on cell membranes of a wide range of tissues. The standard form and its variant isoforms are encoded by a single gene. The mechanism of alternative splicing is crucial for formation of different isoforms. CD44 proteins are responsible for maintenance of the cell adhesion during embryogenesis, they play an important role at the process of myelopoiesis, lymphopoiesis and angiogenesis, in lymphocyte activation and homing and also in hyaluronate degradation. Although the expression and occurrence of variant CD44 isoforms in malignant tissues differs obviously from their expression in non-malignant tissues, the significance of alterations of these proteins in malignant tumours has not been clearly established yet. Apart from the up- and down-regulation, changing patterns of variant isoforms expression has been also described in the diverse types of malignant epithelial tumours. This article summarizes recent findings on the expression of CD44 molecules in malignant tissues and reviews CD44 expression in carcinomas of urinary bladder, ovary, mammary gland and stomach, in renal and hepatocellular carcinoma, squamous carcinoma of head and neck and in non-small cell lung carcinomas.

Key words: CD44, adhesion molecules, epithelial tumours, tumour progression, immunochemistry

Úvod

V průběhu posledních desetiletí byly dosaženy významné pokroky v poznání molekulárních mechanismů nádorové transformace buněk. V nádorech byly charakterizovány alterace řady genů, účastnících se regulací základních buněčných funkcí, jako jsou dělení, produkce regulačních a strukturálních proteinů a regulovaná buněčná smrt. Podle teorie vícestupňového průběhu kancerogeneze je nahromaděním poruch těchto genů základní podmínkou pro vznik primárního nádoru. Kromě lokálního působení primárních nádorů má pro osud nemocných podstatný význam i progresse nádoru, charakterizovaná jeho prorůstáním do okolních tkání a zakládáním sekundárních ložisek - metastáz. Progrese nádorů, tj. infiltrativní růst a metastazování, jsou hlavními definujícími znaky nádorů maligních. Ve srovnání se šíří poznatků o mechanismech nádorové transformace buňky vedoucí ke vzniku primárních nádorů jsou informace o molekulárních alteracích, které jsou podkladem progresse nádorů, dosud značně omezené. Z tohoto důvodu se značná část onkologického výzkumu soustřeďuje právě na tuto oblast. V současné době je zřejmé, že v progresi nádorů hrají - kromě vlastností nádorových buněk - významnou roli poruchy buněčných interakcí a působení nádorových buněk na extracelulární stromální struktury. Tyto procesy jsou zprostředkovány zejména působením proteáz produkovaných

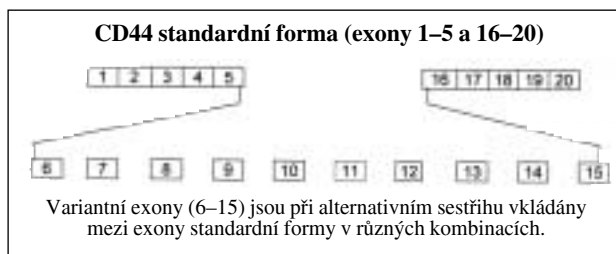
nádorovými buňkami (1) a kvantitativními a kvalitativními změnami adhezivních molekul, lokalizovaných na povrchu buněk (2).

Skupina CD44 molekul

Adhezivní molekuly patřící do skupiny CD44 jsou struktury glykoproteinové povahy, exprimované ubikviterně na povrchu buněk. Podílejí se na zajištění adheze mezi buňkami a extracelulární matrix i mezi buňkami navzájem. Poprvé byly tyto glykoproteiny identifikovány na lymfocytech jako molekuly funkčně významné v procesu buněčné adheze a „homingu“ lymfocytů. S postupujícím výzkumem CD44 molekul byla popsána exprese různých forem CD44 v jednotlivých typech tkání a bylo rozpoznáno mnoho jejich dalších forem a funkcí, významných mimo jiné i v procesu maligního bujení (3-5).

Struktura

Skupinu CD44 tvoří jednak standardní izoforma molekuly - CD44s, jednak variabilní izoformy, jež jsou povšechně označovány CD44v. CD44 protein je kódován genem obsahujícím 2 skupiny exonů, lokalizovaným na 11. chromozomu v lokusu 11p13 (6). Skupina tzv. standardních exonů zahrnuje exony 1-5 a 16-20, které podléhají společnému sestřihu, čímž vzniká transkript, který následně kóduje standardní izoformu CD44s.



Skupina variabilních exonů je složena z exonů 6–15, označovaných také jako v1–v10 (7–9). Vznik variabilních izoforem je zprostředkován transkripcí, sestřihem a následnou inzercí těchto variabilních exonů mezi standardní exony (Obr. 1). Sestřih variabilních exonů do výsledné mRNA je také označován jako alternativní sestřih. Podle typu zařazeného exonu jsou variabilní izoformy značeny číslem, např. CD44v3, CD44v6, atd. Mechanismus kontroly alternativního sestřihu není dosud znám, uvazuje se například o regulaci CD44 promotoru onkogenem Ras (10,11). Pozoruhodné je, že jednotlivé buňky pravděpodobně vykazují jistou schopnost změnit spektrum exprese CD44 podle svých potřeb.

Nejrozšířenější formou CD44 glykoproteinů je standardní izoforma, CD44s, která je tvořena 363 aminokyselinami. Molekulová hmotnost jejího proteinového jádra (protein core) je 37 kDa. V důsledku vazby glykosaminoglykanových řetězců (např. chondroitinsulfátu či heparansulfátu) na toto jádro je výsledná molekulová hmotnost CD44s přibližně 80 kDa (12). Základní struktura všech molekul CD44 je shodná. Je tvořena třemi doménami - cytoplazmatickou, transmembránovou a extracelulární. Cytoplazmatická doména tvoří tzv. C-terminální konec molekuly. Je vysoce konzervativní a je složena ze 72 aminokyselin. Druhá, transmembránová, doména sestává z 21 aminokyselin, u savčích druhů je 100% konzervativní. Největší část molekuly CD44 představuje extracelulární doména (tzv. N - terminální konec) tvořená 270 aminokyselinami s konzervativními i variabilními oblastmi. C terminální konec je kódován exonem 19 či 20, transmembránový segment exonem 18. Variabilní část extracelulární domény je dle typu CD44v kódována variantními exony 6–15 (13). Změny struktury i funkce molekul CD44 jsou mimo jiné významně ovlivňovány širokým spektrem posttranslačních úprav, především N- a O- glykosylací, která modifikuje vazebné charakteristiky různých izoforem CD44 (13). Různé izoformy CD44 vykazují rozdílné vzorce glykosylace. Skutečnost, že některé izoformy se vyskytují v glykosylované i neglykosylované podobě nasvědčuje tomu, že část funkcí CD44 nezávisí na vazbě postranních glykosaminoglykanových řetězců. V důsledku glykosylace může hmotnost největších molekul CD44 přesahovat 200 kDa. Isoformy o střední velikosti (110–160 kDa) představují molekuly exprimované především na epitelálních buňkách (14).

Expres v normálních tkáních

CD44s glykoprotein byl původně izolován na hemopoetických buňkách. S postupujícím věkem bylo však zjištěno, že se nachází na většině buněk různých tkání (15,16). Je exprimován např. na buňkách CNS, epidermis, v játrech, v plicích, pankreatu a na buňkách mnoha dalších tkání (12,13,17–19). Výskyt variabilních izoforem je mnohem méně rozšířený, než zastoupení CD44s (13,20). Například na epitelových buňkách, stejně jako na buňkách hemopoetického systému, jsou variabilní izoformy exprimovány podle vzorce specifického pro danou tkáň. Je tedy pravděpodobné, že proces alternativního sestřihu je velmi striktně regulován a že právě variabilní izoformy se specifickými úseky a s omezenou distribucí mají rozdílné, přídatné funkce ve vztahu k CD44s (12,21). Různé formy CD44v jsou nacházeny např. na keratinocytech, urotelu, buň-

kách žaludeční sliznice, na aktivovaných lymfocytech a makrofázích a na buňkách dalších tkání (22,23). CD44 je exprimován i v embryonálních tkáních, kde se účastní procesu organogeneze (3,20,24).

Ligandy a funkce

Nejvýznamnější ligandou molekul CD44 je kyselina hyaluronová (hyaluronát, HA), glykosaminoglykan běžně zastoupený v extracelulární matrix (25). Všechny molekuly CD44 obsahují nejméně 3 vazebná místa pro hyaluronát. Jedním z nich je tzv. CLP doména (cartilage link protein), kódovaná exonem 2, (26) další 2 domény se nalézají v oblasti kódované exonem 5 (27). HA vazebné domény jsou konstantními a vysoce konzervativními částmi extracelulární domény všech molekul CD44. Schopnost buněk vázat hyaluronát prostřednictvím CD44 je podmíněna existencí dalších regulačních mechanismů. To vysvětluje okolnost, že ne všechny buňky exprimující CD44 váží HA (13). Dalšími minoritními ligandami CD 44 jsou osteopontin, serglycin, kolagen, fibronektin a laminin (28–31). Osteopontin je cytokin uvolňovaný různými typy buněk, hrající roli v procesu buněčné chemotaxe. Kolagen, fibronektin a laminin se váží na molekulu CD44 nepřímo, prostřednictvím polysacharidu chondroitinu, navázaného na molekulu CD44 v oblasti exonu 5 (30,32). Rovněž serglycin, patřící do skupiny proteoglykanů pojmenované pro repetitivní Ser-Gly dipeptidové sekvence se váže na molekulu CD44 nepřímo (33).

Vazba HA-CD44 je ovlivněna úrovní glykosylace molekuly CD44 a pravděpodobně i mnoha dalšími mechanismy, které, stejně jako regulace glykosylace, nejsou dosud přesně známy (12,13,20). Je však jisté, že tyto mechanismy významně modifikují i další funkce CD44, uplatňující se v patologických procesech v organismu. Schopnost různých variantních izoforem CD44 vázat HA je různá (34). Zdá se, že ačkoliv CD44v obsahují vazebnou doménu pro hyaluronát, je úroveň vazby HA variantními izoformami nižší, právě díky přítomnosti variantních oblastí (35). Inhibiční efekt variantních úseků molekuly je přídatným jevem, souvisejícím patrně s jejich glykosylací. Vazebné studie ukazují, že ty molekuly CD44v, které nebyly O-glykosylovány, mohou vázat HA stejně efektivně jako CD44s (35). Inhibiční efekt na vazbu HA vykazuje i N-glykosylace. Inhibice N-glykosylace usnadňuje vazbu HA (36). Zůstava glykosylace může díky mutaci na specifických luscích vést ke konverzi ve formu potenciálně vazebně aktivní. Ve vztahu k vazbě na HA jsou tedy molekuly CD44 exprimovány na buňkách v aktivním, inaktivním či indukovatelném stavu. Rozdíly ve vazebném stavu CD44 k HA jsou specifické pro konkrétní buňky a souvisí s typem posttranslačních modifikací molekuly (37). V některých typech buněk může být schopnost původně neaktivní molekuly CD44 vázat HA ovlivněna i interakcí se specifickými protilátkami. Tohoto „aktivního stavu“ může být rovněž dosaženo inkubací buněk se stimulačními činidly, např. forbolestery či interleukiny (38). Pro vysokou vazebnou afinitu CD44 k hyaluronátu je nutná i intaktní cytoplazmatická doména. Stav této domény ovlivňuje vazbu extracelulárního HA pravděpodobně cestou membránových přesunů, dimerizace či shlukování molekul CD44 (13). Cestou detailní mutační analýzy zásaditých aminokyselinových skupin v cytoplazmatické doméně byla definována specifická argininová a lizinová rezidua, pomocí kterých látky stimulující protein kinázu C (PKC) rozdílným způsobem regulovaly vazbu HA (39). Hlavní funkcí cytoplazmatické domény je však přenos signálů z extracelulárního prostředí (40). Tato doména se přímo váže na množství intracelulárních proteinů. Byla v ní identifikována vazebná doména pro ankyrin (41,42), jehož vazba je pravděpodobně usnadňována navázáním palmitoylanu na rezidua aminokyselin obsažená v molekule CD44 (43). Je pravděpodobné, že existuje i souvislost mezi schopností vázat ankyrin a vazbou HA (42,44). Dalšími intracelulárními proteiny, které mají schopnost vaz-

by na cytoplazmatickou doménu CD44, jsou tzv. ERM proteiny (ezrin, radixin, moesin) (27), které se rovněž účastní na přenosu signálů z okolí do buňky. Ankyrin a ERM proteiny propojují složky buněčné membrány se sítí intracelulárních aktinových filament, čímž zprostředkují i kontakt CD44 s cytoskeletální soustavou buňky a tím ovlivňují buněčnou motilitu, migraci a mimo jiné i membránovou lokalizaci CD44 (45). Dosud získané poznatky svědčí tedy pro to, že CD44 glykoproteiny zprostředkují důležité dynamické intra- i extracelulární interakce.

Díky schopnosti vázat významné složky extracelulární matrix se molekuly CD44 podílejí na udržování trojrozměrné struktury tkání, na migraci i agregaci buněk a na vazebných interakcích mezi lymfocyty a endoteliálními buňkami (12,13,20). V proliferujících epitelových buňkách i v dalších buňkách zúčastněných v regeneraci tkání a v reparačních procesech dochází k up-regulaci CD44 i HA, čímž se vytvářejí struktury připomínající lešení, umožňující následnou vazbu dalších buněk během tkáňové expanze (46,47). K akumulaci HA dochází při angiogenezi, hojení ran i během migrace embryonálních buněk (47-49). Vzájemná vazba HA a CD44 může mimo jiné indukovat i změnu genové exprese. Tím se CD44 uplatňuje v regulaci sekrece cytokinů, v aktivaci lymfocytů a buněk monocyto-makrofágového systému a při angiogenezi. Navíc v makrofázích bylo identifikováno množství „zánětlivých genů“, jejichž exprese může být indukována HA oligomery (50). Semi-purifikované, hyaluronidázou rozštěpené fragmenty hyaluronátu mohou stimulovat proliferaci a migraci endoteliálních buněk a urychlovat proces angiogeneze in vivo (51,52).

CD44 je diferenciacním antigenem v procesu myelopoese a lymfopoese, v průběhu embryogeneze umožňuje remodelaci extracelulární matrix. CD44 rovněž umožňuje agregaci buněk, a to multivalentní vazbou hyaluronátu k molekulám CD44 nalézajícím se na okolních buňkách, nebo vzájemnou vazbou mezi molekulami CD44, uskutečňovanou pomocí jejich glykosylovaných částí (53). HA dependentní vazby se účastní zejména agregace makrofágů, lymfocytů a fibroblastů (54). V této souvislosti je důležité, že právě proliferující buňky jsou bohaté na hyaluronát (46).

Molekula CD44 se účastní i degradace hyaluronátu. Komplex CD44-HA je internalizován a následně připojen k lyzozomálnímu kompartmentu, kde je degradován kyselými hydrolázami (55). Výše uvedená funkce CD44 má velký význam vzhledem k možným negativním efektům hromadění hyaluronátu, např. v plicní tkáni, kde interferuje s výměnou plynů (55).

CD44 v procesu maligního nádorového bujení

Zájem o význam CD44 v procesu maligního bujení byl vyvolán zejména po objevu Günthera a kol. (22), kteří v r. 1991 při pokusech s transfekcí CD44v6 do nemetastazujících buněčných linií zjistili, že CD44v6 je nositelem metastatického potenciálu. Po zavedení genu CD44v6 do buněk pomocí plazmidu a jeho následné expresi získaly takto změněné buňky schopnost metastazovat. Množství následných studií provedených na různých typech nádorů prokázalo řadu souvislostí mezi zvýšenou expresí CD44s i CD44v a stupněm diferenciacce nádorů (grade), metastatickým potenciálem, či proliferací aktivitou nádorových buněk (56). Byla rovněž ověřována možnost využití úrovně exprese CD44 jako prognostického faktoru přežití nemocných s různými typy nádorů. Z dosud provedených studií zabývajících se významem exprese CD44 v maligních nádorech vyplývá, že v nádorech je exprese molekul CD44 do různé míry alterována. Tato alterace může spočívat v up-regulaci, down-regulaci, či v přítomnosti jiných variantních izoform CD44, tedy ve změně vzorce exprese CD44 molekul specifického pro danou nenádorovou tkáň (57). Dalšími modifikacemi, které mohou významně ovlivňovat funkci molekul CD44, jsou např. změny v úrovni glykosylace, či ve schopnosti vazby ligandů, které s následnými možnými

změnami intracelulárního mikroprostředí mohou měnit vlastnosti a metastatické chování nádorových buněk. O změnách glykosylace CD44 v nádorových buňkách je dosud známo velmi málo i proto, že dosud není přesně objasněna ani její regulace v buňkách normálních.

Ztráta kontaktů nádorové buňky s okolními buňkami je podstatným krokem v časných fázích procesu metastatické kaskády. K uvolnění mezibuněčných kontaktů je nutná změna adhezivních vlastností buňky, ke které může přispívat změna profilu exprese molekul CD44. Zvýšená exprese CD44 může na jednu stranu usnadňovat vazbu hyaluronátu. Takto vytvořená pericelulární hyaluronátová „matrix“ může interferovat s adhezivními procesy v okolí, snižovat afinitu buňky k okolním hyaluronát-deficitním buňkám a následně vést k jejímu uvolnění z okolních vazeb. Vzhledem k interakcím molekuly CD44 se strukturami cytoskeletu je možné, že se CD44 podílí i na zvýšení motility nádorových buněk a usnadňuje jejich pohyb podél povrchů bohatých na hyaluronát. Na druhou stranu mohou molekuly CD44 svou účastí na degradaci hyaluronátu umožňovat nádorovým buňkám únik z prostředí bohatého na hyaluronát, popřípadě se podílet na procesu invaze do lymfatického či cévního systému. Vzhledem k již zmíněné funkci molekul CD44 v procesu angiogeneze je pravděpodobné, že se tyto molekuly rovněž podílejí na neovaskularizaci nově vzniklých metastatických ložisek (12).

Z dosud získaných poznatků vyplývá, že některých nádorech, např. v kolorektálních tumorech (58,59) v hepatocelulárním karcinomu (60), v adenokarcinomu žaludku (61-64), v maligním melanomu (65,66), v nádorech pankreatu (67) či kostní dřeni (68) souvisí exprese CD44 s horšími biologickými vlastnostmi nádoru i s horší prognózou. Bylo např. prokázáno, že monoklonální protilátka proti CD44s je in vitro schopna kompletně inhibovat vazbu buněk lidského melanomu (z buněčné linie SMMU2) k hyaluronátu a zároveň inhibovat metastatický potenciál nádorových buněk in vivo (65).

Existuje však i skupina nádorů, jako např. karcinomy prostaty (69-72), močového měchýře (73-77), nádory endometria (78) či spinocelulární kožní karcinomy (79), ve kterých je naopak snižená exprese CD44 znakem horších biologických vlastností a agresivnějšího chování nádoru. Po transfekci genu CD44s do buněčné linie krysího vysoce metastazujícího karcinomu prostaty bylo zjištěno snížení metastatického potenciálu, ale tumorigenicita a úroveň růstu nádorové linie in vivo sníženy nebyly (80).

Význam CD44 ve vybraných epitelových nádorech

Uroteliální karcinom močového měchýře

V uroteliálním karcinomu byly studovány zejména CD44s a variantní izoforma molekuly CD44v6 (73,75) ale i exprese dalších variantních izoform, např. CD44v3,5 a 10 (74) nebo CD44v2,5 a 6 (77). Přítomnost CD44 (resp. CD44 mRNA) byla zjišťována zejména v biotických vzorcích uroteliálních karcinomů i nenádorového urotelu pomocí širokého spektra metod, především imunohistologie, RT-PCR, Southern blotu či in-situ hybridizace. Použity byly i buňky definovaných buněčných linií získaných z karcinomů močového měchýře s rozdílnými biologickými vlastnostmi (74). Pozornost byla zaměřena především na korelaci exprese CD44 se stadiem nádoru hodnoceným podle TNM klasifikace, histologickou stavbou a stupněm diferenciacce nádorů, s biologickými charakteristikami buněčné nádorové populace, jako jsou proliferační aktivita nádorových buněk, DNA ploidie, či mitotický index a s prognózou nádorů (73-77).

V normálním urotelu je CD44s silně exprimován na membránách buněk a vykazuje výraznou stratifikaci, tzn. že je nejintenzivněji a nejvíce homogenně exprimován na vrstvách přiléhajících k bazální membráně, směrem k povrchovým vrstvám urotelu pak dochází k progresivnímu snížení exprese CD44s. Povrchové vrstvy buněk vykazují negativitu tohoto anti-

genu. Obdobná, i když o něco méně intenzivní, je pozitivita CD44v6 (event. CD44v3, v5 a v10).

Z výsledků většiny dosud provedených prací vyplývá, že v buňkách uroteliálního karcinomu je exprese CD44s i CD44v6 významně alterována. Přitom intenzita exprese uvedených molekul negativně koreluje se stupněm diferenciaci (grade) nádoru a s jeho progresí (stage), s vyšší úrovní buněčné proliferace a s metastazováním nádoru. V diferencovaných superficiálně rostoucích uroteliálních karcinomech jsou intenzita i obraz exprese CD44 prakticky stejné jako v normálním urotelu, často však dochází ke ztrátě stratifikace positivity. Nádory s nižším stupněm diferenciaci a nádory s pokročilou progresí vykazují nápadné alterace exprese CD44s i CD44v6, charakterizované především fokálními, popřípadě až úplným vymizením positivity, či výrazně heterogenní distribucí pozitivit (73,76). Ve špatně diferencovaných nádorech („high grade“) je exprese CD44 významně snížena, až negativní. (74,77). Nádory ploché či primárně invazivní vykazují častěji fokální ztrátu exprese CD44 molekul v porovnání s nádory papilárními (77). Nejednoznačný zůstává prognostický význam uvedených změn. Někteří autoři prokazují souvislost mezi down-regulací CD44s a CD44v6 a progresí onemocnění, časnou rekurencí či špatnou prognózou (75,76). Výsledky jiných studií však tento vztah nepotvrzují. Otázkou zůstává, do jaké míry souvisejí zjištěné alterace s metastatickým potenciálem nádorových buněk a do jaké míry může být úroveň exprese CD44 významným prognostickým ukazatelem uroteliálních karcinomů.

Karcinom ovaria

Karcinom ovarii tvoří významnou skupinu nádorů ženského reprodukčního systému. K charakteristickým vlastnostem těchto karcinomů patří peritoneální diseminace. Je vysoce pravděpodobné, že v rozsevu nádorových buněk po mezotelu peritonea, tedy v progresi ovariálních karcinomů, hrají významnou roli adhezivní molekuly, včetně rodiny CD44. Výsledky studií zabývajících se významem těchto molekul jsou však velmi nejednoznačné, někdy dokonce protichůdné. Bylo např. zjištěno, že v iniciálních stádiích ovariálních karcinomů dochází k up-regulaci CD44s a CD44v3 a v6 forem ve srovnání s nenádorovou tkání. S postupující progresí nádoru však dochází k významnému snížení exprese uvedených molekul (81). V pokročilých stádiích karcinomu ovaria byla pak pozorována nízká úroveň exprese CD44s, CD44v3 a v6. Snížení exprese až úplná ztráta CD44v3 se jeví jako jednoznačně negativní prognostický ukazatel (81). V jiném souboru bylo popsáno u karcinomů vyššího stupně malignity (grade II, III) a u karcinomů se vzdálenými metastázami zvýšení exprese CD44s oproti nenádorovému epitelu. Pozitivita exprese CD44s byla signifikantně spojena s kratším intervalem přežití bez projevů nádorového onemocnění i celkového přežití (82). Zajímavé výsledky přinesla studie hodnotící expresi CD44s a β 1-integrinu v buněčných liniích normálního ovariálního epitelu a ovariálních karcinomů. Protilátka proti CD44s, ale nikoliv proti β 1-integrinu, inhibovala vazbu nádorových buněk k buňkám mezotelu in vitro (83). I v modelu na „nahých“ myších (nude mice) s implantovanými buňkami ovariálního karcinomu bylo zjištěno výrazné snížení počtu buněčných implantátů nádoru po aplikaci protilátky proti CD44s (84). Výsledky dosud provedených studií svědčí pro významnou roli molekul CD44 v progresi ovariálních karcinomů.

Karcinom mléčné žlázy

Karcinom mléčné žlázy je druhou nejvýznamnější malignitou u žen středního věku. Stejně jako v jiných maligních nádorech je i u tohoto karcinomu nádorová transformace epitelových buněk provázána změnami adhezivních funkcí. Normální nenádorové epitelové buňky mléčné žlázy nevykazují (dle převážné většiny studií) expresi většiny CD44 antigenů. Přítomnost variantních molekul CD44v5, v6 a v9 byla

však v nenádorovém epitelu popsána. Myoepitelie naopak exprimují jak CD44s, tak i variantní izoformy. V buňkách stromálních je popisována exprese pouze CD44s, nikoliv jeho variantních izoform (85,86,87).

Nádorové buňky karcinomu mléčné žlázy vykazují zvýšenou expresi CD44, zejména variantních izoform. Zvýšená exprese CD44s a CD44v3, v5, v6, v9 a v10 byla zjištěna ve tkáni nemetastazujícího (88) i metastazujícího karcinomu (89). Zvýšená exprese CD44v3, v5 a v6 byla přítomna i na buňkách tvůřících metastatická ložiska v lymfatických uzlinách (88). Na základě uvedených pozorování byly CD44v3 a v4 označeny za možné markery malignity. Výsledky všech dosud provedených studií se sice shodují v nálezech zvýšené exprese různých forem molekul CD44 v souvislosti s progresí nádorového onemocnění, zároveň však naznačují, že exprese CD44 sama o sobě nemůže být pokládána za faktor upřesňující prognózu onemocnění (90).

Hepatocelulární karcinom

Normální nenádorové hepatocyty neexprimují žádnou z forem molekul CD44 (91-93). Ve tkáni hepatocelulárního karcinomu je však popisována exprese CD44s a CD44v6, jakož i dalších variantních izoform, např. CD44v3, v5 a v8-v10. Opakovaně byla popsána souvislost mezi zvýšenou expresí CD44s, CD44v3, v6 a v10 a úrovní nádorové angioin vazby (60,92,94), ale nebyla prokázána korelace se stupněm malignity nádoru, či s úrovní proliferace nádorových buněk (92). Ze závěrů většiny prováděných studií vyplývá, že nejnižší expresi CD44 antigenů vykazují dobře diferencované nádory, s dediferenciací nádoru stoupá i úroveň exprese těchto antigenů. Špatně diferencované nádory exprimují sledované molekuly CD44 velmi výrazně. Dosud se však nepodařilo určit, které z molekul CD44 skupiny nejvýznamněji ovlivňují adhezivní vlastnosti buněk hepatocelulárního karcinomu a tím i jejich metastatický potenciál. K velmi zajímavým patří zjištění, že v jaterní tkáni postižené cirrhózou či chronickou hepatitidou je možné identifikovat nečetné hepatocyty vykazující pozitivitu CD44v5, v7, a v8-v10 (60). Chronická hepatitida i cirrhóza jsou považovány za prekancerózní stavy předcházející hepatocelulárnímu karcinomu, a proto se nabízí otázka, zda a jakým způsobem se molekuly CD44v podílejí na časně fázi procesu karcinogeneze.

Využití hodnocení úrovně exprese molekul CD44 pro určení prognózy hepatocelulárního karcinomu je nejednoznačné, i když může existovat i souvislost mezi výší exprese CD44s a délkou přežívání pacientů. Bylo např. zjištěno, že vyšší exprese CD44s je spojena s kratším intervalem přežití nemocných (93). Podle Terrise et al (94) úroveň exprese CD44s sice pozitivně koreluje s vaskulární invazí v nádoru, ale nikoliv s délkou přežívání pacientů.

Adenokarcinom žaludku

Výskyt exprese molekul CD44 v epitelových nádorech žaludku je předmětem studií od r. 1993, kdy Hieder et al. (95) prokázali významný rozdíl v expresi CD44v izoform v nenádorové tkáni a v adenokarcinomu žaludku. Pomocí analýzy CD44v RNA byla v nenádorové tkáni zjištěna jen nízká přítomnost CD44v6 a v5, zatímco v adenokarcinomu intestinálního typu byl detegován mnohem komplexnější vzorec exprese amplifikačních produktů, které hybridizovaly s exony v5 a v6. Ve vzorcích nádorů difuzního typu byla zachycena exprese v5, ale nikoliv v6 izoformy (95). Up-regulace CD44v5 a v6 izoform v karcinomu žaludku byla zjištěna i imunohistochemicky a pomocí Northern-blottingu. Ve špatně diferencovaných nádorech a v uzlinových metastázách převažovala zejména CD44v5 izoforma (96). Intenzivně byla ve sliznici žaludku za normálních i patologických okolností sledována exprese CD44v9. V nenádorovém epitelu žaludeční sliznice byla zastížena jen slabá pozitivita CD44v9, a to pouze v bazolaterálních úsecích buněk pylorických žlázek, ostatní epitelové buňky uve-

dený antigen neexprimovaly. V ložiscích intestinální metaplasie, jež je považována za preneoplastickou lézi, byla zjištěna slabá exprese CD44v9, ale častější než v nenádorovém epitelu. CD44v9 exprimující buňky byly lokalizovány v dolní třetině metaplastických žlázoých struktur. V adenomech, které jsou rovněž řazeny k prekancerózním lézím, byla ve 20% zjištěna relativně slabá pozitivita CD44v9. Naopak silná exprese tohoto antigenu byla zjištěna u 28% adenokarcinomů žaludku. Expresce CD44v9 pozitivně korelovala s vyšším stupněm malignity nádorů i s hloubkou jejich invaze. Nádory se založenými metastázami do lymfatických uzlin exprimovaly CD44v9 silněji než nádory bez metastáz (63). Z dalších variantních izoform CD44 byly v karcinomech žaludku sledovány CD44v8-10. V intestinálním typu adenokarcinomu byla popsána zvýšená exprese těchto izoform. Zvýšená exprese korelovala s vaskulární invazí a hematogenním šířením nádoru (97). V experimentálních in vitro podmínkách byla porovnáována vazebná aktivita CD44v5 a v6 negativních a pozitivních buněk SC-M1 linie adenokarcinomu žaludku pro hyaluronát. Buňky exprimující uvedené antigeny vykazovaly výrazně nižší vazebnou aktivitu, než buňky negativní. Po inkubaci s protilátkami proti CD44v5 a v6 antigenům došlo ke zvýšení vazebné aktivity v5 a v6 pozitivních buněk. Po transfekci vektoru obsahujícího CD44v5 a v6 do buněk negativních pro uvedené antigeny poklesla jejich vazebná kapacita pro HA na úroveň buněk CD44v5 a v6 pozitivních (98). Uvedené výsledky jsou v souladu se zjištěním, že jedním z mnoha mechanismů, jimiž může být regulována buněčná adheze, související s vazbou hyaluronátu, může být alternativní sestřih CD44 variantních izoform (98).

Renální karcinom

Renální karcinom z jasných buněk, konvenční renální karcinom (KRK), je nejčastější tumor postihující ledviny dospělých osob. Studie věnované expresi CD44s a variantních forem ukazují, že zvyšující se exprese CD44s i variantních izoform souvisí s horšími klinickopatologickými charakteristikami renálního karcinomu. Dosud nejednoznačné jsou však názory na význam exprese jednotlivých variantních izoform v biologickém chování těchto nádorů. V normálním nenádorovém epitelu ledviny ani v dobře diferencovaných nádorech nebyla zjištěna přítomnost CD44v6 (99,101). Naopak v dediferencovaných KRK s vysokým TNM stagingem byla exprese CD44v6 popsána (102,103). Pozitivita CD44s byla zjištěna pouze sporadicky v buňkách distálních tubulů ledviny, a to zejména v oblastech atrofické tkáně přiléhající k nádoru. S vyšší gradingu nádoru i „nukleárního gradingu“ dle Fuhrmanové byl pozorován nárůst positivity CD44s. Vysokou intenzitu exprese CD44s vykazovaly velké nádory, jejichž průměr přesahoval 7 cm a také primární nádory pacientů, u kterých došlo v průběhu sledování k založení metastáz (101). Byla popsána i korelace vysoké exprese CD44s s prorůstáním KRK přes pouzdro, ve srovnání s nádory omezenými pouze na renální parenchym, kde byla úroveň exprese CD44s nízká (104). V experimentálních pracích byl potvrzen vliv CD44s molekul na adhezivní vlastnosti buněk a invazivitu KRK. Po inkubaci s antiCD44s došlo k významnému snížení invazivity nádorových buněk, zvýšení exprese CD44s bylo spojeno se zvýšením růstu a metastatického potenciálu nádorových buněk několika buněčných linií renálního karcinomu (105). Z uvedených výsledků je zřejmé, že proteiny CD44, zejména pak CD44s a v6, významně modifikují vlastnosti nádorových buněk RK a zvyšují jejich schopnost agresivního chování. Většina dosud publikovaných prací se shoduje v tom, že zvýšená exprese molekul skupiny CD44 je spojena s horším biologickým chováním nádorů.

Dlaždicobuněčný karcinom hlavy a krku

Dlaždicový nenádorový epitel silně exprimuje CD44s a CD44v6, vyjma keratinizované horní vrstvy epidermis. Dermální fibroblasty exprimují CD44s, jsou však prakticky negativní pro CD44v6. Ve vlasových folikulech a v potních žlázách je silná exprese CD44s i CD44v6 (79). I v různých benigních lézích dlaždicového epitelu byla zjištěna silná pozitivita CD44s i CD44v6, a to i v těch afekcích, které se vyznačují zvýšenou proliferací aktivitou epitelových buněk, např. v oblastech, ve kterých probíhalo hojení ran. V maligních nádorech bylo pozorováno snížení positivity CD44s a CD44v6 v souvislosti s dediferenčním nádoru. Nejvyšší úroveň exprese byla pozorována karcinomy G1, nádory G2 a G3 vykazovaly postupně slábnoucí expresi CD44s a CD44v6. Imunohistochemické stanovení exprese CD44s a CD44v6 a experimentální studie prováděné různými autory ukazuje, že snížení exprese CD44s a CD44v6 je obecně spojeno s maligní transformací dlaždicového epitelu a s horšími vlastnostmi spinocelulárních nádorů orofaciální oblasti (106-109). Souvislost mezi úrovní exprese CD44s a v6 a délkou přežívání pacientů je nejednoznačná (79), pouze ve studii Spafforda et al (106) byl nález snížené exprese CD44v6 u karcinomu laryngu spojen s kratší dobou přežívání nemocných.

Nemalobuněčné plicní karcinomy

Expresce CD44s, CD44v6 a dalších variantních izoform, např. CD44v3, v4, v5, v7 a v10 byla v nemalobuněčných plicních karcinomech sledována mnoha autory. Nejvíce studovány byly standardní forma CD44s a izoforma CD44v6. Výsledky dosud provedených studií jsou však značně konfliktní. Zatímco někteří autoři popisují korelaci zvýšené exprese CD44v6, popřípadě i CD44s a CD44v3 s horším chováním karcinomu, např. se zvýšenou proliferací aktivitou, s kratší dobou přežívání, s vyšší incidencí metastáz, s vyšším TNM stagingem, s velikostí nádoru apod. (110-114), jiní prokázali korelaci exprese uvedených antigenů pouze s typem nádoru (117-118) (vyšší exprese CD44v6 u spinocelulárních nádorů, nižší až negativní u adenokarcinomů či anaplastických nádorů). Vzhledem ke značně rozporuplným výsledkům dosud provedených studií není využití CD44s či variantních izoform v diagnostice a určení prognózy nemalobuněčných plicních karcinomů zatím možné.

Závěr

Na základě dosud získaných znalostí lze shrnout, že funkční vlastnosti CD44s a variantních izoform CD44v v nádorových buňkách závisí zejména na typu exprimované izoformy, na úrovni glykosylace a na buněčném mikroprostředí, ve kterém se buňka nachází. Navíc vazebná role molekul CD44 je různá v různých typech epitelových buněk normálních tkání. U epitelových nádorů způsob exprese molekul CD44 nesporně souvisí s jejich histogenezí a se stupněm diferenciací nádorových buněk. Komplexnost exprese CD44 a pravděpodobnost, že neexistuje univerzální „metastatická“ nebo „infiltrativní“ izoforma, anebo alespoň určitý omezený počet izoform, jejichž exprese predisponuje k metastatickému chování, může snížit přímou použitelnost analýzy exprese CD44 pro účely rutinní diagnostiky nebo pro určení prognózy nádorů. Pro objasnění role alterací molekul CD44 ve vzniku, progresi a biologickém chování maligních nádorů je nezbytný další výzkum, který pomůže vysvětlit rozdílné výsledky dosud provedených studií, a určit případný prognostický význam změn exprese těchto molekul.

Poděkování: Práce byla sestavena s podporou grantového projektu GAUK 30/2001/C.

Jitka Kuncová, Urologická klinika FNKV a UK-3.LF Praha, e-mail: kuncova@fnkv.cz

Literatura

1. Šedo, A., Mandys, V., Křepela, E.: Cell membrane-bound proteases: Not „only“ proteolysis. *Physiol. Res.*, 1996; 45: 169-176
2. Cavallaro, U., Christofori, G.: Cell adhesion in tumour and metastasis: loss of the glue is not enough. *Biochim. Biophys. Acta*, 2001; 1552: 39-45
3. Wilson, G. A.: *Cell Adhesion Molecules, Fundamental Facts. R&D Systems*; 1996,
4. Marečková, Z., Heller, S., Horký, K.: Buněčné adhezivní molekuly a jejich úloha v patofyziologických dějích. *Vnitřní lékařství*, 1999; 45: 1: 46-50
5. Koukolis, G. K., Patriarca, C., Gould, V. E.: Adhesion molecules and tumor metastasis. *Hum. Pathol.*, 1998; 9: 889-892
6. Goodfellow, P.N., Banting, G., Wiles, M. V., et al.: The gene MIC4, which controls expression of the antigen defined by monoclonal antibody F10.44.2, is on human chromosome 11. *Eur. J. Immunol.*, 1982; 12: 659-663
7. Dougherty, G. J., Lansford, P.M., Cooper, D.L., Humphries, R. K.: Molecular cloning of CD44R1 and CD44R2, two novel isoforms of the human CD44 lymphocyte homing receptor expressed by hemopoietic cells. *J. Exp. Med.*, 1991; 174: 1-5
8. Sreanion, G. R., Bell, M. V., Bell, J. I., Jackson, D.G.: The identification of a new alternative exon with highly restricted tissue expression in transcripts encoding the mouse Pgp-1 (CD44) homing receptor: comparison of all 10 variable exons between mouse, human and rat. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 12 235
9. Tolg, C., Hofmann, H., Herrlich, P., Ponta, H.: Splicing choice from 10 variant exons establishes CD44 variability. *Nucl. Acids. Res.*, 1993; 21: 1225-1229
10. Hofmann, M., Rudy, W., Zoller, M. et al.: CD44 splice variants confer metastatic behaviour in rats : homologous sequences are expressed in human tumour cell lines. *Cancer. Res.*, 1991; 51: 5292-7
11. Gallagher, T.: The protein and proteoglycan guises of Hermes/CD44. *Glycobiology*, 1991; 6: 861-70
12. Sneath, R. J. S., Mangham, D. C.: The normal structure and function of CD 44 and its role in neoplasia. *J. Clin. Pathol.: Mol. Pathol.*, 1998; 51: 191-200
13. Goodison, S., Urquidí, V., Tarin, D.: CD44 cell adhesion molecules. *J. Clin. Pathol.:Mol.Pathol.*, 1999; 52: 189-196
14. Brown, T., Buouchar, T., St. John, T., et al.: Human keratinocyte express a new CD44 core protein as a heparan-sulfate intrinsic membrane proteoglycan with additional exons. *J. Cell. Biol.*, 1991; 113: 207-21
15. Trowbridge, I., Lesley, J., Schulte, R. et al.: Biochemical characterisation and cellular distribution of a polymorphic murine cell surface glycoprotein expressed on lymphoid tissues. *Immunogenetics*, 1982; 15: 299-312
16. Hughes, E., Mencod, G., Aucrust, T.: Murine cell surface glycoproteins. Characterisation of a major component of 80,000 daltons as a polymorphic differentiation antigen of mesenchymal cells. *J. Biol. Chem.*, 1981; 256: 7023-7
17. Cooper, D., Dougherty, G., Harn, H., et al.: The complex CD44 transcriptional unit: Alternative splicing of three internal exons generates the epithelial form of CD44. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992; 182: 569-78
18. Fox, S., Fawcett, J., Jackson, D., et al.: Normal human tissues, in addition to some tumors, express multiple different CD44 isoforms. *Cancer Res.*, 1994; 54: 4539-46
19. Mackay, C., Terpe, H.-J., Stauder, R., et al.: Expression and modulation of CD44 variant isoforms in humans. *J. Cell. Biol.*, 1994; 124: 71-82
20. Borland, G., Ross, J., A., Guy, K.: Forms and functions of CD44. *Immunology*, 1988; 93: 139-148
21. Sleeman, J., Moll, J., Sherman, L., et al.: The role of the CD44 splice variants in human metastatic cancer. In: *Cell adhesion and human disease*. Chichester: Wiley, 1995: 142-156
22. Gunthert, U., Hofmann, M., Rudy, W., et al.: A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell*, 1991; 65: 13-24
23. Fox, S., Gatter, K., Jackson, D., et al.: CD44 and cancer screening. *Lancet*, 1993; 342: 548-9
24. Wirth, K., Arch, R., Somasundaram, C., et al.: Expression of CD44 isoforms carrying metastasis-associated sequences in newborn and adult rats. *Eur. J. Cancer.*, 1993; 294: 1172-7
25. Aruffo, A., Stamenkovic, I., Melnick, M., et al.: CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell*, 1990; 61: 1303
26. Yang, B., Yang, B.L., Savani, R.C., et al.: Identification of a common hyaluronan binding motif in the hyaluronan binding proteins RHAMM, CD44 and link protein. *EMBO J.*, 1994; 13: 286-96
27. Peach, R.J., Hollenbaugh, D., Stamenkovic, I., et al.: Identification of hyaluronic acid binding sites in the extracellular domain of CD44. *J. Cell. Biol.*, 1993; 122: 257-64
28. Weber, G., F., Ashkar, S., Glimcher, M., J., et al.: Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1). *Science*, 1996; 271: 509-12
29. Faassen, A., E., Schraeger, J., A., Klein, D., J., et al.: A cell surface chondroitin sulfate proteoglycan, immunologically related to CD44, is involved in type I collagen-mediated melanoma cell motility and invasion. *J. Cell. Biol.*, 1992; 116: 521-31
30. Jalkanen, S., Jalkanen, M.: Lymphocyte CD44 binds the COOH terminal heparin-binding domain of fibronectin. *J. Cell Biol.*, 1992; 116: 817-25
31. Toyama-Sorimachi, N., Sorimachi, H., Tobita, Y., et al.: A novel ligand for CD44 is serglycin, a hematopoietic cell adherence-specific proteoglycan. Possible involvement in lymphoid cell adherence and activation. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 7437-44
32. Knutson, J. R., Iida, J., Fields, G., B., et al.: CD44/chondroitin sulfate glycoproteoglycan and alpha 2 beta 1 integrin mediate human melanoma cell migration on type IV collagen and invasion of basement membranes. *Mol. Biol. Cell.*, 1996; 7: 383-96
33. Toyama-Sorimachi, N., Miyasaka, M.: A novel ligand for CD44 is sulfated proteoglycan. *Int. Immunol.*, 1994; 6: 655-60
34. Stamenkovic, I., Aruffo, A., Amiot, M., et al.: The haematopoietic and epithelial forms of CD44 are distinct polypeptides with different adhesion potentials for hyaluronate-bearing cells. *EMBO J.*, 1991; 10: 343-8
35. Bennet, K., Modrell, B., Greenfield, K., et al.: Regulation of CD44 binding to hyaluronan by glycosylation of variable spliced exons. *J. Cell. Biol.*, 1995; 131: 1623-33
36. Katoh, S., Zheng, Z., Oritani, K., et al.: Glycosylation of CD44 negatively regulates its recognition of hyaluronan. *J. Exp. Med.*, 1995; 182: 419-29
37. Lesley, J., English, N., Perschl, A., et al.: Variant cell lines selected for alterations in the function of the hyaluronate receptor CD44 show differences in glycosylation. *J. Exp. Med.*, 1995; 182: 431-7
38. Lesley, J., Hyman, R., Kincaid, P.W.: CD44 and its interactions with extracellular matrix. *Adv. Immunol.*, 1993; 54: 271-335
39. Liu, D., Liu, T., Sy, M. S.: Identification of two regions in the cytoplasmic domain of CD44 through which PMA calcium, and forskolin differentially regulate the binding of CD44 to hyaluronic acid. *Cell. Immunol.*, 1998; 190: 132-40
40. Bourguignon, L., Y., W., Zhu, D., Zhu, H.: CD44isoform- cytoskeleton interaction in oncogenic signalling and tumor progression. *Front. Biosci.*, 1998; 3: D637-49
41. Lokeshwar, V., B., Fregien, N., Bourguignon, L., Y., W.: Ankyrin binding domain of CD44 (GP85) is required for the expression of hyaluronic acid-mediated adhesion function. *J. Cell. Biol.*, 1994; 126: 1099-109
42. Zhu, D., Bourguignon, L., Y., W.: The ankyrin binding domain of CD44s is involved in regulating hyaluronic acid-mediated functions and prostate tumour cell transformation. *Cell. Motil. Cytoskeleton*, 1998; 39: 209-22
43. Bourguignon, L., Y., W., Gunja-Smith, Z., Iida, N., et al.: CD44v(3,8-10) is involved in cytoskeleton-mediated tumor cell migration and matrix metalloproteinase (MMP-9) association in metastatic breast cancer cells. *J. Cell. Physiol.*, 1998; 176: 206-15
44. Liu, D., Sy, M.S.: A cysteine residue located in the transmembrane domain of CD44 is important in binding of CD44 to hyaluronic acid. *J. Exp. Med.*, 1996; 183: 1987-94
45. Peach, R., J., Hollenbaugh, D., Stamenkovic, I., et al.: Identification of hyaluronic acid binding sites in the extracellular domain of CD44. *J. Cell. Biol.*, 1993; 122: 257-64
46. Alho, A., M., Underhill, C., B.: The hyaluronate receptor is preferentially expressed on proliferating epithelial cells. *J. Cell. Biol.*, 1989; 108: 1557-65
47. Jain, M., He, Q., Lee, W., S., et al.: Role of CD44 in the reaction of vascular smooth muscle cells to arterial wall injury. *J. Clin. Invest.*, 1996; 98: 877
48. Trochon, V., Mabilat, C., Bertrand, P., et al.: Evidence of involvement of CD44 in endothelial cell proliferation, migration and angiogenesis *in vitro*. *Int. J. Cancer.*, 1996; 66: 664-8
49. Sherman, L., Sleeman, J., Dall, P., et al.: The CD44 protein in embryonic development and in cancer. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1996; 213: 249-69
50. McKee, C., M., Penno, M., B., Cowman, M., et al.: Hyaluronan (HA) fragments induce chemokine gene expression in alveolar macrophages. The role of HA size and CD44. *J. Clin. Invest.*, 1996; 98: 2403-13
51. West, D., Kumar, S.: The effect of hyaluronate and its oligosaccharides on endothelial cell proliferation and monolayer integrity. *Exp. Cell. Res.*, 1989; 183: 179-96
52. Lees, V., Fan, T., West, D.: Angiogenesis in a delayed revascularization model is accelerated by angiogenic oligosaccharides of hyaluronan. *Lab. Invest.*, 1995; 73: 259-66
53. Cooper, D., L., Dougherty, G. J.: To metastasize or not? Selection of CD44 splice sites. *Nat. Med.*, 1995; 1: 635-7
54. Green, S., J., Tarone, G., Underhill, C., B.: Aggregation of macrophages and fibroblasts is inhibited by a monoclonal antibody to the hyaluronate receptor. *Exp. Cell. Res.*, 1988; 178: 224-32
55. Underhill, C.: CD44: the hyaluronan receptor. *J. Cell. Sci.*, 1992; 103: 293-8
56. Gunthert, U.: CD44 in malignant disorders. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1996; 312: 271-285
57. Goodison, S., Tarin, D.: Clinical implications of anomalous CD44 gene expression in neoplasia. *Front. Biosci.*, 1998; 3: 89-100
58. Choi, S., H., Takahashi, K., Eto, H., et al.: CD44s expression in human colon carcinomas influences growth of liver metastases. *Int. J. Cancer*, 2000; 85: 523-526
59. Isozaki, H., Ohyama, T., Mabuchi, H., et al.: Expression of cell adhesion molecule CD44 and sialyl Lewis A in gastric carcinoma and colorectal carcinoma in association with hepatic metastases. *Int. J. Oncol.*, 1998; 13: 935-942
60. Endo, K., Terada, T.: Protein expression of CD44 (standard and variant isoforms) in hepatocellular carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, p53 expression, and patient survival. *J. Hepatol.*, 2000; 32: 78-84
61. Mayer, B., Jauch, K., Gunthert, U., et al.: De-novo expression of CD44 and survival in gastric cancer. *Lancet*, 1993; 342: 1019-22
62. Yamaguchi, A., Urano, T., Goi, T., et al.: Expression of a CD44 variant exons 8 to 10 is a useful independent factor for the prediction of prognosis in colorectal cancer patients. *J. Clin. Oncol.*, 1996; 14: 1122-7
63. Yasui, W., Kudo, Y., Naka, H., et al.: Expression of CD4 containing variant exon 9 (CD44v9) in gastric adenomas and adenocarcinomas: Relation to the proliferation and progression. *Int. J. Oncol.*, 1998; 12: 1253-8
64. Hsieh, H., F., Yu, J., C., Ho, L., I., et al.: Molecular studies into the role of CD44 variants in metastasis in gastric cancer. *J. Clin. Pathol.:Mol. Pathol.*, 1999; 52: 5-28

65. Guo, Y., Ma, J., Wang, J., et al.: Inhibition of human melanoma growth and metastasis *in vivo* by anti-CD44 monoclonal antibody. *Cancer Res.*, 1994; 54: 1561-5
66. Manten, H., E., Danen, E., H., J., Smit, L., et al.: Expression of CD44 splice variants in human cutaneous melanoma and melanoma cell lines is related to tumor progression and metastatic potential. *Int. J. Cancer*, 1995; 64: 182-8
67. Gansauge, F., Gansauge, S., Zobywalski, A., et al.: Differentiation expression of CD44 splice variants in human pancreatic adenocarcinoma and in normal pancreas. *Cancer Res.*, 1995; 55: 5499-503
68. Bendall, L., J., Bradstock, K., F., Gottlieb, D., J.: Expression of CD44 variant exons in acute myeloid leukemia is more common and more complex than that observed in normal blood, bone marrow or CD34+ cells. *Leukemia*, 2000; 14: 1239-46
69. De Marzo, A., M., Bradshaw, C., Sauvageot, J., et al.: CD44 and CD44v6 downregulation in clinical prostatic carcinoma: relation to Gleason grade and cytoarchitecture. *Prostate*, 1998; 34: 162-8
70. Miyake, H., Hara, U., Okamoto, I., et al.: Interaction between CD44 and hyaluronic acid regulates human prostate cancer development. *J. Urol.*, 1998; 160: 1562-6
71. Aaltoma, S., Lipponen, P., Ala-Opas, M., et al.: Expression and prognostic value of CD44 standard and variant v3 and v6 isoforms in prostate cancer. *Eur. Urol.*, 2001; 39: 138-44
72. Aaltoma, S., Lipponen, P., Viitanen, J., et al.: Prognostic value of CD44 standard, variant isoforms 3 and 6 and catenin expression in local prostate cancer treated by radical prostatectomy. *Eur. Urol.*, 2000; 38: 555-62
73. Hong, R., L., Pu, Y., S., Hsieh, T., S., et al.: Expressions of E-cadherin and exon v6-containing isoforms of CD44 and their prognostic values in human transitional cell carcinoma. *J. Urology*, 1995; 153: 2025-8
74. Southgate, J., Trejdosiowicz, L., K., Smith, B., et al.: Patterns of splice variants of CD44 expression by normal human urothelium *in situ* and *in vitro* and by bladder-carcinoma cell lines. *Int. J. Cancer*, 1995; 62: 449-456
75. Lipponen, P., Aaltoma, S., Kosma, V., M., et al.: Expressions of CD44 standard and variant-v6 proteins in transitional cell bladder tumours and their relation to prognosis during a long-term follow-up. *J. Pathol.*, 1998; 186: 157-164
76. Toma, V., Hauri, D., Schmidt, U., et al.: Focal loss of CD44 variant protein expression is related to recurrence in superficial bladder carcinoma. *Am. J. Pathol.*, 1999; 155: 1427-1432
77. Sugino, T., Gorham, H., Yoshida, K., et al.: Progressive loss of CD44 gene expression in invasive bladder cancer. *Am. J. Pathol.*, 1996; 149: 873- 882
78. Ayhan, A., Tok, E., C., Bildirici, I., et al.: Overexpression of CD44 variant 6 in human endometrial cancer and its prognostic significance. *Gynecol. Oncol.*, 2001; 80: 355-8.
79. Soukka, T., Salmi, M., Joensuu, H., et al.: Regulation of CD44v6-containing isoforms during proliferation of normal and malignant epithelial cells. *Cancer Res.*, 1997; 57: 2281-89
80. Gao, A., Lou, W., Dong, J., T., et al.: CD44 is a metastasis suppressor gene located on human chromosome 11p13. *Cancer Res.*, 1994; 54: 1561-5
81. Saegusa, M., Machida, D., Hashimura, M., et al.: CD44 expression in benign, premalignant and malignant ovarian neoplasms: relation to tumour development and progression. *J. Pathol.*, 1999; 189: 326-337
82. Kayastha, S., Freedman, A., N., Piver, M. S., et al.: Expression of the hyaluronan receptor, CD44s, in epithelial ovarian cancer is an independent predictor of survival. *Clin. Cancer Res.*, 1999; 5: 1073-76
83. Cannistra, S., A., Kansas, G., S., Niloff, J., et al.: Binding of ovarian cancer cells to peritoneal mesothelium *in vitro* is partly mediated by CD44H. *Cancer Res.*, 1993; 53: 3830-38
84. Strobel, T., Swanson, L., Cannistra, S., A.: *In vivo* inhibition of CD44 limits intra-abdominal spread of a human ovarian cancer xenograft in nude mice: a novel role for CD44 in the process of peritoneal implantation. *Cancer Res.*, 1997; 57: 1228-32
85. Dall, P., Heider, K., H., Sinn, H., P., et al.: Comparison of immunohistochemistry and RT-PCR for detection of CD44v-expression, a new prognostic factor in human breast cancer. *Int. J. Cancer*, 1995; 60: 471-77
86. Sinn, H., P., Heider, K., H., Skroch - Angel, P., et al.: Human mammary carcinomas express homologues of rat metastasis-associated variants of CD44. *Breast Cancer Res. Treat.*, 1995; 6: 307-13
87. Bankfalvi, A., Terpe, H., J., Breukelmann, D., et al.: Gains and losses of CD44 expression during breast carcinogenesis and tumour progression. *Histopathology*, 1998; 33: 107-16
88. Kaufmann, M., Heider, K., H., Sinn, H., P., et al.: CD44 variant exon epitopes in primary breast cancer and length of survival. *Lancet*, 1995; 34: 615-619
89. Friedrichs, K., Franke, F., Lisboa, B., W., et al.: CD44 isoforms correlate with cellular differentiation but not with prognosis in human breast cancer. *Cancer Res.*, 1995; 55: 5424-33
90. Jansen, R., H., Joosten-Achjanie, S., R., Arends, J., et al.: CD44v6 is not a prognostic factor in primary breast cancer. *Ann. Oncol.*, 1998; 9: 109-11
91. Ashida, K., Terada, T., Kitamura, Y., et al.: Expression of E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and CD44 (standard and variant isoforms) in human cholangiocarcinoma: an immunohistochemical study. *Hepatology*, 1998; 27: 974-82
92. Mathew, J., Hines, J., E., Obafunwa, J., O., et al.: CD44 is expressed in hepatocellular carcinoma showing vascular invasion. *J. Pathol.*, 1996; 179: 74-9
93. Washington, K. Telen, M., J., Gottfried, M., R.: Expression of cell adhesion molecule CD44 in primary tumors of the liver? an immunohistochemical study. *Liver*, 1997; 17: 17-23
94. Terris, B. Puig, P., L., Belghiti, J., et al.: Prognostic influence of clinicopathological features, DNA-ploidy, CD44H and p53 expression in a large series of resected hepatocellular carcinoma in France. *Int. J. Cancer*, 1997; 74: 614-9
95. Heider, K., H., Dammrich, J., Skroch-Angel, P., et al.: Differentiation expression of CD44 splice variants in intestinal- and diffuse-type human gastric carcinoma and normal gastric mucosa. *Cancer Res.*, 1993; 53: 4197-203
96. Harn, H., J., Ho, L. I., Chang, J., Y., et al.: Differentiation expression of human metastasis adhesion molecule CD44 in Chinese stomach carcinoma. *Cancer*, 1995; 75: 1065-71
97. Yamaguchi, A., Saito, M., Goi, T., et al.: Expression of CD44 variant exons 8-10 in gastric cancer. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1995; 86: 1166-71
98. Harn, H., Shen, K., L., Liu, C., A., et al.: Hyaluronate binding assay study of transfected CD44v4-7 isoforms into human gastric carcinoma cell line SC-M1. *J. Pathol.*, 1998; 184: 291-6
99. Heider, K., H., Ratschek, M., Zatloukal, K., et al.: Expression of CD44 isoforms in human renal cell carcinomas. *Virchows. Arch.*, 1996; 428: 267-273
100. Kennel, S., J., Lankford, T., K., Foote, L., J., et al.: CD44 expression in murine tissues. *J. Cell. Sci.*, 1993; 104: 33-382
101. Daniel, L., Lechevalier, E., Giorgi, R., et al.: CD44s and CD44v6 expression in localized T1-T2 conventional cell carcinomas. *J. Pathol.*, 2001; 193: 345-49
102. Paradis, V., Ferlicot, S., Ghannam, E., et al.: CD44 is an independent prognostic factor in conventional renal cell carcinomas. *J. Urol.*, 1999; 198: 84-87
103. Terpe, H., J., Storckel, S., Zimmer, U., et al.: Expression of CD44 isoforms in renal cell tumors. *Am. J. Pathol.*, 1996; 148: 453-63
104. Gilcrease, M., Z., Truong, L., Brown, R., W.: Correlation of very late activation integrin and CD44 expression with extrarenal invasion and metastasis of renal cell carcinomas. *Hum. Pathol.*, 1996; 27: 1355-60
105. Koga, H., Naito, S., Nakashima, M., et al.: A flow cytometric analysis of the expression of adhesion molecules on human cell carcinoma cells with different metastatic potentials. *Eur Urol.*, 1997; 31: 86-91
106. Spafford, M., F., Koeppel, J., Pan, Z., et al.: Correlation of tumor markers p53, bcl-2, CD34, CD44H, CD44v6, and Ki-67 with survival and metastasis in laryngeal cell squamous carcinoma. *Arch. Otolaryngol. Head&Neck Surg.*, 1996; 122: 627-32
107. Salmi, M., Gron-Virta, K., Sointu, P., et al.: Regulated expression of exon v6 containing isoforms of CD44 in man: downregulation during malignant transformation of tumors of squamocellular origin. *J. Cell. Biol.*, 1993; 122: 431-42
108. Hudson, D., L., Speight, P., M., Watt, F., M.: Altered expression of CD44 isoforms in squamous-cell carcinomas and cell lines derived from them. *Int. J. Cancer*, 1996; 66: 457-463
109. Seelentag, W., K., F., Gunther, U., Saremaslani, P., et al.: CD44 standard and variant isoform expression in human epidermal skin tumors is not correlated with tumor aggressiveness but down-regulated during proliferation and tumor de-differentiation. *Int. J. Cancer*, 1996; 69: 218-224
110. Miyoshi, T., Kondo, T., Hino, N., et al.: The expression of the CD44 variant exon 6 is associated with lymph node metastasis in non-small cell lung cancer. *clin. Cancer Res.*, 1997; 3: 1289-97
111. Hirata, T., Fukuse, T., Naiki, H., et al.: Expression of the CD44 variant exon 6 in stage I non-small cell lung carcinoma as a prognostic factor. *Cancer Res.*, 1998; 1108-10
112. Tran, T., A., Kallakury, B., V., Sheehan, C., E., et al.: Expression of CD44 standard form and variant isoforms in non-small cell lung carcinomas. *Hum. Pathol.*, 1997; 28: 809-14
113. Wimmel, A., Schilli, M., Kaiser, U., et al.: Preferential histiotypic expression of CD44-isoforms in human lung cancer. *Lung Cancer*, 1997; 16: 151-172
114. Givechian, M., Woerner, S., Lacroix, J., et al.: Expression of CD44 splice variants in normal respiratory epithelium and bronchial carcinomas: No evidence for altered CD44 splicing in metastasis. *Oncogene*, 1996; 12: 1137-44
115. Fasano, M., Sabatini, M., T., Wieczorek, R., et al.: CD44 and its v6 spliced variant in lung tumors: A role in histogenesis? *Cancer*, 1997; 80: 34-41
116. Fukuse, T., Hirata, T., Naito, H., et al.: Expression of proliferating cell nuclear antigen and CD44 variant isoforms in the primary and metastatic sites of non-small cell lung carcinoma with intrapulmonary metastases. *Cancer*, 1999; 86: 1174-81
117. Sasaki, J., I., Tanabe, K., K., Takahashi, K., et al.: Expression of CD44 splicing isoforms in lung cancers: Dominant expression of CD44v8-10 in non-small cell lung carcinomas. *Int. Oncol.*, 1998; 12: 525-33
118. Carbone, P., Spaggiari, L., Romani, A., et al.: Expression of human CD44v6 in non-small cell lung cancer. *Eur. Surg. Res.*, 1998; 30: 403-408

VYUŽITÍ RITUXIMABU V LÉČBĚ CHRONICKÉ LYMFATICKÉ LEUKEMIE

RITUXIMAB IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

MAYER, J., DOUBEK, M., BRYCHTOVÁ, Y., VORLÍČEK J.

INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO

Souhrn: Možnosti léčby pacientů s chronickou lymfatickou leukémií (CLL) se v posledních několika letech výrazně zlepšily. Slibné výsledky jak v primární terapii tak u relapsů CLL přineslo zavedení nových cytotoxických látek jako jsou purinová analoga fludarabin a 2-chlordeoxyadenosin. Nicméně i tak stále všichni pacienti s CLL po iniciační odpovědi na terapii relabují. Jelikož původem relapsů jsou reziduální leukemické buňky, vyvstává potřeba dalších terapeutických přístupů s odlišným mechanismem účinku, aby byly reziduální buňky eliminovány. Tyto přístupy zahrnují imunoterapii. Proto jsou dnes intenzivně zkoumány různé monoklonální protilátky. V terapii rezistentních nebo relabujících nehodgkinských lymfomů nízké malignity se osvědčila nekonjugovaná protilátka anti-CD20, rituximab. V současnosti už máme i klinickou zkušenost s podáváním rituximabu u pacientů s CLL. Nicméně přesné role této látky v terapii CLL ještě určena není. Hledat by ji měly probíhající nebo budoucí studie. U pacientů s CLL je exprese znaku CD20 na nádorových buňkách menší než u pacientů s lymfomy. Jak ukázaly některé studie, to je jeden z možných důvodů nižšího účinku rituximabu u CLL. Účinnost rituximabu může být zlepšena eskalací jeho dávek nebo změnou léčebného schématu. Naděje jsou vkládány do kombinací rituximabu s chemoterapeutiky. Při aplikaci rituximabu je nutné myslet na riziko syndromu lýzy tumoru a anafylaxe. Předkládaný referát zmiňuje mechanismy působení rituximabu a shrnuje jeho roli v léčbě pacientů s CLL.

Klíčová slova: chronická lymfatická leukémie – rituximab

Summary: The treatment options for chronic lymphocytic leukemia (CLL) have dramatically increased in the last few years. Promising results have been reported with new cytotoxic agents such as the purine analogues fludarabine and 2-chlordeoxyadenosine, either at first diagnosis or at relapse. Nevertheless, all patients with CLL relapse after initial response. Since residual leukemia cells are very likely to be the origin of the clinical relapse, there is a need for new therapeutic approaches with different mechanism of action to eliminate these residual cells. These approaches include immunotherapeutic strategies. Monoclonal antibodies are thus being actively investigated. In clinical trials the unconjugated anti-CD20 antibody rituximab achieved promising results in the treatment of patients with relapsed or refractory low-grade non-Hodgkin's lymphoma. Nowadays, there is clinical experience with rituximab in CLL patients. However, the exact role of this agent in the treatment of CLL has still to be determined in ongoing and future trials. In CLL patients the amount of CD20 on the cell surface is moderate, this being a possible reason for the low response rate to rituximab in the some studies reported so far. The effectiveness of rituximab might be improved by escalating the dose or modifying the treatment schedule. Effort is being focused on combining rituximab with chemotherapy. Furthermore, the potential risks of tumor lysis and anaphylaxis for rituximab must be taken into account. The present review will discuss the basic principles of this unconjugated monoclonal antibody and consider its role in the treatment of patients with CLL.

Key words: chronic lymphocytic leukemia – rituximab

Úvod

Léčba řady lymfoproliferativních onemocnění je stále neuspokojivá. Přes léta hledání, množství klinických studií a nových poznatků z molekulární biologie je řada těchto chorob **stále nevléčitelná**, byť více či méně léčitelná. Většina léčebných postupů je zatím založena na klasických cytostaticích. Velká pozornost se proto upíná k novým **necytostatickým postupům**. Jedním z nich by mohlo být použití speciálních **monoklonálních protilátek**. Monoklonální protilátky se jeví jako velmi atraktivní pro použití v onkologii. Jsou zacíleny přesně na určité definované a specifické struktury nádorových buněk, což vede k jejich selektivní eliminaci, aniž to negativně ovlivní ostatní zdravé buňky. To je oproti víceméně neselektivní chemoterapii s drastickými vedlejšími účinky dramatický pokrok. Nyní jsme již reálnými svědky tohoto zcela nového směru klinické onkologie v praxi.

Existují různé typy monoklonálních protilátek pro použití v onkologii. Pro lymfomy je již na českém trhu registrována protilátka **anti-CD20** (rituximab, IDEC-C2B8, preparát Mabthera firmy Roche). Jde o chimérickou monoklonální protilátku, kombinovanou myší-lidskou, obsahující konstantní části lidských IgG₁ těžkých a kappa lehkých řetězců. Genetickým inženýrstvím získaná chimérická protilátka má minimalizovat imunizaci léčeného pacienta se vznikem protilátek proti cizorodé bílkovině. Rituximab je vyráběn v kultuře ovariálních

buněk čínských křečků a byl první monoklonální protilátkou, která získala v roce 1997 povolení americké FDA (Food and Drug Administration) k léčbě onkologické choroby.

Do té doby bylo uplatnění monoklonálních protilátek v medicíně velmi omezené a bylo k dispozici jen několik léků. Mnohé monoklonální protilátky byly vyráběny víceméně jen pro výzkumné účely a jejich klinické uplatnění bylo velmi omezené. Rituximab byl primárně vyvinut tehdy malou kalifornskou biotechnologickou společností IDEC Pharmaceuticals Corporation ze San Diega (13). Protilátka IDEC 2B8 byla získána v roce 1991 z myší imunizovaných CD20. Označení 2B8 vyšlo z toho, že tato protilátka byla identifikována na laboratorní destičce č. 2, řádek B a sloupec 8. Myši produkovaly jen tři anti-CD20 protilátky, přičemž 2 z nich byly třídy IgM. Zbývající IgG protilátka byla vybrána pro další výzkum. Další geneticky inženýrské práce byly vykonány v tomtéž roce. Co bylo významné byl fakt, že ovariální buňky křečků byly schopny produkovat rituximab v dostatečném množství, takže se mohlo použít také dostatečné množství látky k léčbě. Předchozí neúspěchy jiných protilátek mohly být způsobeny mj. poddáváním. Málo je známo, že navržené dávkování doporučené firmou pro studii fáze II, tedy známé dávkování 375 mg/m² x 4, vycházelo nejen z informací studií fáze I, ale také z tehdy dostupného množství rituximabu a z plánovaného počtu nemocných studie fáze II. Bylo tedy určitým způsobem pragmatické

a z toho vyplývá, že zdaleka nemusí být optimální (13). Toto je významné hlavně z hlediska optimalizace dávkování u CLL, což bude podrobně rozebráno dále.

Mechanismus účinku rituximabu

Rituximab se selektivně váže na CD20 pozitivní buňky. Jde o buňky řady lymfoproliferativních chorob, ale také o normální B lymfocyty. Mechanismus účinku je mnohostranný. Dominantní cestou eliminace CD 20 pozitivních buněk je tzv. **buňkami zprostředkovaná cytotoxicita** (ADCC, antibody - dependent cellular cytotoxicity) a **lýza komplementem**, ale uplatňuje se pravděpodobně také **indukce apoptózy** (12). Zatímco každý z těchto účinků byl sledován in vitro, klinický účinek in vivo je pravděpodobně suma různých mechanismů. Navíc, různé mechanismy se mohou uplatňovat různou měrou podle lokalizace tumoru. Například likvidace nádorových buněk z cirkulace může být způsobena dominantně ADCC a lýzou komplementu, zatímco masy nádoru v uzlinách a extranodálních tkáních jsou těmto vlivům vystaveny méně intenzivně. Již po prvních klinických zkušenostech s rituximabem začalo být zřejmé, že existují pacienti **rezistentní** k této léčbě. Rezistence přitom může být primární, nebo získaná, u nemocných, kteří předtím na léčbu reagovali. Zásadní mechanismy rezistence a senzitivity jsou přitom zatím jen zcela málo probádané. Ví se ale, že v určitých případech mohou souviset s expresí struktury CD20 na buňkách (24).

ADCC vyžaduje aktivaci Fc receptoru efektorových buněk. Efektorové buňky zahrnují NK buňky a fagocytující buňky, monocytů a makrofágy. NK buňky likvidují protilátkou označené buňky uvolňováním perforinů a granzymů. Mohou také indukovat apoptózu prostřednictvím systému Fas – Fas ligand (24). Bylo poukázáno na dost značný význam genetických faktorů, ovlivňujících Fc receptor, pro léčebnou odpověď na rituximab. Cartron et al. (6) studovali význam **polymorfismu FcγRIIIa**, kdy na 158 pozici může být aminokyselina fenylalanin (F), nebo valin (V). Lidský IgG1 se daleko více váže na homozygotní variantu receptoru V, než na homozygotní variantu F nebo variantu heterozygotní. V klinické studii se prokázalo, že léčebná odpověď u nemocných s homozygotní variantou V po podání rituximabu byla daleko nejlepší.

Fagocytóza je mediována také Fc receptorem, receptory pro fragmenty aktivovaného komplementu deponované na povrchu nádorových buněk a receptory, které poznávají fosfidylerin translokovaný z vnitřní na vnější stranu membrány (24).

Lýza buňky komplementem vyžaduje vznik aktivního membránu atakujícího komplexu. Jaderné buňky ale obsahují ve své membráně proteiny způsobující rezistenci vůči komplementu. Inhibitory jsou i solubilní. Jde o: C1 inhibitor, CD55 (decay accelerating factor), CD46 (membrane cofactor protein) a CD59 (protectin). Zatím ale chybí jednoznačná data, že exprese těchto komplement – inhibujících bílkovin má význam pro klinickou odpověď na rituximab (24), přestože experimentální data by takové vazby mohla ukazovat (12). Komplement se může podílet na vedlejších účincích spjatých s infuzí (21), i když ne všechny práce toto potvrzují (4).

U některých protilátek, vážících se na povrch buněk, vede samotná vazba, ale bez přítomnosti kostimulačních signálů, k inhibici proliferace a k apoptóze. Jsou popsány rozmanité intracelulární signální změny, vzniklé po navázání CD20 protilátky: zvýšení intracelulárního kalcia, aktivace serin/threonin protein tyrosin kináz, zvýšení tyrozinové fosforylace, fosforylace fosfolipázy C gama a proteinkinázy C, aktivace kaspáz, inhibice syntézy DNA, zástava buněčného cyklu, translokace fosfolipidů buněčných povrchů a apoptóza. Přes tento výčet různých nitrobuněčných pochodů zatím není jasné, jak který přispívá k rezistenci nebo senzitivitě k rituximabu (24). Již po jedině terapeutické dávce rituximabu dojde k rychlému (do 3 dnů) a markantnímu (o více než 90 %) poklesu B lymfocytů v periferní krvi. Tyto se začínají znovu objevovat až po

90 dnech (22). Opakovaná terapeutická dávka vede k dlouhodobé depleci B lymfocytů, jejichž obnova v periferní krvi začíná až po 6 měsících. Koncentrace sérových imunoglobulinů však zůstávají stabilní. Koncentrace komplementu kolísá, ale není ve vztahu k toxicitě. Protilátky proti rituximabu vznikají výjimečně. Dochází ke kumulaci rituximabu v krvi; po čtvrté infuzi narůstají jeho maximální koncentrace i sérové poločasy (23). Sérový poločas byl po první dávce rituximabu 76,3 hodiny, ale po čtvrté dávce již 205,8 hodiny a rituximab byl v nízkých koncentracích detekovatelný u některých nemocných ještě po 3 i 6 měsících po skončení léčby (1). Toxicita opakovaných dávek je nízká, poklesy v krevním obraze nejsou časté a běžná laboratorní vyšetření jsou stabilní (23). Rituximab byl zatím zkoušen dominantně u nemocných s relapsem folikulárního lymfomu, ale zdá se, že se rýsuje celá řada dalších indikací. Většina lymfomů majících svůj původ v B lymfocytární řadě strukturu CD20 exprimuje. V této souvislosti se samozřejmě také nabízí využití rituximabu pro léčbu pacientů s chronickou lymfatickou leukémií (CLL).

Teoretické zdůvodnění využití rituximabu pro léčbu pacientů s CLL

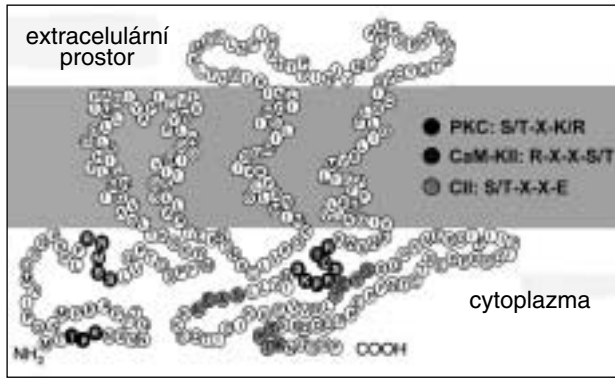
CLL je **nejčastěji se vyskytující** formou leukemie v naší zemi a také v západních zemích. Jde o onemocnění starších lidí, výskyt začíná prudce narůstat ve věkových skupinách nad 50 let (9, 19). Klinický průběh je chronický, nicméně progredující, s postupně narůstající orgánovou infiltrací leukemickými buňkami, s rozvojem infekčních komplikací, autoimunitních fenoménů anebo i transformací do agresivnějších lymfoproliferativních onemocnění. Pro CLL v současné době neexistuje standardní kurativní přístup. Na druhé straně, existuje celá škála paliativních léčebných postupů. Proto je volba správné terapie mimořádně důležitá. Iniciální stádia se zpravidla neléčí, nemocní jsou jen sledováni a léčba se zahajuje až v případě progresu. Existují dvě základní skupiny léků účinných u CLL v monoterapii: alkylační látky (zvláště chlorambucil a cyklofosfamid) a purinová analoga (fludarabin, cladribin a 2'-deoxykoformycin). Aktivní jsou také kortikoidy (19). Kromě toho je používána řada kombinovaných chemoterapeutických postupů, zahrnujících kromě výše uvedených látek také vinkristin a antracykliny (19). Vzhledem k nevléčitelnosti CLL konvenčními postupy jsou nemocní v průběhu choroby léčeni zpravidla více režimy a více cytostatiky. Po selhání jednoho postupu se zpravidla volí postup jiný, ale efekt může být i s opakovaným podáním téže léčby (19).

Velký problém představují nemocní, u nichž předchází cytostatická léčba vyčerpala dřevnou rezervu, nemocní mající masivní infiltraci kostní dřevě leukemickými buňkami, a také pacienti, kteří mají závažné, život ohrožující infekční komplikace, kontraindikující podávání imunosupresivních látek (zejména kortikoidů a purinových analog). Přitom takoví nemocní mohou být jinak v celkem uspokojivém stavu. Pro lékaře i pro pacienty samotné je pak mimořádně nesnadné a frustrující rozhodování, jak dál v léčbě pokračovat. Zde se nabízí použití necytostatického léčebného postupu, podání anti-CD20 monoklonální protilátky, rituximabu, který je v podstatě netoxický. O této léčbě u jiných typů lymfoproliferací jsme již referovali (25).

Imunofenotyp CLL a rituximab

Tomuto tématu bylo věnováno více prací. Většina nemocných má typický nález, ale existují výjimky, které mohou způsobovat i diferenciálně diagnostické rozpaky. Podle studie již starší, která analyzovala imunofenotyp u 540 nově diagnostikovaných nemocných, se na maligních buňkách typicky nacházejí tyto markery: **CD5, IgM, IgD, CD20, CD21, CD22, CD23** (10). Naprostá minorita nemocných byla CD5 negativní. Z hlediska použití rituximabu u pacientů s CLL je závažná otázka **exprese CD20 na maligních lymfocytech**. Velmi podrobně se tomuto problému věnovalo několik prací. CD20

Obr. 1. Struktura CD20 a její uložení v buněčné membráně. Podle: Riley J. K., Sliwkowski M. X, 2000.



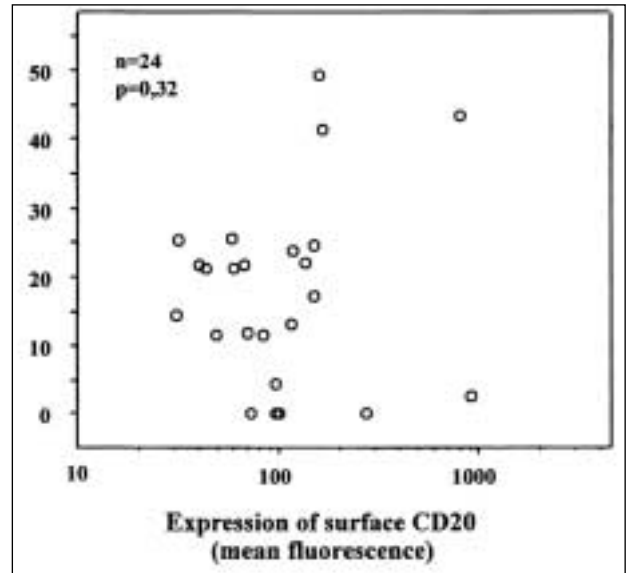
je antigenní struktura charakterizující diferenciaci do B řady. Začíná být exprimována ve stádiu pre-B buněk. Jakmile se ale B buňky diferencují do buněk plazmatických, exprese CD20 klesá a plazmatické buňky tuto strukturu neexprimují. CD20 je neglykosylovaný fosfoprotein s 297 aminokyselinami, který prochází čtyřikrát buněčnou membránou (31). Jen malá část proteinu je extracelulárně, viz obrázek 1. Na buněčné membráně je CD20 v těsném kontaktu s dalšími molekulami, jako je CD40 a struktury hlavního histokompatibilního systému II. třídy. Funkce CD20 není zcela známa, ale zdá se, že se podílí na aktivaci B buněk, regulaci buněčného růstu a transmembránového přenosu Ca (31). Je zajímavé, že u CD20 defektních myši se nepozoroval žádný defekt v B buňkách. Strukturu CD20 v jejich funkcích asi mohou nahradit jiné proteiny.

Na zdravých B buňkách byla zjištěna hodnota antigenní denzity $149 \pm 10 \times 10^3$ na buňku (2). Ve srovnání se zdravými B buňkami, ale i s jinými lymfoproliferacemi B řady, byla zjištěna u CLL snížená exprese CD20. Nicméně mezi různými nemocnými s CLL existují velké rozdíly v expresi CD20. Tefferi et al. (33) zjistili expresi slabou, střední a silnou u 62%, 12% a 26% nemocných. Intenzita exprese nekorelovala s dalšími klinickými známkami choroby, ale ani s odpovědí na léčbu a přežitím. Přestože autoři neudávají bližší podrobnosti o terapii, z doby publikace se lze domnívat, že nemocní nebyli léčeni rituximabem. Co je dále zajímavé, je fakt, že u CLL může být exprese CD20 různá u maligních buněk nacházejících se v různých kompartmentech. Huh et al. (17) zjistili, že buňky CLL v kostní dřeni a lymfatických uzlinách měly ještě nižší expresi CD20, než buňky v periferní krvi.

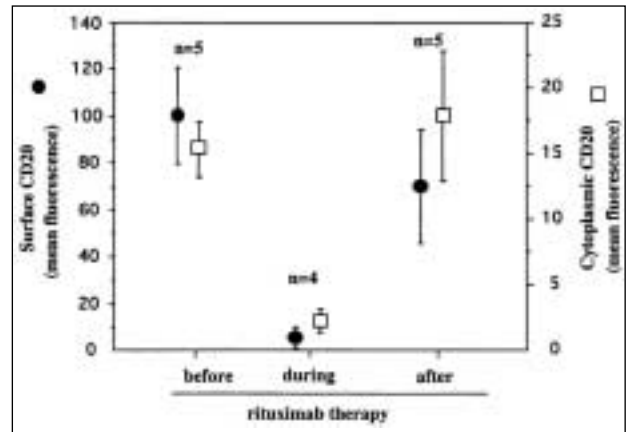
Mimofádně závažná je otázka efektu rituximabu na denzitu CD20 molekul na povrchu buněk CLL, a také otázka eventuelní možnosti selekce CD20 negativních buněk po léčbě rituximabem. Data o těchto problémech nejsou nijak hojná. Byla provedena velmi zajímavá studie (29). Lýza leukemických buněk in vitro v přítomnosti rituximabu nebyla závislá na denzitě CD20 molekul na povrchu leukemických buněk (viz obrázek 2). Během léčby rituximabem docházelo ke snížení exprese povrchového, ale i cytoplazmatického CD20 a po léčbě docházelo zase ke zvýšení exprese (viz obrázek 3). To se odráželo na proměnné senzitivě leukemických buněk k lýze rituximabem in vitro (obrázek 4). Autoři zjistili, že změny v denzitě CD20 byly způsobeny změnami v množství mRNA pro CD20 v buňkách. Během léčby nedocházelo k selekci jiných klonů leukemických buněk, jak bylo zjištěno analýzou oblasti CDR3 IgH.

Z jiné experimentální práce se ale zdá, že denzita CD20 na povrchu buněk má vztah na intenzitu lýzy těchto buněk protilátkou anti-CD20 (12). Data z této práce jsou na obrázku 5. Rozdíl mezi výsledky této práce a práce uvedené výše může být ve více faktorech. Svoji roli může hrát i koncentrace rituximabu užitá in vitro. Zatímco Golay et al. použili koncentraci rituximabu 10 µg/ml, Pickartz et al. použili koncentraci

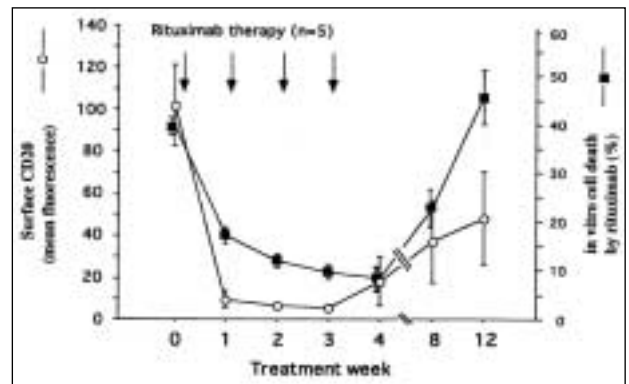
Obr. 2. Vztah mezi lýzou leukemických buněk CLL a denzitou CD20 struktury exprimované na povrchu buněk. Podle Pickartz et al., 2001.



Obr. 3. Vztah mezi intenzitou membránového CD20 (plná kolečka) a cytoplazmatického CD20 (prázdné čtverečky) během léčby rituximabem u buněk CLL. Podle Pickartz et al., 2001.



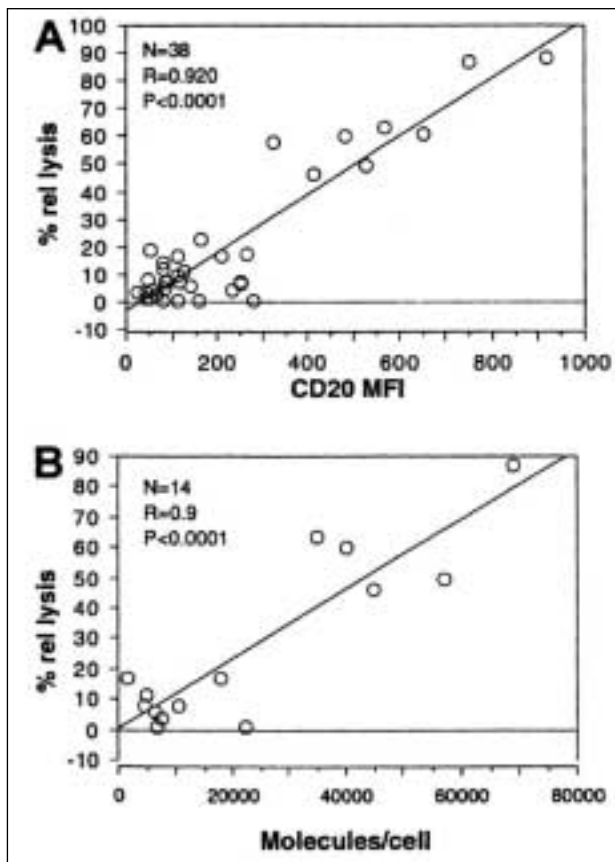
Obr. 4. Exprese CD20 na povrchu leukemických buněk CLL během léčby rituximabem a in vitro lýza buněk rituximabem. Podle Pickartz et al., 2001.



300 µg/ml. Obojí je v pásmu hodnot, které mohou být dosaženy v klinice (4, 22).

Bylo také zjištěno, že CD20 se může vyskytovat v plazmě. Ve velmi nízké koncentraci je přítomen i u zdravých lidí, u nemocných s CLL jeho hladina koreluje s prognózou. U pacientů

Obr. 5. Vztah mezi lýzou leukemických buněk CLL a densitou CD20 struktury exprimované na povrchu buněk. Podle Golay et al., 2001



s koncentrací nad 1300 molekul/ml je prognóza horší. Solubilní CD20 možná může s rituximabem tvořit komplexy a tím zhoršovat jeho léčebné účinky. Tato oblast vyžaduje další výzkumy (20).

První zkušenosti s rituximabem u CLL/SLL

První data pocházejí ze studií u nemocných s ne-Hodgkinovými lymfomy. Do těchto studií byli také zahrnuti **nemocní s SLL**, lymfomem z malých lymfocytů, který je jakousi lokalizovanou variantou CLL. Z těchto studií se zdá, že SLL reagoval na konvenční dávkování rituximabu ve srovnání s jinými typy lymfomů méně. Také studie s CLL, kde byl podáván rituximab v obvyklém dávkování, ukázovaly **nižší léčebné odpovědi**. Podrobněji jsou data uvedena v tabulce 1.

Vzhledem k tomu, že rituximab tedy může být u CLL méně účinný, než u jiných typů lymfomů z B buněk, je potřeba u této malignity zvolit jiný přístup. Menší účinnost může souviset s nižší expresí struktury CD20. Objevily se dva přístupy, jak

dávku rituximabu zvýšit. První **eskaluje dávku** v její absolutní výši (28), druhý v čase frekventnějším podáváním (4). Podívejme se na tato data blíže.

Eskalace dávky vyšla z toho, že v případech anti-CD20 protilátky nejde o klasické cytostatikum a ve studii fáze I vlastně nebylo dosaženo klasické „dose-limiting toxicity“ (22). O'Brien et al. (28) referují o 50 nemocných s B buněčnými malignitami (z toho 40 s CLL), kteří dostali jako první dávku rituximab 375 mg/m², ale další dávky byly 500, 650, 825, 1000, 1500 a 2250 mg/m². Nemocný, zařazený do určité kategorie dávky dostal další 3 dávky identické v této výši v týdenních intervalech. Všichni nemocní s CLL již byli nějakou jinou terapií léčeni. Výskyt vedlejších reakcí po první dávce rituximabu byl vysoký, 94%, nicméně většinou se jednalo o třesavku a horečku nevelké intenzity. Další dávky již byly tolerovány dobře. Vyšší výskyt vedlejších účinků se objevoval až při nejvyšší dávce (horečka, třesavka, nauzea a slabost). Nicméně, ani zde se nevyskytovaly vedlejší reakce závažného stupně.

U nemocných s CLL bylo dosaženo 36% léčebných odpovědí a jednalo se vždy o PR (NCI kritéria). Byl jednoznačný vztah mezi procentem léčebných odpovědí a dávkou léku: při nejvyšším dávkování bylo dosaženo až 75% léčebných odpovědí. Refrakternita k fludarabinu znamenala pravděpodobnost nižší léčebné odpovědi na rituximab. Medián trvání léčebné odpovědi byl 8 měsíců.

Byrd et al. (4) zahrnuli do své studie 33 pacientů s CLL, kteří již buďto byli nějak léčeni (většina), nebo sice dosud žádnou léčbu nedostávali, ale chemoterapie byla z různých důvodů kontraindikovaná. Před každým podáním rituximabu byla podávána premedikace diphenhydramin a acetaminophen. První dávka rituximabu byla vždy 100 mg, další dávky budto 250 mg/m² nebo 375 mg/m². Bylo podáno celkem 12 dávek v průběhu 3 týdnů, tedy obvyklý časový interval co se týká celkové délky podávání, ale dávky byly podávány frekventněji, ne jednou, ale třikrát týdně. Léčebná odpověď byla hodnocena podle NCI kritérií.

Vedlejší účinky léčby (rigor, horečka, hypotenze, dušnost, nauzea, zvracení) se většinou vyskytovaly jen u prvních dvou infuzí a nebyly závažné. Vyjímkou byl jeden starší nemocný v celkově nedobrému stavu, s trombocytopenií a na antikoagulační léčbě pro žilní trombózu, který zemřel za příznaků hemoptýzy a respiračního selhání. Všichni nemocní, kteří měli problémy při druhé infuzi, měli také určité potíže při první dávce. Potíže při druhé infuzi byly ale mírnější. Hematologická toxicita byla mírná, přechodná a většinou jen během prvního týdne. Byly pozorovány trombocytopenie a neutropenie, ale tyto parametry se potom zlepšovaly a to dokonce často i nad hodnoty patrné před léčbou. Hodnoty inflamatorních cytokinů IL-6, IL-8, TNF- α a INF- γ byly po infuzi rituximabu vyšší než před ní. U nemocných, u nichž se vyskytly klinické problémy spjaté s infuzí, byly ale vzestupy cytokinů dramaticky vyšší. Po infuzi docházelo také k poklesu aktivity komplementu, což bylo vyjádřeno hodnotami CH50 a C3. Toto ale nebylo v korelaci s výskytem klinických příznaků spjatých s infuzí. Během

Tabulka 1. Léčebné odpovědi u pacientů s SLL/CLL na podání rituximabu v obvyklém dávkování 375 mg/m² i.v. ve dny 1, 8, 15 a 22.

Autoři studie; diagnózy	Počet nemocných	Léčebná odpověď	Poznámka
Hainsworth et al. (16); SLL	15	PR+CR 57%. Podobná také u folikulárních lymfomů (52% z 25 pacientů). Celkově jen 2 CR u všech lymfomů	Pacienti bez jakékoliv předchozí léčby
Foran et al. (8); SLL	28	14% PR, 0% CR. Nižší léčebná odpověď u SLL než u jiných lymfomů	Předléčení nemocní.
Maloney et al. (23); SLL	4	PR+CR 0%. Léčebné odpovědi u jiných histologických kategorií	Předléčení nemocní.
McLaughlin et al. (26); SLL	30	PR+CR 13%. Významně nižší léčebná odpověď než u folikulárních lymfomů	Předléčení nemocní
Mayer et al. (25); SLL	11	PR 55%, CR 9%	Předléčení nemocní
Huhn et al. (18); CLL	28	25% PR podle NIH kritérií, medián trvání 16 týdnů	Předléčení nemocní

všech 12 infuzí rituximabu docházelo postupně ke zvyšování koncentrací léku v krvi. Ty dosahovaly po 12. infuzi ve skupině léčené dávkou 375 mg/m² hodnot 891 ± 332 µg/ml. Celková léčebná odpověď po podání rituximabu u 29 hodnotitelných nemocných byla 52% (14 PR a 1 CR). Jen u 3 pacientů choroba progredovala, u ostatních došlo alespoň k její stabilizaci. Medián trvání léčebné odpovědi byl 10 měsíců. Denzita CD20 na povrchu maligních buněk z periferní krve nekorelovala s odpovědí na léčbu.

Další data o rituximabu u nemocných s CLL

Rituximab a komplikace CLL

Bylo referováno o úspěšném využití rituximabu pro léčbu **čisté aplázie červené řady** (pure red cell aplasia, PRCA). Ghazal (11) popisuje případy dvou nemocných, jejichž krevní obraz se po tomto léku zlepšil. V prvním případě se jednalo o nově diagnostikované onemocnění, ve druhém k PRCA došlo po léčbě fludarabinem. Jiná léčba PRCA, jako cyklosporin A, kortikoidy, erythropoetin a intravenózní imunoglobuliny nevedly k úspěchu.

Je popsán také efekt rituximabu u **Evansova syndromu** (32).

Rituximab v kombinaci s jinými látkami

Rituximab nemá toxické vedlejší účinky známé u cytostatik. Je účinný u CLL, ale také nepovede k jejímu vyléčení. Nabízí se tedy možnost kombinovat rituximab s jinými látkami účinnými u CLL a docílit tak vysoké účinnosti režimu s relativně malou toxicitou. Dosud bylo popsáno několik takových kombinací.

Rituximab a fludarabin. Tento režim byl testován ve složení (5):

- fludarabin 25 mg/m²/den, dny 1-5, opakováno po 28 dnech
- rituximab 375 mg/m²/den, dny 1 a 4 u 1. chemoterapie, jen den 1 u 2. – 6. chemoterapie
- rituximab 375 mg/m² 4 dávky s odstupem 1 týdně 2 měsíce po ukončení chemoterapie.

Nutno podotknout, že jedna skupina nemocných dostávala rituximab a fludarabin s následným podáváním rituximabu, kdežto druhá skupina jen fludarabin a následně rituximab. První varianta léčebného schématu se zdála účinnější, se 100 % léčebných odpovědí a 48 % kompletních remisí. Data byla ale zatím publikována jen ve formě abstraktu.

Rituximab, fludarabin a cyklofosfamid. Tento režim, označovaný jako **FCR**, dosahoval nevídaných léčebných úspěchů. Podáván byl v následujícím schématu u 135 nově diagnostikovaných nemocných:

- fludarabin 25 mg/m²/den dny 2-4 u 1. chemoterapie a dny 1-3 u 2. – 6. chemoterapie
- cyklofosfamid 250 mg/m²/den dny 2-4 u 1. chemoterapie a dny 1-3 u 2. – 6. chemoterapie
- rituximab 375 mg/m² den 1 u 1. chemoterapie a 500 mg/m² den 1 u 2. – 6. chemoterapie.

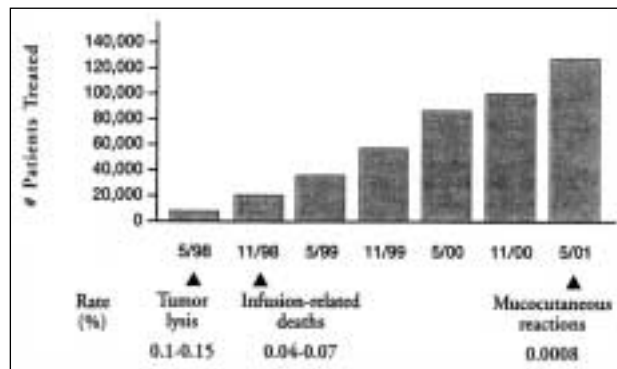
Léčebná odpověď byla hodnocena podle náročných NCI kritérií. Léčba byla velmi dobře tolerována a 76% pacientů dokončilo všech 6 léčebných kúr. Kompletní remise bylo dosaženo v 67% případů. Neutropenie pod 0,5.10⁹/l se vyskytovala ve 31 % chemoterapií. Těžká trombocytopenie a závažné komplikace byly velmi zřídka. Co je mimořádně zajímavé a důležité, v 58% testovaných případů bylo dosaženo i molekulární remise. Na podkladě těchto dat se zdá, že FCR je dosud nejúčinnějším režimem používaným u CLL.

Rituximab, cyklofosfamid a kortikoidy. Režim, nazvaný **RCD**, je podáván v následujícím složení (15, 30):

- rituximab 375 mg/m² den 1
- cyklofosfamid 750 - 1000 mg/m² den 2
- dexamethason 12 mg/den, dny 1-7. Podáváno ve 4 týdenních odstupech do dosažení maximální léčebné odpovědi.

Režim je aktivní i u hemolýzy při CLL (30). Ze 22 velmi předléčených pacientů dosáhlo 8 remise podle NCI kritérií. Léčba byla účinná i v případě relapsu po první léčebné kúře RCD. Začínají se také testovat kombinace **rituximab a pentostatin**

Obř. 6. Zkušenosti s rituximabem stran bezpečnosti od jeho schválení v r. 1997 po květen 2001, kdy bylo léčeno asi 125 000 nemocných. Podle Grillo-López et al., 2002.



(7) a **rituximab a alemtuzumab** (27). Podrobnější data ale zatím nejsou k dispozici.

Závažné toxické reakce popsané po rituximabu

Přestože rituximab není cytostatikum, můžeme se po jeho podání setkat s řadou vedlejších reakcí. Mnohé jsou dobře zdokumentované, jejich mechanismus vzniku byl zmiňován výše a souvisí zpravidla s podáním první dávky léku a aktivací imunitního systému. Jde hlavně o teplotu, třesavku, event. pokles krevního tlaku a dušnost. Tyto reakce jsou popsány v příbalovém letáku k léku, je snaha je minimalizovat podáním premedikace a řízením rychlosti podávání léku. Zde se zmíníme o některých závažnějších nebo neobvyklých situacích. Jejich výskyt je zobrazen na obrázku 6.

Syndrom akutní lýzy tumoru/a nebo masivního cytokinového uvolnění (cytokine-release syndrome).

Byrd et al. (3) popsali 5 případů nemocných s různými B buněčnými malignitami, kteří měli rozsáhlou masu tumoru (cirkulující nádorové buňky v krvi i adenopatie nebo organomegalie), u nichž došlo po podání první dávky rituximabu k syndromu charakterizovanému těžkými reakcemi při infuzi, trombocytopenií, rychlým mizením nádorových buněk z krve, mírnými laboratorními známkami syndromu lýzy tumoru a u jednoho nemocného dokonce vznikl ascites. Ve 4 případech bylo možné v léčbě rituximabem pokračovat bez dalších závažnějších vedlejších efektů. Vzhledem k tomu, že klinický obraz neměl zcela typický charakter fulminantního rozpadu nádorových buněk např. doprovázený i selháním ledvin, je pravděpodobné, že celý stav byl spíše způsoben prudkým uvolňováním cytokinů. Autoři proto doporučují u pacientů, kde lze předpokládat vznik tohoto syndromu, začít léčbu malou dávkou rituximabu (100 mg) a teprve potom pokračovat v klasickém dávkování.

Na podobný klinický syndrom stav upozorňují i Winkler et al. (34). Závažné vedlejší účinky (horečka, třesavky, nauzea, zvracení, hypotenze, dušnost) se vyskytovaly zvláště u pacientů s leukocyty nad 50.10⁹/l. Byly u nich také zjištěny vysoké koncentrace TNF α a Il-6. Během 12 hodin po podání rituximabu došlo k dramatickému poklesu lymfocytů a trombocytů a objevila se elevace jaterních enzymů, D-dimerů, LD a prolongace protrombinového času. Autoři proto doporučují frakcionované podání rituximabu: 1. den 50 mg, 2. den 150 mg a 3. den zbytek do celkové dávky 375 mg/m².

V souvislosti s podáváním rituximabu bylo zcela **ojediněle popsáno i několik úmrtí** (14). Např. Byrd et al. (4) popisují 73letého nemocného s CLL po předchozích terapiích alkylačními látkami a fludarabinem, s trombocytopenií, v klinicky nevalném stavu a na terapii nízkomolekulárním heparinem pro hlubokou žilní trombózu. Během první infuze rituximabu se objevila hypoxémie, dušnost a tachykardie. Stav se přechodně zlepšil, ale pacient nakonec zemřel za příznaků progredující dušnosti a hemoptýzy. Úmrtí popisují i Huhn et al. (18) u 65letého nemocného s CLL, leukocytózou 274.10⁹/l, u něhož se do 10 hodin po

podání rituximabu rozvinulo multiorganové selhání s renální insuficiencí, hyperkalémií a nakonec srdeční zástavou.

Je tedy evidentní, že rituximab může u některých velmi rizikových nemocných, zvl. s velmi vysokými koncentracemi maligních buněk v krvi způsobit syndrom akutní lýzy tumoru a nebo syndrom masivního uvolnění cytokinů. Oba tyto stavy, ten či onen a nebo v kombinaci, mohou být potencionálně smrtelné. Po rituximabu byly popsány i **kožní reakce**. Jsou velmi vzácné a jejich vazba na tento lék není zcela stoprocentní. Kliniky se projevují jako paraneoplastický pemfigus, Stevens-Johnson syndrom a toxická epidermální nekrolýza (14). Vznik byl popsán v rozmezí 1-13 týdnů po aplikaci léku a s touto kožní reakcí byly dávány do souvislosti i úmrtí.

Závěr

Rituximab je jistě obohacením našich léčebných možností u nemocných s CLL. Nevykazuje vůbec toxické reakce, které jsou zcela běžné po cytostaticích, neboť i jeho mechanismus účinku je zcela odlišný od působení cytostatik. Jeho použití je možné i tam, kde je vyčerpána dřevňová rezerva po předchozí cytostatické opakované léčbě. Nižší léčebnou odpověď po standardních dávkách lze zvýšit eskalací dávek rituximabu. U nemocných s vysokým počtem cirkulujících nádorových buněk je vhodné napřed podat dávku menší a předejít tak syndromu akutní lýzy tumoru. Intenzivně se studuje kombinace rituximabu s cytostatiky a jeho podávání v časnějších stádiích choroby.

Literatura

- Berinstein N. L., Grillo-López A. J., White C.A. et al.: Association of serum rituximab (IDEC-C2B8) concentration and anti-tumor response in the treatment of recurrent low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Ann. Oncol.* 9, 1998, s. 995-1001.
- Bikoue A., George F., Poncelet P. et al.: Quantitative analysis of leukocyte membrane antigen expression: normal adult values. *Cytometry* 26, 1996, s. 137-147.
- Byrd J. C., Waselenko J. K., Maneatis T. J. et al.: Rituximab therapy in hematologic malignancy patients with circulating blood tumor cells: association with increased infusion-related side effects and rapid blood tumor clearance. *J. Clin. Oncol.* 17, 1999, s. 791-795.
- Byrd J. C., Murphy T., Howard R. S., Lucas M. S., Goodrich A. et al.: Rituximab using a thrice weekly dosing schedule in B-cell chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma demonstrates clinical activity and acceptable toxicity. *J. Clin. Oncol.* 19, 2001, s. 2153-2164.
- Byrd J. C., Peterson B., Park K. et al.: Rituximab added to fludarabine improves response in previously untreated chronic lymphocytic leukemia: preliminary results from CAaLGB 9712. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 20, 2001, abstract No. 1116.
- Cartron G., Dacheux L., Salles G. et al.: Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor Fc γ IIIa gene. *Blood* 99, 2002, s. 754-758.
- Drapkin R.: Pentostatin and rituximab in the treatment of patients with B-cell malignancies. *Oncology* 14, 2000, Suppl. 2, s. 25-29.
- Foran J. M., Rohatiner A. Z. S., Cunningham D. et al.: European phase II study of rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) for patients with newly diagnosed mantle-cell lymphoma and previously treated mantle-cell lymphoma, immunocytome, and small B-cell lymphocytic lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 18, 2000, s. 317-324.
- Geryk E., Kolcová V.: Epidemiologie. In: Mayer J., Starý J.: *Leukemie*. Grada, Praha 2002, s. 22-30.
- Geisler C. H., Larsen J. K., Hansen N. E. et al.: Prognostic importance of flow cytometric immunophenotyping of 540 consecutive patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 78, 1991, s. 1795-1802.
- Ghazal H.: Successful treatment of pure red cell aplasia with rituximab in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 99, 2002, s. 1092-1094.
- Golay J., Lazzari M., Fachchinetti V. et al.: CD20 levels determine the in vitro susceptibility to rituximab and complement of B-cell chronic lymphocytic leukemia: further regulation by CD55 and CD59. *Blood* 98, 2001, s. 3383-3389.
- Grillo-López A. J.: Rituximab: An insider's historical perspective. *Semin. Oncol.* 27, 2000, No 6, Suppl. 12, s. 9-16.
- Grillo-López A. J., Hedric E., Rashford M., Benyunes M.: Rituximab: ongoing and future clinical development. *Semin. Oncol.* 29, 2002, Suppl. 2, s. 105-112.
- Gupta N. K., Kavuru S., Patel D. V. et al.: Long-term results from a monthly regimen of rituximab, cyclophosphamide, and dexamethasone in advanced chronic lymphocytic leukemia. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 21, 2002, abstract No 1098.
- Hainsworth J. D., Burris H. A., Morrissey L. H. et al.: Rituximab monoclonal antibody as initial systemic therapy for patients with low-grade non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 95, 2000, s. 3052-3056.
- Huh Y. O., Keating M. J., Saffer H. L. et al.: Higher levels of surface CD20 expression on circulating lymphocytes compared with bone marrow and lymph nodes in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 116, 2001, s. 437-443.
- Huhn D., von Schilling C., Wilhelm M. et al.: Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 98, 2001, s. 1326-1331.
- Kalil N., Cheson B. D.: Management of chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs Aging* 16, 2000, s. 9-27.
- Keating M. J., O'Brien S., Albitar M.: Emerging information on the use of rituximab in chronic lymphocytic leukemia. *Semin. Oncol.* 19, 2002, Suppl. 2, s. 70-74.
- Kolk L. E., van der, Grillo-López A. J., Baars J. W. et al.: Complement activation plays a key role in the side-effects of rituximab treatment. *Brit. J. Haematol.* 115, 2001, s. 807-811.
- Maloney D. G., Liles T. M., Czerwinski D. K. et al.: Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 84, 1994, s. 2457-2466.
- Maloney D. G., Grillo-López A. J., White C. A. et al.: IDEC-C2B8 (rituximab) anti CD-20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 90, 1997, s. 2188-2195.
- Maloney D. G., Smith B., Rose A.: Rituximab: mechanism of action and resistance. *Semin. Oncol.* 29, 2002, No 1, Suppl. 2, s. 2-9.
- Mayer J., Navrátil M., Vášová I., Vorlíček J.: Necytostatická léčba malignit. Anti CD20 monoklonální protilátka (rituximab, Mabthera) v léčbě ne-Hodgkinových lymfomů. *Vnitřní lék.* 47, 2001, Suppl. 1, s. 57-61.
- McLaughlin P., Grillo-López A. J., Link B. K. et al.: Rituximab chimeric anti CD-20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J. Clin. Oncol.* 16, 1998, s. 2825-2833.
- Nabhan C., Tallman M. S., Riley M. B. et al.: Phase I study of rituximab and Campath 1-H in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 98, 2001, No 11, abstract No 1536.
- O'Brien S. M., Kantarjian H., Thomas D. A. et al.: Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 19, 2001, s. 2165-2170.
- Pickartz T., Ringel F., Wedde M. et al.: Selection of B-cell chronic lymphocytic leukemia cell variants by therapy with anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. *Exp. Hematol.* 29, 2001, s. 1410-1416.
- Rai K. R., Gupta N. K., Janson D. et al.: Rituximab, cyclophosphamide and decadron combination is highly effective in auto-immune hemolytic anemia associated with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 96, 2000, No 11, abstract No 3264.
- Riley J.K., Sliwkowski M. X.: CD20: a gene for search of a function. *Semin. Oncol.* 2000, 27, No 6 Suppl. 12, s. 17-24.
- Seipelt G., Bohme A., Koschmieder S., Hoelzer D.: Effective treatment with rituximab in a patient with refractory prolymphocytoid transformed B-chronic lymphocytic leukemia and Evans syndrome. *Ann. Hematol.* 80, 2001, s. 170-173.
- Tefferi A., Bartholmai B.J., Witzig T.E. et al.: Heterogeneity and clinical relevance of the intensity of CD20 and immunoglobulin light-chain expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 106, 1996, s. 457-461.
- Winkler U., Jensen M., Manzke O. et al.: Cytokine-release syndrome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia and high lymphocyte counts after treatment with anti CD-20 monoclonal antibody (rituximab, IDEC-C2B8). *Blood* 94, 1999, s. 2217-2224.

POTŘEBUJEME RADIOTERAPII V LÉČBĚ HODGKINOVY CHOROBY?

RADIOTHERAPY IN THE TREATMENT OF HODGKIN'S DISEASE – DO WE NEED IT AT ALL?

FELTL D.

RADIOTERAPEUTICKÁ A ONKOLOGICKÁ KLINIKA 3.LF UK, FN KRÁLOVSKÉ VINOHRADY, PRAHA.

Souhrn: Úvod: Postavení radioterapie (RT) v léčbě Hodgkinovy choroby prochází v posledních letech rozsáhlou revizí. Dříve suverénní kurativní metoda je dnes chápána spíše jako pouhý doplněk kombinované chemoterapie a objevují se dokonce úvahy, zda se bez ní nelze obejít úplně. Přinášíme souhrn současné pozice radioterapie a perspektivy jejího dalšího vývoje v této indikaci. **Výsledky: Časná stadia** – samostatná radioterapie dosahuje excelentních hodnot celkového přežití, ale s poměrně vysokým procentem relapsů. Iniciální krátká chemoterapie s následnou RT je více než plnohodnotnou alternativou. **Intermediární stadia** – po úvodní chemoterapii dosahuje involved-field RT stejných výsledků jako extended-field a proto se jednoznačně preferuje. **Pokročilá stadia** – z hlediska radioterapie nejproblematičtější. Kromě ozáření finálního rezidua po chemoterapii je pravděpodobně možno od radioterapie zcela upustit. **Starší pacienti** – prognosticky i léčebně samostatná skupina. Radioterapie zde hraje klíčovou roli pro své krátké trvání a nízkou toxicitu. **Závěr:** S výjimkou pacientů v pokročilém stadiu v kompletní remisi po chemoterapii zůstává radioterapie nepostradatelnou léčebnou modalitou Hodgkinovy choroby.

Klíčová slova: Hodgkinova choroba – radioterapie – involved-field

Summary: Introduction: The role of radiotherapy in the treatment of Hodgkin's disease has been redefined in recent years. This historically first curative method is nowadays increasingly accepted as a mere complement to combination chemotherapy and some medical oncologists even contemplate about omitting it completely. We summarize the current position of radiotherapy and bring an insight into short-term perspectives. **Results: Early stages** – radiotherapy yields excellent overall survival rates, but with relatively high relapse rate. An initial short chemotherapy with involved-field RT is more than an equivalent alternative. **Intermediate stages** – after chemotherapy, involved-field RT shows no difference in both local control and overall survival in comparison with extended-field RT. Thus, the former approach is preferable. **Advanced stages** – the most problematic regarding the indication of radiotherapy. The only doubtless indication is a residual mass after chemotherapy. **Elderly patients** – prognostically and therapeutically separate subgroup. Radiotherapy has got a key role thanks to its short duration and minimal toxicity. **Conclusion:** Radiotherapy remains an important part of the treatment of Hodgkin's disease except some selected advanced-stage patients.

Key words: Hodgkin's disease – radiotherapy – involved field

Úvod

Hodgkinova choroba je poměrně vzácnou malignitou s roční incidencí cca. 1-3 případy na 100 000 obyvatel^{1,2}. Radioterapie (RT) se v její léčbě používá již druhé století a jedná se o historicky první kurativní léčebnou metodu. Za časů ortovoltáže byla aplikace plné kurativní dávky možná pouze na povrchově uložená ložiska – krk, axilly, inguiny. S nástupem megavoltážních zdrojů do klinické praxe však přestalo být dosažení dostatečné hloubkové dávky problémem a radioterapie tak dramaticky změnila prognózu tohoto původně stoprocentně fatálního onemocnění. Paralelně probíhající nástup užívání cytostatik v onkologii prokázal značnou chemosenzitivitu choroby, tehdy nazývané „maligní lymfogramulom“. Až do poloviny 90. let byla pozice obou léčebných modalit naprosto vyrovnaná – u časných stadií dominovala velkoobjemová radioterapie, ve stadiích pokročilejších pak kombinace chemoterapie s radioterapií. Poslední léta jsou však ve znamení velkého rozmachu chemoterapie, rozvoje nových dávkových i časově intenzivních schémat (Stanford V, BEACOPP aj.) a přesunu chemoterapie i do léčby časných stadií. Současně je zřetelný trend ke snižování dávek a zmenšování objemů radioterapie. Tento vývoj bývá často interpretován jako „ústup od radioterapie“ a začínají se objevovat úvahy, zda se bez radioterapie nelze obejít úplně.

Cílem publikace je shrnout současnou pozici radioterapie v léčbě Hodgkinovy choroby při důsledném respektování principů evidence-based medicine. Postavení radioterapie bude pro-

bráno postupně pro časná, intermediární a pokročilá stadia. Ambicí autora není podrobně rozebírat dělení do stadií podle prognostických faktorů, je však poctivě zmínit, že toto dělení není zcela bezproblémové a mezi nejvýznamnějšími studijními skupinami nepanuje úplná shoda. Zcela samostatně jsou pak probráni starší pacienti, protože strategie i taktika jejich léčby se podstatně liší.

Zásadním tématem je rovněž určení rozsahu ozařovaného objemu. Pojem „involved field“ (IF) zná sice každý radioterapeut, ale jeho exaktní definice zůstává nepřekonatelným problémem. Přitom se jedná o problém naprosto klíčový, který v radioterapii nemá u jiné diagnózy v takové míře obdoby – těžko si lze představit, že by se například u bronchogenního karcinomu vedly desetileté debaty o tom, co vlastně ozařovat. Souhrn výsledků konsenzuálních setkání předních radioterapeutů budou proto tvořit podstatnou součást tohoto přehledného článku. Krátce budou zmíněny i méně konfliktní témata z hlediska taktiky radioterapie – výše jednotlivé a celkové dávky. Při dělení do stadií vycházíme z klasifikace Ann Arbor 1971³.

Výsledky

Časná stadia („early“ dle německé DHSG, „early favourable“ dle EORTC)

- *stadia I a II bez rizikových faktorů (B-symptomy, bulk >5 cm, extranodální postižení, postižení více než 2 skupin uzlin, sedimentace erytrocytů nad 50 mm/hod)*

Po dlouhá léta byla zlatým standardem samostatná radioterapie a vedly se spíše debaty o jejím rozsahu. Původní subtotální nodální ozáření (STNI) začalo ustupovat ve prospěch samostatné mantle-field techniky⁴ a dokonce pouhé involved-field radioterapie^{5,6}. Bylo prokázáno, že ozáření redukovánými objemy sice mírně zhoršuje bezpříznakové období (event-free-survival EFS či freedom-from-treatment-failure FTF), ale nemá vliv na celkové přežití (overall survival OS) a to při podstatně nižší toxicitě léčby^{6,7}. Celkové přežití zůstává na excellentních hodnotách přesahujících 90%. Relapsy po samostatné radioterapii jsou totiž velmi dobře léčitelné konvenční chemoterapií⁸.

Vysoké procento relapsů po samostatné radioterapii⁹⁻¹² vedlo některé skupiny k úvaze, zda by se těmto relapsům nedalo zabránit krátkou indukční chemoterapií s následným ozářením involved-field¹³. Tato hypotéza se potvrdila poprvé v malé italské studii¹⁴, poté ji prokázala rozsáhlá mezinárodní metaanalýza¹⁶ a nyní nově obrovská německá studie HD7 (dosud nepublikovaná data). Procento relapsů v ramenech s kombinovanou léčbou bylo menší než 5%, zatímco v rameni se samostatnou extended-field radioterapií kolem 20%, celkové přežití je stejné. Tento přístup je proto možno považovat za nový standard v léčbě časných stadií Hodgkinovy choroby.

Samostatná chemoterapie byla u časných stadií opakovaně testována, ale její srovnání se samostatnou radioterapií nedopadlo dobře¹⁵, navíc počet pacientů v souborech (většinou retrospektivních) dosahuje maximálně několika desítek¹⁷.

Středně pokročilá stadia („intermediate“ dle DHSG, „early unfavourable“ dle EORTC)

- *stadia I a II s rizikovými faktory, stadium IIB s extranodálním nebo bulky postižením je řazeno mezi pokročilá*

Samostatnou radioterapii je u středně pokročilých stadií možno jednoznačně a definitivně prohlásit na undertreatment¹²⁻¹⁴, u všech pacientů je indikována kombinovaná chemoterapie s následnou radioterapií. Ponecháme-li stranou diskuse o nevhodnějším schématu chemoterapie, které přesahují rámec tohoto článku, zbývá nám problém velikosti cílového objemu po chemoterapii. Srovnání extended-field a involved-field radioterapii po 4 sériích ABVD neprokázalo žádný signifikantní rozdíl mezi oběma rameny¹³ a můžeme tedy zodpovědně prohlásit, že involved-field techniky jsou plně dostačující pro kontrolu případné reziduální choroby.

Pokusy nahradit kombinovanou léčbu samotnou chemoterapií doposud pokaždé ztroskotaly - studií je málo, soubory čítají vesměs jen pár desítek pacientů a v současné době není samostatná chemoterapie testována v žádné z větších prospektivních randomizovaných studií.

Pokročilá stadia („advanced“ dle DHSG i EORTC)

- *vybraná stadia IIB, stadia III a IV*

Klíčovou úlohu v léčbě pokročilých stadií hraje intenzivní kombinovaná chemoterapie¹⁸⁻²³. Léčebná odpověď pak rozhoduje o dalším postupu – při progresi je pochopitelně namístě záchranná léčba, u parciální remise je jednoznačně indikována radioterapie reziduální populace, sporná je však indikace radioterapie u pacienta v kompletní remisi. Soudilo se, že nejrizikovějšími z hlediska relapsu jsou místa původního bulky postižení a proto se indikovala radioterapie na tyto lokality i u pacienta v kompletní remisi²⁰. Zdá se však, že současná intenzivní chemoterapeutická schemata tento rizikový faktor minimalizují či přímo anulují¹⁹. Některé skupiny (francouzská GELA a EORTC) proto již iniciální bulk nepovažují za indikaci konsolidační radioterapie²⁴, jiné (německá DHSG) uvedený přístup teprve testují (nepublikovaná data). Velmi pravděpodobně se tedy bude úloha radioterapie v léčbě pokročilých stadií Hodgkinovy choroby dále redukovat na ozáření rezidua u pacientů v parciální remisi po chemoterapii.

Starší pacienti („elderly“)

- *většinou pacienti starší 60 let*

Starší pacienti představují ve skupině nemocných s Hodgkinovou chorobou zcela samostatnou podskupinu²⁵, podobně jako pacienti pediatričtí. Tento dříve mnohými vysmívaný přístup dnes zcela převažuje²⁶⁻²⁹. Starší pacienti mají typicky vyšší stadia choroby, méně příznivé histologické subtypy a především podstatně horší toleranci kurativní terapie²⁶⁻²⁹. Z těchto důvodů se dává přednost méně toxické léčbě a zachování přijatelné kvality života i za cenu nižšího procenta kompletních remisí. Radioterapie hraje v léčbě starších pacientů naprosto klíčovou roli právě pro své krátké trvání a nízkou toxicitu. Doporučují se techniky involved-field, ale na rozdíl od mladších pacientů neexistuje optimální léčebná strategie, protože nemáme k dispozici žádné výsledky prospektivních randomizovaných studií. Doposud publikované retrospektivní studie se však vesměs shodují na výše uvedených faktech²⁶⁻³¹. Na tomto místě je nutno vyzdvihnout progresivnost a předvídatost členů bývalého Hodgkinova týmu (Dienstbier/Zámečník), kteří šetrný postup u pacientů nad 60 let věku prosazovali již od počátku existence týmu a současná doba jim dává plně zapravdu.

Co je involved field?

Dva nejvýznamnější američtí radioterapeuti zabývající se maligními lymfomy, Richard Hoppe ze Stanfordu a Joachim Yahalom z MSKCC v New Yorku, rozeslali v loňském roce třiceti předním klinikám v USA dotazník, v němž byly popsány kasuistiky Hodgkinovy choroby. Vyzvali kolegy ze spolupracujících pracovišť, aby popsali, jaký objem budou ozářovat, tj. co rozumí pod pojmem involved field. Výsledek nepřekvapil – rozptýl v definici involved-field radioterapie byl obrovský (osobní komunikace – nepublikováno). Nelze si namlouvat, že v Evropě je situace lepší, spíše naopak. Proto bylo nutné iniciovat workshopy, které hledaly odpověď na otázku uvedenou jako nadpis tohoto odstavce. Největší z nich se konal 22.9.2001 v rámci „5-th International Symposium on Hodgkin's Lymphoma“ v Kolíně n.R. Stoprocentní shody dosaženo nebylo, ale byl zaznamenán velký pokrok v chápání pojmu „involved field“ a konsensus zní následovně:

1. Ačkoli se očekával opak, kladou techniky involved field na lékaře paradoxně vyšší nároky než velkoobjemové techniky, protože se jedná o asymetrické objemy s častým a mnohdy velmi komplikovaným vykrytím.
2. Z bodu 1 vyplývá, že by tyto techniky měl plánovat pouze velmi zkušený radiční onkolog dokonale obeznámený se všemi aspekty terapie Hodgkinovy choroby a s původním rozsahem onemocnění před zahájením chemoterapie.
3. Při respektování bodů 1 a 2 je pak možno ozářovat pouze lokality **skutečně postižené** („patologický IF“) a není nadále nutno se držet anatomických struktur a hranic („anatomický IF“).
4. Optimální, ale nikoli nutný, je software pro 3D plánování a možnost multi-leaf kolimace svazku. To však platí v radioterapii obecně.

Dávka, čas, frakcionace

Výše jednotlivé dávky a tím i celková doba léčby jsou relativně nekonfliktními tématy. Časový faktor nehraje v radioterapii Hodgkinovy choroby prakticky žádnou roli – to je fakt známý již přes 30 let³². Jednotlivá dávka je v Evropě tradičně 1,8 – 2 Gy, v USA se někde setkáváme s jednotlivou dávkou 1,5 Gy. Jde o nepodstatný rozdíl vzhledem k vysoké radiosenzitivitě a minimální repulaci maligních lymfomů. Diskuse ohledně celkové aplikované dávky je podstatně relevantnější. Donedávna se akceptovalo následující schéma:

samostatná radioterapie 36 Gy, v kombinaci s chemoterapií 30 Gy, lokality s bulky postižením 40 Gy. V posledních letech se však ukazuje, že je možné dávku záření dále snižovat bez negativního ovlivnění léčebných výsledků³³.

Pro samostatnou radioterapii nadále platí kurativní dávka 36 Gy za 3,5–4 týdny za zlatý standard^{4,5,8}. Z průběžných analýz právě končících studií DHSG HD10-12 vyplývá, že po chemoterapii dostačuje na místa původního bulku 30 Gy stejně jako na finální reziduum (u pokročilých stadií bude pravděpodobně možno zcela vynechat ozáření původního bulku). U časných a intermediárních stadií se dokonce testovalo snížení dávky až na 20 Gy, běžných v terapii pediatrické Hodgkinovy choroby³⁴, ale na zhodnocení tohoto snad až příliš odvážného experimentu si budeme muset ještě minimálně tři roky počkat.

Závěr

Rekapitulace současného postavení radioterapie v léčbě Hodgkinovy choroby a její doporučené užití mimo klinické studie:

Časná stadia

- iniciální krátká chemoterapie + involved-field RT 30 Gy, nebo
- samostatná radioterapie mantle (nebo obrácené Y) 36 Gy

Intermediární stadia

- iniciální chemoterapie + involved-field RT 30 Gy

Pokročilá stadia

- intenzivní chemoterapie + RT reziduální choroby 30 Gy

Literatura

1. Salar A., Fernandez de Sevilla A., Romagosa V. *et al.* Distribution and incidence rates of lymphoid neoplasms according to REAL classification in a single institution. A prospective study of 940 cases. *Eur J Haematol.* 1997 Oct;59(4):231-7.
2. Glaser SL. Regional variation in Hodgkin's disease incidence by histologic subtype in the US. *Cancer.* 1987 Dec 1;60(11):2841-7.
3. Smithers DW. Summary of papers delivered at the Conference on Staging of Hodgkin's disease (Ann Arbor). *Cancer Res.* 1971 Nov;31(11):1869-70.
4. Backstrand KH, Ng AK, Takvorian KV *et al.* Results of a prospective trial of mantle irradiation alone for selected patients with early-stage Hodgkin's disease. *J Clin Oncol.* 2001 Feb 1;19(3):736-41.
5. Mendelhall NP. The role of radiation in the management of Hodgkin's disease: an update. *Cancer Invest.* 1999;17(1):47-55.
6. Horwitz SM, Horning SJ. Advances in the treatment of Hodgkin's lymphoma. *Curr Opin Hematol.* 2000 Jul;7(4):235-40.
7. Vlachaki MT, Ha CS, Hagemester FB *et al.* Long-term outcome of treatment for Ann Arbor stage I Hodgkin's disease: patterns of failure, late toxicity and second malignancies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997 Oct 1;39(3):609-16.
8. Horwich A, Specht L, Ashley S. Survival analysis of patients with clinical stages I or II Hodgkin's disease who have relapsed after initial treatment with radiotherapy alone. *Eur J Cancer.* 1997 May;33(6):848-53.
9. Zinzani PL, Barbieri E, Gherlinzoni F, *et al.* Radiotherapy in early stage Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma.* 1994 Apr;13(3-4):285-9.
10. Barton M, Boyages J, Crennan E. *et al.* Radiation therapy for early stage Hodgkin's disease: Australasian patterns of care. Australasian Radiation Oncology Lymphoma Group. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995 Jan 15;31(2):227-36.
11. O'Brien PC, Roos DE, Willson K. Radiotherapy alone for early stage Hodgkin's disease: a 16 year experience at the Royal Adelaide hospital. *Australas Radiol.* 1994 Nov;38(4):305-9.
12. Glimelius B, Kalkner M, Engblad G. *et al.* Treatment of early and intermediate stages of supradiaphragmatic Hodgkin's disease: the Swedish National Care Programme experience. Swedish Lymphoma Study Group. *Ann Oncol.* 1994 Nov;5(9):809-16.
13. Josting A., Diehl V. Early-stage Hodgkin's disease. *Curr Oncol Rep* 3(3): 279-84, 2001.
14. Brusamolino E, Lazzarino M, Orlandi E, *et al.* Early-stage Hodgkin's disease: long-term results with radiotherapy alone or combined radiotherapy and chemotherapy. *Ann Oncol.* 1994;5 Suppl 2:101-6.
15. Biti GP, Cimino G, Cartoni C, *et al.* Extended-field radiotherapy is superior to MOPP chemotherapy for the treatment of pathologic stage I-IIA Hodgkin's disease: eight-year update of an Italian prospective randomized study. *J Clin Oncol.* 1992 Mar;10(3):378-82.
16. Specht L, Gray RG, Clarke MJ. Influence of more extensive radiotherapy and adjuvant chemotherapy on long-term outcome of early-stage Hodgkin's disease: a meta-analysis of 23 randomized trials involving 3,888 patients. International Hodgkin's Disease Collaborative Group. *J Clin Oncol.* 1998 Mar;16(3):830-43.
17. Ruiz-Arguelles GJ, Gomez-Almaguer D, Apreza-Molina MG. Chemotherapy alone may be an efficient alternative in the treatment of early stage Hodgkin's disease if optimal radiotherapy is not available. *Leuk Lymphoma.* 1997 Sep;27(1-2):179-83.
18. Horwitz SM, Horning SJ. Advances in the treatment of Hodgkin's lymphoma. *Curr Opin Hematol.* 2000 Jul;7(4):235-40.
19. Carde P, Cavalli F, Deihl V, Franklin J: Treatment of advanced Hodgkin's disease: is there a standard therapy? *The Hematology Journal* 2000;1:282-290.
20. Horning SJ, Hoppe RT, Breslin S, *et al.* Stanford V and radiotherapy for locally extensive and advanced Hodgkin's disease: mature results of a prospective clinical trial. *J Clin Oncol.* 2002 Feb 1;20(3):630-7.
21. Hancock BW, Gregory WM, Cullen MH, *et al.* ChlVPP alternating with PABIOE is superior to PABIOE alone in the initial treatment of advanced Hodgkin's disease: results of a British National Lymphoma Investigation/Central Lymphoma Group randomized controlled trial. *Br J Cancer.* 2001 May 18;84(10):1293-300.
22. Marková J., Kočová J., Malinová B., Střiteský J., Feltl D., Diehl V.: Léčba Hodgkinovy choroby podle protokolu Německé studijní skupiny. Naše zkušenosti a výsledky. *Vnitřní lékařství* 2000;46(4):225-231.
23. Marková J., Kočová J., Malinová B., Střiteský J., Feltl D., Diehl V.: Význam intenzity dávky chemoterapie v léčbě pokročilých stadií Hodgkinovy choroby. *Klinická onkologie* 2000;13(2):62-65.
24. Brice P, Colin P, Berger F, *et al.* Advanced Hodgkin disease with large mediastinal involvement can be treated with eight cycles of chemotherapy alone after a major response to six cycles of chemotherapy: a study of 82 patients from the Groupes d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte H89 trial. *Cancer.* 2001 Aug 1;92(3):453-9.
25. Clarke CA, Glaser SL, Prehn AW. Age-specific survival after Hodgkin's disease in a population-based cohort (United States). *Cancer Causes Control.* 2001 Nov;12(9):803-12.
26. Greil R.: Prognosis and management strategies of lymphatic neoplasias in the elderly. Part II: Hodgkin's disease. *Oncology* 1998, 55:265-275.
27. Walker A, Schoenfeld ER, Lowman JT, Mettlin JT, MacMillan J, Grufferman S: Survival of the older patient compared with the younger patient with Hodgkin's disease. Influence of histologic type, staging and treatment. *Cancer* 1990, 65:1635-1640.
28. Erdkamp FL, Breed WP, Bosch LJ, Wijnen JT, Blijham GB: Hodgkin's disease in the elderly. *Cancer* 1992, 70:830-834.
29. Guinee VF, Giacco GG, Durand M, van der Blink JW, Gustavsson A, McVie JG, Zewuster R, Dische S, Fahey T, Lane W: The prognosis of Hodgkin's disease in older adults. *J Clin Oncol* 1991, 9:947-953.
30. Eghbali H, Hoerni-Simon G, de Mascarel I, Durand M, Chauvergne J, Hoerni B: Hodgkin's disease in the elderly: A series of 30 patients aged older than 70 years. *Cancer* 1984, 53:2191-2193.
31. Feltl D., Vitek P., Zámečník J.: Hodgkinova choroba u starších pacientů – méně znamená více. *Klinická onkologie* 2000;13(3):88-91.
32. Landberg T, Forslo H. Radiosensitivity of mediastinal lymphomas in Hodgkin's disease treated with split-course radiotherapy. A retrospective study. *Acta Radiol Ther Phys Biol.* 1970 Jun;9(3):177-89.
33. Duehmke E, Franklin J, Pfreudschuh M, *et al.* Low-dose radiation is sufficient for the noninvolved extended-field treatment in favorable early-stage Hodgkin's disease: long-term results of a randomized trial of radiotherapy alone. *J Clin Oncol.* 2001 Jun 1;19(11):2905-14.
34. Hamilton VM, Norris C, Bunin N, *et al.* Cyclophosphamide-based, seven-drug hybrid and low-dose involved field radiation for the treatment of childhood and adolescent Hodgkin disease. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2001 Feb;23(2):84-8.

IRINOTEKAN/CISPLATINA JAKO CHEMOTERAPIE II.LINIE V LÉČBĚ METASTATICKÉHO ADENOKARCINOMU ŽALUDKU A GASTROEZOFAGEÁLNÍ JUNKCE – PILOTNÍ STUDIE

IRINOTECAN/CISPLATIN IN THE SECOND LINE CHEMOTHERAPY OF METASTATIC GASTRIC AND GASTROESOPHAGEAL JUNCTION ADENOCARCINOMA – PILOT STUDY

KOCÁKOVÁ I., ŠPELDA S., KOCÁK I., GALOVÁ M., VETCHÁ H., KOVÁŘOVÁ M., LAKOMÝ R., ČAŇKOVÁ L., ZVARÍKOVÁ M.

KLINIKA KOMPLEXNÍ ONKOLOGICKÉ PÉČE, MOU, BRNO

Souhrn: Dosud nelze stanovit jednoznačný standard chemoterapie pokročilého karcinomu žaludku. Na základě synergismu mezi irinotekanem a cisplatinou byla navržena chemoterapie 2. linie. Režim se skládal z cisplatinu 80 mg/m², D1 a irinotekanu 200 mg/m² D2, v intervalu 21 dnů. Indikační kritéria byla následující: histologicky verifikovaný pokročilý adenokarcinom žaludku nebo gastroezofageální junkce, předcházející podání 1. linie chemoterapie, PS 0-2, přiměřené hematologické a biochemické parametry, žádná známá kontraindikace k podání cisplatinu. 13 pacientů, 8 mužů, 5 žen, medián věku 49 let (27-58), bylo předléčeno chemoterapií skládající se z etoposidu, leukovorinu a 5-fluorouracilu. Průměrný počet podaných cyklů irinotekan/cisplatinu byl 3 (1-7). Z 12 hodnotitelných pacientů bylo u 1 pacienta dosaženo kompletní remise onemocnění, u 4 pacientů parciální remise, stabilizace onemocnění u 6 pacientů a progresse onemocnění u 1 pacienta. Čas do progresse onemocnění byl vyhodnocen u 7 pacientů, medián 4,5 měsíců (2-7,5). Pacient s dosaženou kompletní remisí žije 17 měsíců bez známek recurence. Toxicita byla přijatelná. Neutropenie G3/4 byla zaznamenána u 6 pacientů, jedenkrát s epizodou febrilní neutropenie. Gastrointestinální nežádoucí účinky byly mírné. Nebylo zaznamenáno úmrtí v souvislosti s léčbou. Chemoterapeutický režim se jeví efektivním s mírnými nežádoucími účinky.

Klíčová slova: adenokarcinom žaludku, metastatické onemocnění, paliativní chemoterapie, irinotekan, cisplatin

Summary: There is no standard for the chemotherapy of advanced gastric cancer. Due to supposed synergism between irinotecan and cisplatin the regimen for 2nd line treatment was designed: cisplatin 80 mg/m², D1, irinotecan 200 mg/m² D2 every 21 days. The indication criteria were as follows: histologically verified gastric cancer or the cancer of gastroesophageal junction, one prior chemotherapeutic regimen, PS 0-2, adequate hematological and biochemical parameters, no other contraindication for cisplatin. 13 patients, 8 males, 5 females, a mean age 49 years (27-58), all pretreated with chemotherapy consisted of etoposide, leucovorine, 5-fluorouracil. Median number of cycles was 3 (1-7). 12 patients were evaluable for the response and adverse effects. CR was reached in 1 patient, PR in 4, SD in 6 and PD during therapy occurred in 1 patient. Time to progression has been evaluated in 7 patients who had progressed so far. The median is 4.5 months (2-7.5). One patient with complete response has been living 17 months so far with no signs of recurrence. Neutropenia G 3/4 developed in 6 patients with 1 episode of febrile neutropenia. Gastrointestinal adverse effects were mild. There was no death related to therapy. Chemotherapy appears to be effective with mild toxicity.

Key words: gastric adenocarcinoma, metastatic disease, palliative chemotherapy, irinotecan, cisplatin

ÚVOD

Karcinom žaludku má v České republice podle statistických údajů stoupající prevalenci. Počet nemocných na 100 000 obyvatel činil k 31.12. 1989 34,2 mužů a 26,0 žen, k 31.12. 1996 41,2 mužů (nárůst o 20,5%) a 34,0 žen (nárůst o 30,8%). Incidence karcinomu žaludku byla v r. 1997 u mužů 7,5 a u žen 1,5/100 000 obyvatel (1). V 95% případů se jedná histologicky o adenokarcinomy. Prognóza tohoto maligního onemocnění je špatná (pětileté přežití 5-15%). Důvodem je jednak nárůst incidence proximálně lokalizovaných nádorů agresivnější povahy, jednak vysoký podíl onemocnění diagnostikovaných až v pokročilém stádiu. Jedinou léčbou s kurativním cílem je chirurgická resekce, tj. široká resekce primárního nádoru s resekcí okrajů ≥ 5 cm (R0). Až u 80% nemocných po provedené „kurativní gastrektomii“ je následně zjištěn lokální či regionální relaps nebo vzdálená diseminace. Přibližně 50% pacientů má metastatické onemocnění již v době stanovení diagnózy (2). Čtyři randomizované studie prokázaly efekt paliativní chemoterapie (zlepšení kvality života, prodloužení přežití) ve srovnání jen s podpůrnou léčbou (3-6). Medián přežití neléčených pacientů s metastatickým karcinomem žalud-

ku je 3 měsíce, u pacientů léčených paliativní systémovou chemoterapií se prodlužuje na 6-9 měsíců.

Protinádorovou aktivitu prokázal 5 fluorouracil (5-FU), mitomycin (7), etoposid (8) a cisplatin (9). North Central Cancer Therapy Group (NCCTG) srovnávala účinnost kombinovaného režimu FAM (5-FU/doxorubicin/mitomycin) s režimem 5-FU a doxorubicin versus monoterapie 5-FU. Ačkoliv procento léčebných odpovědí při užití monoterapie bylo nižší než při kombinované léčbě, polychemoterapie zásadním způsobem nezlepšovala přežití pacientů (10). Navzdory počtu proběhlých randomizovaných klinických studií srovnávaných režim FAM s FAMTX (5-FU/doxorubicin/methotrexat), FAMTX s ECF (epirubicin/cisplatin/5-FU) a FAMTX versus ELF (etoposid/leukovorin/5-FU) nebo 5-FU/cisplatinu nelze stanovit jednoznačný standard chemoterapie pokročilého karcinomu žaludku (11-13).

Přehled nejčastěji užívaných cytostatik a kombinovaných režimů jako chemoterapie 1. linie je uveden v tabulce č.1 a 2 (14). V praxi k nejvíce užívaným cytostatikům patří 5-fluorouracil (5-FU) a cisplatin (cDDP). Synergním účinkem těchto dvou látek je dosahováno >40% léčebných odpovědí (15,16). Pro-

tinádorovou aktivitu prokázala i řada nových cytostatik, zejména taxany, irinotekan a UFT (kombinace uracilu a tegafuru). Irinotekan (CPT-11), inhibitor topoizomerázy I, je konvertován karboxylesterázou na aktivní metabolit SN-38. V preklinických studiích prokázal protinádorovou aktivitu u širokého spektra solidních nádorů, zejména to jsou bronchogenní nádory, karcinomy kolorekta, žaludku, jícnu, pankreatu a ovaria (17,18). U pacientů s karcinomem žaludku nepředléčených chemoterapií prokázal v monoterapii 20% léčebných odpovědí a 15% odpovědi ve 2. linii (19).

Tabulka č. 1: Monoterapie v léčbě metastatického adenokarcinomu žaludku (De Vita, Hellman, Rosenberg. Principles & Practise Of Oncology 6th edition 2001).

Monoterapie	Počet vyhodnotitelných pacientů	Léčebné odpovědi %
UFT	188	28
Irinotekan	66	23
Docetaxel	123	21
5-fluorouracil	416	21
Cisplatina	139	19
Paklitaxel	98	17
Metotrexat	28	11
Karboplatina	41	5

Tabulka č. 2: Kombinovaná chemoterapie v léčbě metastatického adenokarcinomu žaludku (De Vita, Hellman, Rosenberg. Principles & Practise of Oncology 6th edition 2001).

Kombinovaná chemoterapie	Počet vyhodnotitelných pacientů	Léčebné odpovědi %	Medián přežití (měsíce)
VP16-DOX-DDP (EAP)	173	53	6-9
5FU-VP16-LV (ELF)	51	53	11
5FU-DOX-MTX (FAMTX)	364	41	3,5-10,5
5FU-DOX-cDDP (FAP)	234	34	6-13
5FU-DOX-MMC (FAM)	456	30	6-9
VP16-cDDP	69	18	4,5
FAM-BCNU	41	12	6

Zkratky: VP16 = Etoposid, DOX = Doxorubicin, cDDP = Cisplatina, 5FU = 5-fluorouracil, MTX = Metotrexat, MMC = Mitomycin, BCNU = Carmustin

Tabulka č. 3: Přehled publikovaných studií fáze I,II kombinace irinotekan/cisplatina v léčbě metastatického karcinomu žaludku a jícnu.

studie fáze I,II	N pac	terapeutický režim	RR	TTP	medián přežití	neutropenie G3, 4	průměr G3, 4
Shirao (ref. 25)	24	CPT-11:70 mg/m ² den 1, 8 cDDP:80 mg/m ² den 1 int. 4 týdny	42%	neudán	287 dnů	G3: 44%	G3: 11%
Boku (ref. 26)	44	CPT-11:70 mg/m ² den 1, 8 cDDP:80mg/m ² den 1 int. 4 týdny	48%	118 dnů (41-253)	309 dnů	G4: 22%	G3,4:7%
Ilson (ref. 27)	35	CPT-11:55-65 mg/m ² den 1, 8, 15, 22 cDDP:30mg/m ² den 1, 8, 15, 22 int. 6 týdnů	57%	neudán	14,6 měsíců	G3,4: 46%	G3: 11%
Ilson (ref.28)	18	CPT-11:55-65 mg/m ² den 1, 8, 15, 22 cDDP:30mg/m ² den 1, 8, 15, 22 int. 6 týdnů	33%	neudán	neudán	G3,4: 33%	neudán
Ajani (ref.29)	38	CPT-11:65 mg/m ² den 1, 8, 15, 22 cDDP:30mg/m ² den 1, 8, 15, 22 int. 6 týdnů	58%	24 týdnů	9 měsíců (1-23)	G3,4: 45%	G3,4: 42%

Cisplatina, alkylační látka, tradičně užívaná v léčbě nádorů horního gastrointestinálního traktu prokázala in vitro v kombinaci s irinotekanem synergistickou aktivitu, zejména je-li aplikována před irinotekanem nebo SN-38 (20,21). Přesný mechanismus tohoto synergistického efektu nebyl vysvětlen. Masumoto a Fukuda v experimentálních preklinických modelech prokázali, že tento efekt je nejmarkantnější, je-li SN-38 podáno za 1-2 dny po cisplatině (22,23). Klinické studie fáze I a II kombinace irinotekanu a cisplatinu prokázaly protinádorovou aktivitu jako chemoterapie 1. a 2. linie v léčbě karcinomu žaludku (19,24-30).

CÍL PRÁCE A METODIKA

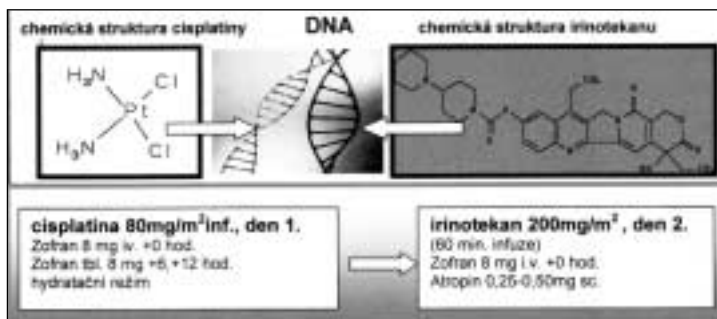
Vyhodnocení efektivity (objektivní odpovědi, RR), času do progresu (TTP), přežití (OS) a toxicity sekvenčního režimu cisplatinu, irinotekan v třítydenním intervalu jako chemoterapie 2.linie u pacientů s metastatickým adenokarcinomem žaludku a gastroezofageální junkce (GEJ). Do protokolu klinického sledování bylo dosud zařazeno 13 pacientů, kteří splňovali následující vstupní kritéria:

- histologicky verifikovaný adenokarcinom žaludku a gastroezofageální junkce
- klinické stadium IV (minimálně jedna měřitelná léze dle CT nebo rtg vyšetření)
- progresse onemocnění při chemoterapii režimem ELF
- věk 18–65 let
- ECOG performance status: 0–2
- hematologické parametry: neutrofilů >2x10⁹/L, trombocyty > 100 x 10⁹/L
- biochemické parametry: bilirubin < 1,5násobek horní hranice normy, transaminasy (AST, ALT) < 2,5násobek horní hranice normy, clearance kreatininu > 60 ml/min.
- nepřítomnost aktivní infekce
- nepřítomnost městnavé srdeční slabosti, nestabilní anginy pectoris, infarktu myokardu v posledním roce, nekontrolovatelné hypertenze, závažné arytmie
- vyloučení rizika obstrukčního ileu
- předpoklad přežití minimálně 3 měsíce
- předpoklad spolupráce pacienta
- podpis informovaného souhlasu

Léčba, hodnocení toxicity a odpovědi na léčbu

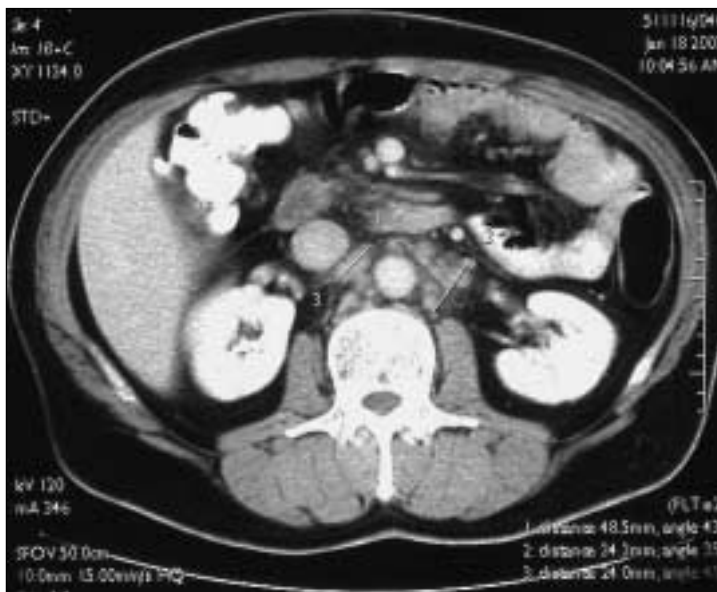
Do léčebného protokolu bylo dosud zařazeno 13 pacientů. Z prezentovaného souboru byla u 11 pacientů s metastatickým adenokarcinomem žaludku a gastroezofageální junkce zaznamenána progresse onemocnění v průběhu 1. linie chemoterapie kombinací ELF (etoposid 120 mg/m² iv., leukovorin 300 mg/m²

Obrázek č.1: terapeutické schéma kombinace cisplatina/irinotekan.



Obrázek č. 2: CT břicha, RP před zahájením léčby. Stav po resekci žaludku, v retroperitoneu patologické uzliny velikosti do 24 mm, splývající až na pakety, metastatický rozsev na omentu.

Nádorové markery: CEA: 16,8 ug/l (referenční meze do 4,6), CA 19-9: 15 686 kU/l (referenční meze do 37,0).



Obrázek č. 3: CT břicha, RP po skončení léčby. Nezvětšená homogenní játra bez ložiskových změn, densitně v normě. Slezina, nadledviny, ledviny, pankreas beze změn v CT obraze. Velikostní regrese uzlin retroperitonea ad normam, bez průkazu infiltrace omenta nebo peritonea.

Nádorové markery: CEA: 1,3 ug/l, CA 19-9: 17 kU/l.



iv, 5-fluorouracil 500 mg/m² iv, vše den 1.-3., interval 3-4 týdny dle hematologické toxicity). Medián podaných cyklů byl 3 (2-6). U dvou pacientů došlo k progresi základního onemocnění po chemoterapii 5-fluorouracil, doxorubicin, mitomycin a karboplatina podané mimoústavně.

Chemoterapeutický režim cisplatina/irinotekan byl podáván podle následujícího schématu: cisplatina 80 mg/m² den 1. s hydratací a podáním setronů, irinotekan v dávce 200 mg/m² den 2. s profylaktickým podáním atropinu, interval mezi cykly 3 týdny (obr.č.1). Před zařazením a v průběhu studie byly monitorovány základní hematologické a biochemické parametry, terapeutická odpověď byla hodnocena po 2-3 seriích chemoterapie dle nádorových markerů, CT a rtg vyšetření. (tab.č. 4). Toxicita byla hodnocena podle stupnice National Cancer Institute Common Toxicity Criteria. V případě hematologické toxicity druhého stupně a vyšší byl další cyklus chemoterapie odložen o týden do úplné restituce krevního obrazu, v případě opakované hematologické toxicity následovala redukce dávky irinotekanu o 25%.

Výsledky

V období od července 2001 do března 2003 bylo léčeno v rámci protokolu 13 pacientů, 8 mužů a 5 žen, medián věku 49 let (věkové rozmezí 27-58 let). Prezentovaný soubor představuje prognosticky velmi nepříznivou skupinu pacientů s progresí onemocnění v průběhu 1. linie paliativní chemoterapie. Se značnou agresivitou onemocnění koreluje i dominující histologický typ níže diferencovaného hlenotvorného karcinomu (10 pacientů) a masivní rozsah metastatické postižení (medián počtu metastatických lokalit 3, rozmezí 2-5, tab. č. 5). Stran terapeutické účinnosti a toxicity je hodnotitelných 12 pacientů, celkově bylo podáno 46 cyklů chemoterapie cisplatina/irinotekan, medián 3 (rozmezí 2-7).

Vyhodnocení efektivity režimu:

Dle zobrazovacích metod a dynamiky nádorových markerů jsme zaznamenali v jednom případě kompletní remisi onemocnění (CR). U čtyř pacientů bylo dosaženo parciální remise onemocnění (PR), stabilizace onemocnění (SD) byla konstatována u dalších šesti pacientů, v jednom případě byla zaznamenána progresie onemocnění. Celkově tak bylo dosaženo 42% léčebných odpovědí (tab. č. 6). Pacient s dosaženou CR je 17 měsíců od zahájení léčby, dosud bez známek relapsu onemocnění, s trvajícím normalizací nádorových markerů. U 3 pacientů s dosaženou stabilizací onemocnění dle CT vyšetření byla laboratorně zaznamenána v jednom případě normalizace, v druhém případě 50% pokles nádorových markerů, v jednom případě došlo k výrazné regresi ascitu. Čas do progresie onemocnění (TTP) lze dosud hodnotit u 7 pacientů, medián je 4,5 měsíce (rozmezí 2-7,5).

Vyhodnocení toxicity režimu:

V průběhu léčby nebyla u žádného pacienta zaznamenána v souvislosti s podávaným režimem život ohrožující toxicita nebo zhoršení PS. Předcházející paliativní chemoterapie režimem ELF byla provázena u všech pacientů totální alopecí. Nejčastějšími nežádoucími účinky chemoterapie irinotekan/cisplatina byla hematologická toxicita. Leukopenie 3. a 4. stupně se vyskytla u 6 z 12 hodnotitelných paci-

Tabulka č. 4: Přehled vyšetření před zahájením a v průběhu léčby režimem Irinotekan/cisplatina.

	vyšetření před zahájením chemoterapie	vyšetření před každým cyklem chemoterapie	vyšetření po každých 3 cyklech chemoterapie
anamnéza	X		
TNM klasifikace, histologie	X		
fyzikální vyšetření	X	X	X
performance status	X	X	X
symptomy	X	X	X
váha, povrch těla	X	X	X
hematologie (KO, diff, INR, aPTT)	X + KO, Diff. týdně	X	X
biochemie (ionty, JT, albumin, celk. bílkovina, clearance kreat.)	X	X	X
Tu markery (CEA, Ca 19-9, CA 125*)	X	X	X
EKG	X		je-li indikováno
Rtg plic	X		X
CT břicha ± pánve	X		X
RIN	X	X	X
další metody, pokud indikováno	X		
hodnocení léze	X		X
hodnocení toxicity	X	X	X

* provádíme při podezření či průkazu peritoneální diseminace

Tabulka č. 5: Charakteristika souboru pacientů léčených režimem irinotekan/cisplatina.

Pacient č.	Věk	Pohlaví	Lokalizace TU	Histologie	Počet cyklů ELF	Orgánové postižení	Počet cyklů iri/cDDP	Léčebná odpověď
1	51	M	G	nízce dif.	3	T, OM, LU	7	CR
2	39	Ž	G	nízce dif.	3	T, J, PER	3	SD
3	46	Ž	G	nízce dif.	3	T, PER, A, O	2	SD
4	52	M	GEJ	nízce dif.	3	T, J, LU	6	PR
5	58	M	G	nízce dif.	6	T, LU, S	3	PD
6	27	Ž	G	difuzní	2	P, LU, VLU	2	SD
7	67	M	G	nízce dif.	3	T, LU, P	2	SD
8	39	M	G	dif.scirhot	x	T, J, LU, A	3	SD
9	56	Ž	G	nízce dif.	3	T, LU, PER, O	6	PR
10	35	M	GEJ	kribriformní	2	T, LU, VLU	5	PR
11	49	M	GEJ	nízce dif.	3	T., J	1	NE
12	27	Ž	G	nízce dif.	xx	T, OM, O, A, LU	3, léčba pokračuje	PR
13	57	M	G	nízce dif.	3	T, OM, LU	3	SD

zkratky: M: muž, Ž: žena, G: žaludek, GEJ: gastroezofageální junctce, T: primární tumor, LU: regionální lymfatické uzliny, VLU: vzdálené lymfatické uzliny, P: plíce, J: játra, O: ovarium, A: ascites, OM: omentum, S: skelet, PER: peritoneum, CR: kompletní remise, PR: parciální remise, SD: stabilizace onemocnění, PD: progresse onemocnění, NE: nezhodnoceno

X: předchozí chemoterapie: 5-fluorouracil, doxorubicin, mitomycin a karboplatina

XX: předchozí chemoterapie: intraperitoneální aplikace karboplatiny

Tabulka č. 6: Efektivita a toxicita režimu irinotekan/cisplatina, hodnoceno u 12 pacientů.

Charakteristika souboru		Performance status (ECOG)	Léčebná odpověď:	Toxicita	
				hematologická	nehematologická
počet pacientů	13	PS 0: 4	CR: 1 PR: 4 SD: 6	anemie	nefrotoxicita:
věkové rozmezí	27-58 let			G1: 1 G2: 2 G3: 0 G4: 0	G1: 2 G2: 1 G3: 0 G4: 0
medián věku:	49 let			trombocytopenie:	nauzea/vomitu
počet MTS lokalit	2/1 3/8	PS 2: 2	PD: 1 NE: 1	G1: 3 G2: 0 G3: 0 G4: 0	G1: 2 G2: 4 G3: 0 G4: 0
počet pacientů	4/3 5/1			neutropenie:	průměr
				G1: 1 G2: 2 G3: 4 G4: 2	G1: 1 G2: 3 G3: 0 G4: 0

entů, v jednom případě šlo o febrilní neutropenii. U 6 pacientů (50%) byla podána 100% plánovaná dávka chemoterapie, z důvodu hematologické toxicity byla u 5 pacientů redukována dávka irinotekanu o 25%, pouze u 1 pacienta byla pro laboratorní (klinicky nevýznamné) zhoršení renálních funkcí provedena redukce dávky cisplatinu o 25%. V souvislosti s léčebným režimem se nevyskytla gastrointestinální toxicita 3. a 4. stupně. Podrobnější rozbor toxicity uvádí tab. č. 6.

Diskuse

Sekvenční, třítydenní režim cisplatin/irinotekan ve stejném dávkovacím schématu byl poprvé použit v našem ústavu již v září 1998, kdy v dostupné literatuře nebyly žádné zprávy o efektivnosti této kombinace. Režim byl použit jako chemoterapie 2. linie u pacienta s diagnózou nízce diferencovaného adenokarcinomu rekta, klinického stadia IV, intenzivně předléčeného kontinuálním 5-fluorouracilem. Na CT vyšetření bylo před zahájením této léčby patrné metastatické postižení jater a patologické uzliny retroaortální, paraaortální a interaortokavální, splývající v pakety, způsobující výrazný algický syndrom vyžadující aplikaci opioidů. Po šesti cyklech byla kombinovaná chemoterapie ukončena s efektem kompletní remise, normalizace nádorových markerů, vymizení algického syndromu a vzestupem hmotnosti o 8kg. Nebyla zaznamenána hematologická ani jiná toxicita. Teprve v únoru 2002 se objevuje článek japonských autorů hodnotící kombinaci týdně aplikace irinotekanu (60 mg/m²) a nízké dávky cisplatinu (6 mg/m²) u 11 pacientů s kolorektálním karcinomem refrakterním na podání 5-fluorouracilu. Touto kombinací bylo dosaženo 36% léčebných odpovědí (31).

Na našem pracovišti používáme u pacientů s metastatickým adenokarcinomem žaludku a gastroezofageální junkce v 1. linii nejčastěji chemoterapeutický režim ELF pro jeho relativně dobrou snášenlivost a možnost ambulantní aplikace, nebo cirkadiánně modulovaný režim s 5-fluorouracilem a cisplatinou (32,33).

Chemoterapie 2.linie v léčbě tohoto onemocnění není dosud definována. Protinádorová účinnost, prokazatelný synergismus, nezkřížená rezistence, rozdílný mechanismus účinku a rozdílné spektrum nežádoucích účinků irinotekanu a cisplatinu vytváří slibné předpoklady pro užití těchto cytostatik v léčbě metastatického adenokarcinomu žaludku.

V tabulce č.3 uvádíme efektivitu a toxicitu v literatuře publikovaných studií fáze I,II kombinace irinotekan/cisplatin v léčbě metastatického nebo lokálně pokročilého adenokarcinomu žaludku nebo GEJ. Ve většině případů se jednalo o chemoterapii 1.linie. V literatuře však dosud nebyla publikována tato kombinace v třítydenním a sekvenčním podání. V našem ačkoliv početně nevelkém souboru šlo u všech pacientů o chemo-

terapii 2. linie, přičemž 11 z 13 pacientů bylo předléčeno režimem ELF. U všech pacientů byla konstatována progresse onemocnění v průběhu chemoterapie 1. linie. Na značnou agresivitu onemocnění a chemorezistenci ukazuje vedle nepříznivého histologického typu nádoru (v drtivě většině případů nízce diferencovaný adenokarcinom) i skutečnost, že u dvou pacientů došlo k progresi onemocnění již po 2 seriích chemoterapie režimem ELF, u 8 pacientů po 3 cyklech. Pouze u 1 pacienta byla zaznamenána po 3 seriích chemoterapie dle zobrazovacích metod a nádorových markerů stabilizace onemocnění, po 6. serii však konstatována PD. Nezanedbatelnou skutečností je i fakt, že na rozdíl od výše prezentovaných studií, kdy měli pacienti jedno nebo maximálně dvě orgánová postižení, se pohyboval počet metastatických lokalit v našem souboru v rozmezí 2-5, medián 3. Přes všechny tyto nepříznivé parametry prokázal režim irinotekan/cisplatin vysoké procento léčebných odpovědí (RR:42%). Na poměrně vysoké hematologické toxicitě režimu se nejspíše velkou měrou podílí i kontinuální léčba pacientů, kdy interval mezi skočenou chemoterapií 1. linie a zahájením chemoterapie 2. linie se pohyboval jen mezi 3-5 týdny a kdy byla zaznamenána i častá myelotoxicita s nutností dávkové redukce nebo prodloužení intervalu mezi jednotlivými cykly ELF (neutropenie G2: 4 pacienti, neutropenie G3: 4 pacienti). Cisplatin vykazuje in vitro synergismus v kombinaci s irinotekanem, zejména je-li podána 24-48 hodin před aplikací irinotekanu. Tento synergismus sice nebyl jednoznačně vysvětlen, ale lze předpokládat následující mechanismy:

1. Protinádorový efekt cisplatinu je komplexní, kdy se předpokládá víceúrovňové působení. Vznikají aberantní vazby mezi řetězci DNA (intrastrand a interstrand cross links). Alkylací guaninových a adeninových bazí dochází k chybnému párování a změně struktury DNA, depurinace vede ke zlomům DNA. Existují důkazy o ovlivnění signálních buněčných drah kontrolujících růst, diferenciaci a stresovou odpověď buněk. Dochází ke zvýšené kumulaci buněk v G2 fázi buněčného cyklu. Nádorové buňky vystavené působení cisplatinu vykazují morfologické a biochemické známky apoptotické smrti.
2. Irinotekan působí specificky v G2 fázi buněčného cyklu a pravděpodobně brání reparačním pochodům cisplatinou indukovaného postižení DNA.

Závěr

Kombinovaná chemoterapie cisplatin/irinotekan vykázala u předléčených nemocných s generalizovaným karcinomem žaludku dobrou efektivitu bez výskytu závažné nebo život ohrožující toxicity. Režim považujeme za vhodnou paliativní chemoterapii.

Literatura

1. Edvard Geryk, Věra Kolcová, Vladimír Žáček: Trendy počtů onkologicky nemocných v České republice
2. Jemal A, Thomas A, Murray T, et al: Cancer statistics 2002. *CA Cancer J Clin* 52(1):23-47, 2002.
3. Murad AM, Santiago FF, Petroianu A, et al: Modified therapy with 5-fluorouracil, doxorubicin, and methotrexate in advanced gastric cancer. *Cancer* 72:37-41, 1993.
4. Pyrhonen S, Kuitunen T, Kouri M: A randomized, phase III trial comparing fluorouracil, epidoxorubicin and methotrexate (FEMTX) with best supportive care in non-resectable gastric cancer (abstract). *Ann Oncol* 3(suppl):12, 1992.
5. Glimelius B, Hoffmann K, Haglund U, et al: Initial or delayed chemotherapy with best supportive care in advanced gastric cancer. *Ann Oncol* 5:189-190, 1994.
6. Scheithauer W, Komek G, Zeh B, et al: Palliative chemotherapy versus supportive care in patients with metastatic gastric cancer. A randomized trial (abstract). Second International Conference on Biology, Prevention, and Treatment of GI Malignancy, p 68. Köln, Germany, 1995.
7. Comis R, Carter SK: Integration of chemotherapy into combined modality treatment of solid tumors. *Cancer Treat Rev* 1:221-238, 1974.
8. Kelsen DP, Magill G, Cheng E, et al: Phase II trial of etoposide (VP-16) in

the treatment of upper gastrointestinal malignancies (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1:96, 1982.

9. Lacave A, Izarzugaza I, Aparicio L, et al: Phase II clinical trial of cis-dichlorodiammineplatinum in gastric cancer. *Am J Clin Oncol* 6:35-38, 1983.
10. Cullinan SA, Moertel CG, Fleming TR, et al: A comparison of three chemotherapeutic regimens in the treatment of advanced pancreatic and gastric carcinoma: Fluorouracil vs fluorouracil and doxorubicin vs fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin. *JAMA* 253:2061-2067, 1985.
11. Wils JA, Klein HO, Wagener DJ, et al: Sequential high-dose methotrexate and fluorouracil combined with doxorubicin—a step ahead in the treatment of advanced gastric cancer: A trial of the Gastrointestinal Tract Cooperative Group. *J Clin Oncol* 9:827-831, 1991.
12. Webb A, Cunningham D, Scarffe JH, et al: Randomized trial comparing epirubicin, cisplatin, and fluorouracil versus fluorouracil, doxorubicin, and methotrexate in advanced esophagogastric cancer. *J Clin Oncol* 15:261-267, 1997.
13. Wilke H, Wils J, Rougier P, et al: Preliminary analysis of a randomized phase III trial of FAMTX versus ELF versus cisplatin/FU in advanced gastric cancer (GC) (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 14:206, 1995.
14. De Vita, Hellman, Rosenberg. Principles & Practice Of Oncology 6th edition 2001

15. Lacave AJ, Baron FJ, Anton LM et al. Combination chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil 5-day infusion in the therapy of advanced gastric cancer: a phase II trial. *Ann Oncol* 1991, 2: 751-754.
16. Rougier P, Ducreux M, Mahjoubi M et al. Efficacy of combined 5-fluorouracil and cisplatin in advanced gastric carcinomas. A phase II trial with prognostic factor analysis. *Eur J Cancer* 1994, 30A: 1263-1269.
17. Hsiang YH, Wu HY, Liu LF. Topoisomerases: Novel therapeutic targets in cancer chemotherapy. *Biochem Pharmacol* 37:1801-1802, 1988.
18. Lavelle F, Bissery MC, Andre S, et al: Preclinical evaluation of CPT-11 and its active metabolite SN-38. *Semin Oncol* 23:11-20, 1996.
19. Kambe M, Wakui A, Nakao I, et al: A late phase II study of irinotecan (CPT-11) in patients with advanced gastric cancers (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 12:198, 1996.
20. Masumoto N, Nakano S, Esaki T, et al: Sequence-dependent modulation of anticancer drug activities by 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin in an HST-1 human squamous carcinoma cell line. *Anticancer Res* 15:405-409, 1995.
21. Kano Y, Suzuki K, Akutsu M, et al: Effects of CPT-11 in combination with other anti-cancer agents in culture. *Int J Cancer* 50:604-610, 1992.
22. Masumoto N, Nakano S, Esaki T, et al: Inhibition of cis-diamminedichloroplatinum (II)-induced DNA interstrand cross-link removal by 7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin in HST-1 human squamous-carcinoma cells. *Int J Cancer* 62:70-75, 1995.
23. Fukuda M, Nishio K, Kanzawa F, et al: Synergism between cisplatin and topoisomerase-I inhibitors NB-506 and SN-38 in human small cell lung cancer cells. *Cancer Res* 56:789-793, 1996.
24. Saltz LB, Spriggs D, Schaaf LJ, et al: Phase I clinical and pharmacologic study of weekly cisplatin combined with weekly irinotecan in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 16:3858-3865, 1998.
25. Shirao K, Shimada Y, Kondo H, et al: Phase I-II study of irinotecan hydrochloride combined with cisplatin in patients with advanced gastric cancer. *J Clin Oncol* 15:921-927, 1997.
26. Boku N, Ohtsu A, Shimada Y, et al: Phase II study of a combination of irinotecan and cisplatin against metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 17:319-23, 1999.
27. Ilson DH, Saltz L, Enzinger P, et al: Phase II trial of weekly irinotecan plus cisplatin in advanced esophageal cancer. *J Clin Oncol* 17:3270-3275, 1999.
28. Ilson D, Enzinger P, Saltz L, et al: Phase II trial of weekly irinotecan + cisplatin in advanced gastric cancer (abstract 994). *Proc Am Soc Clin Oncol* 18:260a, 1999.
29. Ajani JA, Baker J, Pisters PW, Ho L, Feig B, Mansfield PF. Irinotecan plus cisplatin in advanced gastric or gastroesophageal junction carcinoma. *Oncology (Huntingt)* 2001 Mar;15 (3 Suppl 5):52-4
30. Ajani JA, Baker J, Pisters PW, Ho L, Mansfield PF, Feig BW, Charnsangavej C. Irinotecan/cisplatin in advanced, treated gastric or gastroesophageal junction carcinoma. *Oncology (Huntingt)* 2002 May; 16(5 Suppl 5):16-8
31. Shinya Shimada, Yasushi Yagi, Kenji Shiomori, et al: Outpatient therapy with irinotecan and low-dose cisplatin for metastatic colorectal cancer resistant to 5-fluorouracil, *Oncology reports* 9: 783-787, 2002
32. Vyzula, R.: Chronoterapie v onkologii. In: Vorlíček, J., Vyzula, R., Adam, Z. (Eds.): *Praktická onkologie – vybrané kapitoly*, s 47 - 60, Grada Publishing, 1. vydání, Praha, 2000, 339.
33. Vyzula, R., Tomášek, J., Kiss, I., Tobolíková, V., Marková, J.: Chronoterapie kombinací 5-fluorouracil/cisplatin/leukovorin metastatického karcinomu gastrointestinálního traktu. *Sborník abstraktů, BOD 2000, Brno, abstr. 73.*

kniha

RADIOTHERAPY FOR HEAD AND NECK CANCER – INDICATIONS AND TECHNIQUES, SECOND ED.

ANG, K. K., GARDEN, A. S. (Eds.)
 Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2002
 208 str., 197 obr., ISBN 0-7817-2650-6, cena 120,- USD

Bohatě vypravenou monografii připravili pro druhé vydání (předchozí je z r. 1993) dva specialisté z Andersonova rakovinného centra v Houstonu. Kniha má dvě části, první o šesti kapitolách pojednává o všeobecných principech radioterapie malignit hlavy a krku, druhá s jedenácti kapitolami je věnována specifickým indikacím a technikám radioterapie v této anatomické oblasti.

V uplynulé dekádě bylo zdokonalena řada metodik, zejména kombinace ozařování s chemoterapií pozměnila dosavadní standardy léčby. Zlepšila se také strategie multidisciplinárního přístupu k problematice. Uvádí se, že technika radioterapie se vyvíjí v Andersonově centru již 50 let. V důsledku zlepšování léčby poklesla mortalita pacientů s věkem pod 65 let. Z léčebných postupů zaznamenala pokrok hyperfrakcionace a urychlená frakcionace ozařování. Kombinací ozařování a chemoterapie se dosáhlo zlepšení přežívání nemocných asi o 10 % oproti samotnému ozařování. Tento způsob léčby má působit na primární tumor a postižené uzliny a eliminovat hematogenní metastázy. Řada dalších modifikovaných nebo nových postupů je ve stadiu klinických zkoušek. Pokud se týká rizikových faktorů, uvádí se, že tabák a alkohol jsou zodpovědné za _ všech nádorů hlavy a krku.

Poskytují se přehledy léčby primární radioterapií, teleterapií zevním svazkem pomocí záření gama ⁶⁰Co, rentgenovým zářením z lineárního urychlovače o energii 6 – 20 MeV a brachyterapií. Dále jsou probrány praktické návody pro poloho-

vání pacienta, imobilizace, markery a stenty k redukci objemu normálních tkání, simulace, plánování léčby pomocí 2D a 3D zobrazení, specifikace dávky a techniky ke zlepšení její distribuce. Podrobněji je pojednáno o brachyterapii, jejich jednotlivých typech, ochraně normálních tkání, dozimetrii a speciálním ošetřování nemocných s implantáty. Jsou diskutovány praktické otázky péče o nemocné před radioterapií a po ní, zejména otázky výživy.

Specifické indikace a techniky ozařování jsou ve druhé části knihy vykládány jednotně – je vyčtena strategie léčby, je popisována primární a pooperační radioterapie, uspořádání polí, volba dávky a rozbor údajů o pacientech. Text je doprovázen kvalitními reprodukcemi rentgenových snímků, fotografiemi anatomických úseků se zakreslenými důležitými daty o izodózách, k reprodukovatému obrazu je připojen podrobný popis nemoci a vložení postupu léčby s návodem na vlastní ozařování. Jednotlivé lokalizace nádorů a jejich specifika jsou probrány v kapitolách o ústní dutině, nazofarynxu, larynxu, hypofarynxu, nosní dutině, paranazálních sinusech, slinných žlázách, kůži a krčních metastázách neznámého primárního nádoru.

Již první vydání knihy se ukázalo jako praktické a užitečné pro klinickou praxi. Za kapitolami je uváděna hojná literatura, knihu uzavírá věcný rejstřík. Toto revidované dílo (s téměř dvojnásobným obsahem oproti prvnímu vydání) obohatí příruční knihovny především onkologů a radioterapeutů, chirurgů a plastických chirurgů i radiodiagnostiků - bude jim nápomocno ve vyhledávání konkrétních návodů k ošetřování nemocných s karcinomy hlavy a krku a zlepšení jejich vyhlídek na život a jeho kvalitu. Adresa nakladatelství: Lippincott Williams and Wilkins, P. O. Box 1610, Hagerstown, MD 21741-1610, USA (LWW.com).
 V. R., V. H.

TRANSPLANTÁCIA SRDCA OD DARCU S MELANÓMOM. AKO ĎALEJ?

HEART TRANSPLANTATION FROM THE DONOR WITH MELANOMA. WHAT SHOULD BE THE NEXT STEP?

ŠTEFANKOVÁ I, DANISĎ D*, FABIÁN J.

SLOVENSKÝ ÚSTAV SRDCOVÝCH A CIEVNYCH CHORÔB, BRATISLAVA

*ÚSTAV PATOLÓGIE FNŠP akd. L. DÉRERA, BRATISLAVA

Súhrn: Riziko vzniku malignity je u pacientov po alogénnej transplantácii vyššie ako v bežnej populácii. Najčastejšou príčinou je „de-novo“ onkogenéza v súvislosti s imunosupresiou. Druhým etiologickým faktorom je vzplanutie preexistujúceho nádorového ochorenia príjemcu, ktoré bolo pred transplantáciou buď nepoznané, alebo v dlhodobej remisii. Tretou, najraritnejšou možnosťou je prenos malignity od darcu prostredníctvom transplantovaného orgánu. Autori popisujú neobvyklú transplantáciu srdca, pri ktorej sa po odbere a implantácii štepu zistil v pľúcach darcu malígny melanóm. Viac ako rok po transplantácii je funkcia štepu v norme, a nie sú prítomné žiadne známky malígneho ochorenia u recipienta. Okrem toho autori podávajú prehľad nepočítaných literárnych údajov týkajúcich sa danej problematiky a uvádzajú vlastné rozbor, úvahy a neistoty, súvisiace s touto neobvyklou situáciou.

Kľúčové slová: transplantácia srdca – darca - malígny melanóm

Summary: The allogenic transplant recipients experience an increased risk of cancer in comparison with general population. De novo genesis of neoplasm related to immunosuppression is the most common mechanism of post-transplant malignancy. The second etiologic factor is the outbreak of pre-existing malignant disease in the recipient, that was misdiagnosed or in long-term remission before transplantation. The third and the rarest possibility is the transference of donor neoplasm by the transplanted organ. This paper reports the case of heart transplantation from the donor with metastatic melanoma which was detected after explantation and implantation of the graft to the recipient. More than one year after transplantation the patient is in good clinical condition with excellent function of the graft. There is not any evidence of melanoma recurrence in the recipient. The authors present review of few literature reports regarding donor-transmitted malignancy into cardiac transplant recipients and also their own opinions and questions related to this uncommon situation.

Key words: heart transplantation – donor – malignant melanoma

Úvod

Riziko vzniku malignity je u pacientov po alogénnej transplantácii vyššie ako v bežnej populácii. Existuje viacero mechanizmov potransplantačnej onkogenézy, v zásade sa však uvádzajú tri základné etiologické faktory. Prvou a pravdepodobne najčastejšou je „de-novo“ genéza v súvislosti s chronickou imunosupresiou. V novovzniknutých neopláziách sú najfrekventnejšie zastúpené malígne lymfómy a nádory kože. Druhým etiologickým faktorom je vzplanutie preexistujúceho nádorového ochorenia príjemcu, ktoré bolo pred transplantáciou buď nepoznané, alebo v dlhodobej remisii a po transplantácii sa buď prvýkrát, alebo znova manifestovalo. Tretou možnosťou je prenos malignity od darcu prostredníctvom transplantovaného orgánu. Táto je raritnou, avšak reálnou komplikáciou orgánovej transplantácie. Prvý raz bola popísaná po transplantácii obličky od kadaverózneho darcu (1).

Tu uvádzame opis prípadu transplantácie srdca (HTx) od darcu, u ktorého sa po odbere srdca a jeho implantácii príjemcovi, zistila metastáza malígneho melanómu v pľúcach. S takýmto neobvyklým klinickým problémom sme sa zatiaľ nestretli a aj literárne údaje o podobných situáciách sú prinajmenšom skromné.

Vlastné pozorovanie

V apríli 2002 bol 39-ročný muž s intrakraniálnym krvácaním, bez iných ochorení, akceptovaný ako potenciálny multiorgánový darca pre srdce, pľúca, pečeň a obličky. Donor mal 75 kg, KS B-. Po torakotómii a laparotómii neboli na orgánoch hrud-

nej a brušnej dutiny zjavné patologické zmeny. Srdce bolo explantované ako prvé. Bolo ošetrené štandardným spôsobom a transportované k príjemcovi. Toho pripravovali na HTx v blízkom zdravotníckom zariadení. V čase odboru a akceptácii srdca pre transplantáciu bol príjemca napojený na mimotelový obeh. Kvôli skráteniu doby studenej ischémie bolo srdce príjemcu extirpované ihneď po doručení štepu na operačnú sálu a HTx bezprostredne začala.

V odberovej sále odobrali po odchode kardiouchirurgického tímu obidve pľúcne krídla. Palpačným a makroskopickým vyšetrením sa zistila rezistencia veľkosti 2x1,5 cm v oblasti linguly (predný dolný okraj horného laloku) ľavých pľúc. Ložisko bolo extirpované a poslané na rýchle histologické vyšetrenie, ktoré odhalilo metastázu malígneho melanómu (obrázok 1). Odber a transplantácia ostatných orgánov boli zastavené. Prebiehajúca HTx sa už prerušiť nedala.

Pri následnej autopsii tela darcu sa zistilo, že príčinou intrakraniálnej hemorágie bola metastáza melanómu v mozgu fronto-temporálne vpravo (obrázok 2). Ďalšie metastatické ložiská, ev. iný pozoruhodný patologický nález sa sekčne nepotvrdil. Taktiež sa nezistilo origo malígneho melanómu. Suspektnými by mohli byť staré jazvy na ľavom predlakti a pravom ramene v dĺžke 4 a 4,5 cm pri bledom kolorite kože s pehami. To sú však len dohady. Darca nebol registrovaný v žiadnej ambulancii pre dispenzarizáciu pacientov s malígnym melanómom.

Príjemcom srdca bol 55 ročný pacient s dilatálnou kardiomyopatiou s pokročilým srdcovým zlyhávaním v štádiu NYHA III.

Krvná skupina bola zhodná a hmotnosť adekvátne (83 kg) k hmotnosti darcu. Aktuálny „crossmatch“ bol negatívny a v HLA antigénoch sme retrospektívne potvrdili 2 zhody (v lokuse A2 a DR11). Operačný výkon a skorý pooperačný priebeh boli bez zvláštností. Pre CMV status donor/recipient D+/R- sme preventívne podávali ganciklovir. 12 pooperačný deň sa realizovala fenestrácia perikardu pre pretrvávajúci fluidoperikard so znakmi hrozacej tamponády. Z perikardiálnej dutiny sa odstránilo 700 ml sanguinolentnej tekutiny. Cytologickým vyšetrením sa zistili početné erythrocyty a fibrínové hmoty. Neoplastické zmeny neboli prítomné. V ďalšom období bol stav pacienta stabilizovaný.

Jedenásť mesiacov po operácii sa realizovala celotelová pozitronová emisná tomografia s 18 fluorodeoxyglukózou, s cieľom pátrania po prítomnosti ev. nádorových ložísk. Nález bol v medziach normy. V tom čase sme pacientovi odobrali aj vzorku krvi na vyšetrenie onkomarkera S-100 proteínu, ktorý ako jediný špecifický laboratórny ukazovateľ môže pomôcť v diagnostike malígneho melanómu. Žiaľ, z technických príčin analýza vzorky zatiaľ realizovaná nebola.

V súčasnosti je príjemca viac ako 12 mesiacov po HTx. Klinický stav je priaznivý. Fyzická výkonnosť je prakticky neobmedzená. Funkcia štepu je v norme. Od HTx absolvoval 10 endomyokardiálnych biopsií, bez prítomnosti významnej rejeckie, či malígnych buniek vo vzorkách myokardu. Pacient užíva štandardnú imunosupresívnu liečbu v redukovaných dávkach (cyklosporín A - mikroemulziu 3,1 mg/kg/deň a prednison 0,1 mg/kg/deň).

Diskusia

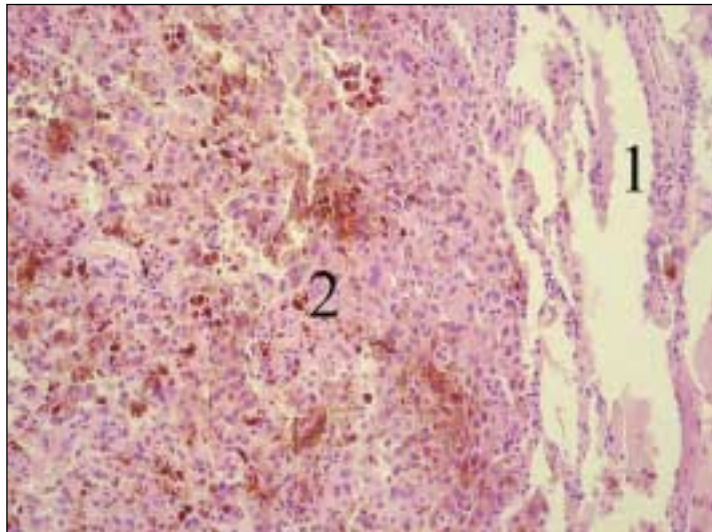
Význam malígnych ochorení v dlhodobom potransplantačnom sledovaní nie je jednoznačne stanovený. Najväčší záujem sa sústreďuje na výskum neogenézy tumorov vo vzťahu k chronickej imunosupresívnej liečbe. Stále narastajúci problém nedostatku darcov vedie k akceptácii aj tzv. „marginálnych“ donorov, starších ako 40 rokov. Tento fenomén môže zvyšovať riziko prenosu malígnych buniek transplantovaným orgánom, keďže incidencia neoplázií s vekom narastá.

Vzhľadom na to, že srdce sa pri multiorgánovom odbere explantuje ako prvé, malé solídne tumory iných orgánov nemusia byť v čase odboru detekované. Pre optimálny výsledok HTx je dôležité skrátiť ischemický čas štepu na minimum. V prípade, že sú darca a príjemca v pomerne blízkych ústavoch, už v čase odboru pripravujú recipienta na operačný výkon. Táto situácia nastala aj v našom prípade, kedy bol výsledok histologického vyšetrenia suspektneho tkaniva darcu známy až počas prebiehajúcej HTx. Prerušenie operácie už nebolo možné.

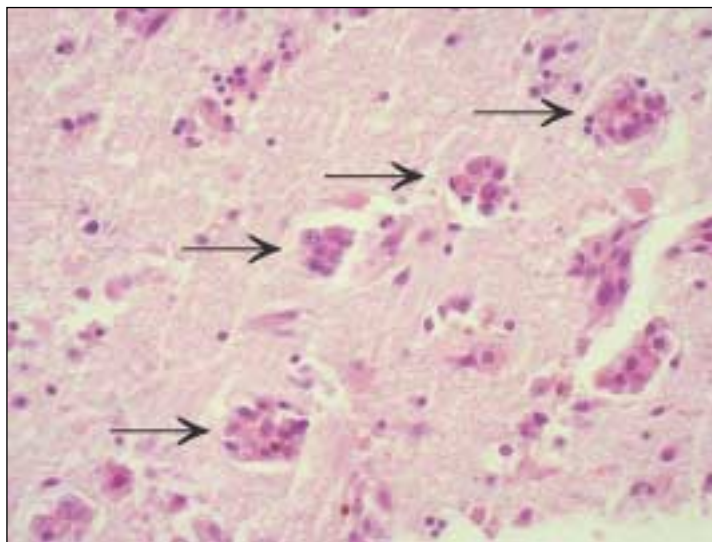
Vo všeobecnosti môžu byť za prenos malígnych buniek počas HTx zodpovedné dva mechanizmy. Prvým je transfer neoplastických elementov prostredníctvom periférnej krvi, ak orgán nebol dôkladne prepláchnutý prezervačným roztokom. Iný spôsob prenosu predstavuje transplantácia mikrometastáz, ktoré sú prítomné v transplantovanom srdci. Podľa literárnych údajov je druhá možnosť viac pravdepodobná, pretože srdce je v 5% až 17% prípadov cieľovým orgánom pre metastázy (2). V literatúre sú iba ojedinelé správy o prenesených malignitách od darcu všeobecne, tým menej prostredníctvom srdca. Pravdepodobne prvú informáciu o takejto komplikácii po HTx podali Sack a spol. (3), kedy bol transplantovaným srdcom prenesený hypernefróm, ktorý bol detekovaný ex post v pravej obličke darcu.

Najväčší medzinárodný register potransplantačných malignít

Obrázok 1: Metastáza malígneho melanómu v pľúcach. 1 - utlačené tkanivo pľúc, 2 - metastáza malígneho melanómu v pľúcach (v nádorových bunkách je zachytený hnedý pigment).



Obrázok 2: Metastáza malígneho melanómu v mozgu. Skupiny melanocytových buniek v mozgovom tkanive (šípky) obsahujúcich hnedý pigment.



The Israel Penn International Transplant Tumor Registry (IPITTR) eviduje počas viac ako 30 rokov činnosti 17 pacientov po HTx, ktorí dostali orgán od darcu s malignitou (4). V 6 prípadoch mal darca primárny tumor mozgu, z nich sa u príjemcu generalizoval 1 (17%) (meduloblastóm s ventrikuloperitoneálnym skratom) s fatálnym koncom 6 mesiacov po HTx. Z extrakraniálnych nádorov (n=11) sa u darcov najčastejšie vyskytoval karcinóm obličiek, toto ochorenie sa však ani u jedného príjemcu srdca nerozvinulo. Celkový transfer non-CNS malignity darcu bol v 55% (6 príjemcov z 11), pričom generalizácia malígneho melanómu bola 100%. V oboch prípadoch malo ochorenie fatálny priebeh (úmrť nastala 3 a 8 mesiacov po HTx).

Podľa doterajších raritných správ patrí malígny melanóm k nádorom s vysokým rizikom generalizácie v prípade prenosu z darcu na príjemcu. Stephens a spol. (5) opisujú prípad transferu melanómu od multiorgánového darcu 4 príjemcom - srdca, pečene a dvoch obličiek. U všetkých recipientov sa do 1 roka manifestoval metastatický malígny melanóm. Traja pacienti zomreli do 14 mesiacov, jeden 30 mesiacov po transplantácii obličky, napriek prerušeniu podávania imunosupresívnej liečby.

S problémom, ktorý popisujeme sme sa doteraz nestretli. Príslušným nám dostupných literárnych prameňov bol pomerne málo výpovedný. Iba niektoré, prinajmenšom vzácné a skromné údaje sa zaoberajú problematikou prenosu melanómu z darcu na príjemcu HTx (4, 5). Okrem toho sa opierajú iba o anekdotické pozorovania (5). To je však veľmi prirodzené a vzhľadom na unikátnosť problematiky iste pochopiteľné.

Prenosu potenciálne malignitou ohrozeného štepu sa v našich konkrétnych podmienkach nedalo vyhnúť. Najnaliehavejšia je otázka, ako ďalej? Náš pacient žije viac ako rok po HTx. Jeden z lekárov zaoberajúcich sa problematikou transplantácie solídnych orgánov v Slovenskej republike nám druhý deň po popisovanej HTx písomne odporučil, resp. navrhol retransplantáciu srdca (6). Treba však zdôrazniť, že tento návrh je u nás iracionálny, predovšetkým pre katastrofický nedostatok darcov. Od operácie pacienta bolo doteraz na Slovensku hlásených 18 potenciálnych darcov srdca. Prvý zhodný, či kompatibilný s naším príjemcom sa však objavil až 2,5 mesiaca po popisovanej HTx. Takže možnosť retransplantácie bola irelevantná.

Druhá úvaha sa opiera o špekuláciu, že aj keď by sa našiel vhodný darca pre nášho pacienta, či je retransplantácia jeho potenciálne neoplazmou ohrozeného štepu oprávnená v hierarchii čakacej listiny s ďalšími kandidátmi HTx. Iný príjemca by totiž z úspešnej HTx mohol ďaleko viac profitovať, než náš pacient.

Mimochodom, či by bezprostredná retransplantácia po detekcii

malignity u darcu zabránila vzniku nádorového ochorenia nie je isté, keďže sa málo vie o prirodzenom vývoji transplantovaných tumoróznych buniek. Taktiež nie je dostatok údajov o riziku prenosu donorom derivovanej neoplázie prostredníctvom srdca (7). A konečne, ako dlho po transplantácii „malignitou ohrozeného orgánu“ možno jeho explantáciu a retransplantáciu považovať za adekvátnu a relevantnú prevenciu rozvoja darcovského neoplastického ochorenia? To nevieme. Budeme radi, ak poradíte a pomôžete.

Záver

Prenos malignity od darcu prostredníctvom transplantovaného orgánu je raritnou, avšak reálnou komplikáciou HTx. Ako postupovať v prípade HTx od darcu s neskoro rozpoznaným neoplastickým ochorením zostáva vzhľadom na unikátnosť problematiky predmetom diskusie. Všetci autori sa však zhodujú v názore, že najlepším riešením takejto situácie je predchádzať jej. Výskyt podobných komplikácií môže ovplyvniť úroveň diagnostických metód pri vyšetrení darcu, ako aj dôsledná aspexia a palpácia všetkých odoberaných a susediacich orgánov a tkanív, zvlášť v prípade vekovo hraničných donorov s netraumatickým intrakraniálnym krvácaním ako príčinou smrti.

Generalizácia malignity u príjemcu nemusí byť pravidlom, avšak o prirodzenom vývoji transplantovaných tumoróznych buniek v klinickej medicíne sa vie zatiaľ málo.

Literatúra

1. Harvey L, Fox M. Transferral of malignancy as a complication of organ transplantation: an insuperable problem? *J Clin Pathol* 1981;34:116-22.
2. Weiss L. An analysis of the incidence of myocardial metastasis from solid cancers. *Br Heart J* 1992;68:501-4.
3. Sack FU, Lange R, Mehmanesh H, et al. Transferral of extrathoracic donor neoplasm by the cardiac allograft. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:298-301.

4. Buell JF, Trofe J, Hanaway MJ, et al. Transmission of donor cancer into cardiothoracic transplant recipients. *Surgery* 2001;130:660-8.
5. Stephens JK, Everson GT, Elliott CL, et al. Fatal transfer of malignant melanoma from multiorgan donor to four allograft recipients. *Transplantation* 2000;70:232-6.
6. List Transplantačnému centru SÚSCH zo dňa 18.04.2002
7. Detry O, Hans MF, Defraigne JO, et al. Malignancy transplantation with heart graft. *J Heart Lung Transplant* 1998;17:331-2.

knih

BREAST CANCER, PROGNOSIS, TREATMENT AND PREVENTION

PASQUALINI, J. R. (Ed.)

Marcel Dekker, New York - Basel 2002

656 str., 98 obr., ISBN 0-8247-0712-5, cena 165,- USD

Editor s 33 príspevovateľmi ze šesti zemí predložil reprezentatívnu monografiu podávajúcu súčasné názory na karcinom prsu, jeho prognózu, liečbu a prevenciu. Obsáhlé dielo je rozdelené do 19 kapitol. Najprve je rozebíraná epidemiológia karcinomu prsu a rizikové faktory. Je popisovaný vývoj prsu od adolescence do dospelosti a stručne je načrtnutá souhra hormonálnych pôsobkú. Vysvetľujú sa hormonálne vlivy na vývoj normálneho prsu v rôznych časových obdobiach a mechanizmy, jež se uplatňujú pravdepodobne pri karcinogeneze mammy. Ďalej sa pojednáva o problematice karcinomu prsu vznikajúceho během gravidity, jeho terapie je obtížná a prognóza nepříznivá.

Ďalší úsek je věnován teoretickému tematu složité kontroly proliferace buněk v normálním a nádor obsahujícím prsu. Analyzují se prognostické a prediktivní faktory, inhibice buněčného růstu a indukce apoptózy. Zdůrazňuje se důležitá úloha estrogenů, jež přispívají k vývoji a progresi ca prsu. Probírají se selektivní modulatory enzymů estrogenu, inhibitory aromatázy, jež mohou nabídnout lepší kontrolu růstu než antiestrogen tamoxifen; kromě toho je lze podávat delší dobu.

Tamoxifen se podává již od r. 1973, kdy byl použit nejprve u pokročilého ca prsu, nyní se však indikuje na všechna stadia ca. Zlepšuje přežití, časem však vzniká na tento lék rezistence a může vyvolat vznik ovarialního ca. Tamoxifen má pozitivní vliv na skelet, oddaluje vznik osteoporózy, brzdí také rozvoj aterosklerózy zvláště mozkových a koronárních tepen.

Jsou hodnoceny léky namířené proti redukcii vlivu růstových faktorů nebo jejich složek, které jsou velmi slibné. Rámcově je hodnocena adjuvantní léčba ca prsu u žen v menopauze, nejvhodněji tamoxifenem. Cytotoxická léčba je užívána k dosažení rychlého efektu léčby k ulehčení příznaků hlavně u metastáz. Do textu je vloženo schéma algoritmu pro léčbu metastáz. Ošetření lokálně pokročilého karcinomu prsu vyžaduje multimodální léčebný přístup. Objevují se první preparáty určené pro antiangiogenní aplikaci. Probíhají experimenty s terapií fystrogeny. Intenzivně se studuje ca s rodinným výskytem, který představuje vysoké riziko.

Obsažná monografie přináší množství aktuálních informací o ca prsu, vedle podrobného biochemického obrazu je bohatě zastoupena klinika, srovnání četných výzkumných studií, je připojen také mimořádně bohatý přehled literatury. Kniha je velmi zajímavá pro onkology, chirurgy, biology, endokrinology a všeobecné lékaře. Adresa nakladatelství: Marcel Dekker, Inc., 270 Madison Avenue, New York, NY 10016-0602-9000, USA (www.dekker.com).

V. R., V. H.

ZPRÁVA Z 20. MEZINÁRODNÍ KONFERENCE O LIDSKÝCH NÁDOROVÝCH MARKERECH 2003

ŠIMIČKOVÁ M.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

20th International Conference on Human Tumor Markers, pořádaná IATMO (International Academy on Human Tumor Markers) se konala v tomto roce 21.-25.6.03 v Sieně, Itálie. Kongres je v poslední době výrazně orientován nejen na sérové nádorové markery, ale i na vybrané oblasti nádorové biologie se vztahem k prognostické a prediktivní onkologii. K základním tématům letošního sjezdu patřily především oblasti molekulární onkologie, od praktických ukázek využití DNA-arrays, přes možnosti průkazu mRNA významných buněčných regulátorů, až k proteomice na úrovni detekční i s orientací na terapeutické využití. Sjezd byl dále zaměřen na protinádorovou vakcinaci, na význam kmenových buněk, na biologickou nádorovou terapii, a na metody diagnostiky a specifické léčby na molekulárním podkladě pro jednotlivé nádorové lokalizace.

Na rozdíl od předcházejících sjezdů této mezinárodní společnosti, kde převažovaly práce zabývající se klasickými sérovými markery, bylo celé jednání vedeno v duchu úvodní plenární přednášky dr. Fratiho (Itálie) s názvem: **Nádorové markery v éře molekulární medicíny**. V prezentaci byl shrnut vývoj za období od první publikace o karcinoembryonálním antigenu (1965) do dnešních dnů. Na příkladu tohoto antigenu je možno vidět, že teprve po více než 15 letech od jeho objevu byl doporučen jako vhodný sérový nádorový marker. Hybridomová technologie umožnila v polovině 80. let identifikaci a kvantifikaci dalších antigenů pomocí monoklonálních protilátek, čímž bylo zahájeno období intenzivního klinického využití klasických sérových nádorových markerů. Podobná přednáška zazněla od předního italského odborníka zabývajícího se nádorovými markery (dr. Gion). Zatímco klasické nádorové markery obvykle korelují s nádorovou hmotou a jsou tedy vhodné především k monitorování pokročilejších forem maligního onemocnění, v posledním desetiletí byly identifikovány substance vztažené ke klíčovým mechanismům buněčného metabolismu. Tyto látky jsou měřitelné jak v ve tkáni nádoru, tak i v tělních tekutinách. Jejich kvantifikace může přinést významné informace o nádorové biologii a zároveň mohou mít význam i pro protinádorovou terapii. Vzhledem k překotnému vývoji těchto poznatků je stále nedostatek obecných doporučení, která by byla založena na metaanalýze výsledků vhodné uspořádaných studií. Ani pro nejužívanější marker (CA15-3 u karcinomu prsu) však nejsou studie s definovanou úrovní (evidence level I či II) k dispozici.

Otázky nových biomarkerů jsou často spojeny s novými problémy: K rozporným výsledkům lze dospět při studiu molekuly na úrovni exprese genu, transkripce její mRNA, koncentrace proteinu, ev. hodnocením její biologické aktivity. Komplexní molekulární struktura některých biomarkerů může vést k rozdílné kvantifikaci různými detekčními systémy. Dosavadní zkušenost týkající se obvykle nedostatečné senzitivity jednoho biomarkeru vede k užití dvou, ev. až širokého panelu substancí, což vyžaduje vhodné statistické systémy pro hodnocení výsledků. Kategorizace podle diskriminační hladiny markeru je značnou simplifikací problému, i zde je třeba využívat matematické modely pro individuální hodnocení. Neméně důležitá je i preanalytická fáze přípravy vzorku, která speciálně pro studie na úrovni genu musí být jasně standardizována. Je poněkud paradoxní, že do detailu definované pro-

tokoly klinických studií nejsou dosud doprovázeny podobně striktními pravidly hodnocení biologických markerů.

Na podkladě experimentálních studií byly v poslední době navrženy, preklinicky testovány a uvedeny do klinické praxe **nové terapeutické látky, které jsou namířeny specificky proti určitým molekulám**. Patří k nim protilátka proti onkoproteinu HER-2/neu (*Herceptin*), inhibitory tyrosinkinázy EGFR (*Iressa = Gefitinib, Tarceva = Erlotinib, Erbitux = Cetuximab*), proti tyrosinkináze bcr-abl (*Gleevec*), proti antigenům buněčného povrchu (*MabThera = Rituximab*), proti VEGF (*Avastin = Bevacizumab*), proti matrix metaloproteinázám (*Neovastat*) apod. Význam těchto terapeutik bude však potvrzen dalšími studii. Význam receptorů růstových faktorů byl shrnut i v přednášce dr. Aaronsona. Jeho přednáška vyvolala diskusi o významu **časné detekci minimální reziduální choroby**. Přestože se předpokládá, že ne všechny cirkulující buňky jsou metastazující, tak bylo doporučeno na jejich průkaz pokračovat – teprve další studie mohou potvrdit jejich ev. význam pro možné další terapeutické rozvahy. Velice pěkná práce byla z této oblasti prezentována na příkladu mRNA pro CEA vyšetřované z cirkulujících buněk separovaných imunomagneticky z krve. Vzhledem k nízké senzitivě metody průkazu mRNA ověřili autoři, že in vitro upregulace CEA pomocí staurosporinu zvyší produkci mRNA o řád, čímž se výrazně zlepší možnost zachytu minimální reziduální choroby. Pro detekci poměru cirkulujících buněk v kostní dřeni a krvi nemocných před a po chemoterapii byla studována mRNA pro maspin, serinovou proteinázu s tumor-supresorovou aktivitou. Srovnání se stanovením mRNA pro CK19 bylo zjištěno, že CK19 je charakterizováno vyšší falešnou pozitivitou.

Otázky genetické dispozice k nádorovým onemocněním sice nebyly hlavním tématem konference, nicméně pro nádorovou diagnostiku je tento problém jeden z nejvíce studovaných – již nyní je známo kolem 20 maligních onemocnění s hereditárním výskytem. **V přednášce dr. Lynche byly shrnuty veškeré znalosti o hereditárním kolorektálním karcinomu**. Přes obecný diagnostický přístup, vedoucí od historie výskytu karcinomu v rodině, byly rozebrány postupy průkazu tohoto genetického onemocnění. Dvě třídy hereditárního karcinomu kolorekta jsou založeny rovněž na anatomické lokalizaci a biologickém chování: Distální lokalizace, kde se vyskytuje nejčastěji familiární adenomatózní polypóza (FAP) je charakterizována karcinomem s aneuploidním DNA obsahem, mutacemi v APC, p53 a k-Ras genech a chová se více agresivně. Maligní zvrát nastává ve věku 40-50 let, průkaz ACP mutací je známkou vysokého rizika a je doporučována kontrola od 10-12 let. Proximální kolorektální karcinomy typu Lynchova syndromu (HNPCC, hereditární nepolypózní kolorektální karcinomy) vykazují diploidní DNA charakter, mikrosatelitovou nestabilitu, zárodečné mutace v MMR genech (MLH1, MSH2 a MSH6) a jsou méně agresivní. Nové objevy v genomice, proteomice a mikročipové technologii považuje dr. Lynch za záruku vývoje preventivních a terapeutických možností.

Problematiku nádorů prsu z laboratorního hlediska rozebrala dr. Daidone (Itálie). Mezi prognostické a prediktivní faktory zahrnuje parametry na chorobě nezávislém (věk) a parametru vztažených k nádoru, jako je velikost nádoru, grade, postižení axilárních uzlin (podle doporučení NIH-NCI¹ či St.Gallen Consensus Conference z r. 1998) nově rovněž **některé biologické charakteristiky**. Z mnoha studovaných faktorů, souvisejících s proliferací, angiogenezí, invazí, metastazováním, hormonální závislostí jsou dosud prokázány jako

přínosné testy proliferativní aktivity, vyšetření hormonálních receptorů, HER-2/neu a plasminogen-aktivátoru.

Nová technologie **DNA mikročipů**, umožňující identifikaci molekulárních změn na genové úrovni, byla velice přehledně prezentována na výsledcích holandských skupiny autorů van de Vijvera a kol.² týkajících se prognostické role exprese profilu 70 vybraných genů u karcinomu prsu. Pomocí této metody bylo téměř 300 nádorů rozděleno do dvou skupin podle rozdílné exprese těchto genů se vztahem k metastazování. Kaplan-Meierovy křivky celkového i bezpříznakového přežití významně korelují s expresním profilem uvedených genů podle rozdílné vazby na metastazování. Multivariační analýzou byl prokázán lepší prognostický význam DNA-analýzy ve srovnání s parametry klasickými (věk, stav postižení lymfatických uzlin, grading tumoru, obsah steroidních receptorů), jenom velikost tumoru vykazovala podobnou prognostickou sílu. Zdá se být zřejmé, že tento postup mohl patřit k významným parametrům pro výběr pacientů, u nichž bude adjuvantní léčba přínosem.

Klasifikace neuroendokrinních tumorů byla v posledním období rozšířena podle WHO doporučení na tři skupiny: a) dobře diferencované endokrinní tumory s nízkým stupněm malignity, b) málo diferencované endokrinní karcinomy s vysokým stupněm malignity, c) smíšené exo- a endokrinní tumory. Diagnostické postupy využívají stanovení cirkulujícího chromograninu A. Kromě klasického postupu terapie jsou i pro tyto nádory užívány určité biologické modality (somatostatinová analoga, interferon). Zajímavé sdělení bylo o mechanismu neuroendokrinní diferenciace u tumorů prostaty.

Z novinek o sérových markerech stojí za zamyšlení (ev. srovnání s našimi předběžnými studiemi) tyto prezentace:

1. **Chromogranin A** u neuroendokrinních tumorů jako sérový marker první volby pro tuto lokalizaci. Dvě metody pro jeho kvantifikaci v krvi existující na trhu vykazují slušnou korelaci. Odpověď na klinický stav je lepší než při užití stávajících markerů.
2. **Placentární alkalická fosfatáza**, jejíž užití v séru je komplikováno falešnou pozitivitou u kuřáků, by mohla být vhodná pro imunohistochemickou lokalizaci mikroinvazivních tumorů zárodečných buněk.
3. **Interleukin-6 (IL-6)** byl prokázán jako velice senzitivní marker hepatocelulárního karcinomu, nemocní s extrahepatálními metastázami vykazovali sérové hodnoty zvýšení až 50 násobku horní hranice zdravých kontrolních osob.
4. Výhledy týkající se vývoje onemocnění **karcinomem prostaty** jsou frustrující: zatímco nyní má tuto chorobu diagnostikováno v EU každý 25. muž ve věku 74 let, očekává se podle současných trendů vzrůst incidence v roce 2020 až na každého 10. muže téhož věku. Přes pokrok, který můžeme přičítat **diagnostickému využití PSA**, je mnoho zachycených nádorů inoperabilních. Androgen-deprivační terapie rozvinutého karcinomu prostaty je metodou volby již více než 50 let. Teprve nyní je detailně studován mechanismus inhibice buněčné proliferace a indukce apoptózy vlivem transkripce **androgenních receptorů**, které se v buňce chovají podobně jako estrogení receptory u karcinomu

prsu. Na rozdíl od toho onemocnění je však u maligního nádoru prostaty terapie jiného typu (chemo, radioterapie) v okamžiku relapsu neúčinná. Na podkladě experimentálních prací jsou popisovány mechanismy, které mohou vést k této hormonální neodpovídatosti. Androgení receptory totiž mohou v určitém procentu nádorů podléhat mutacím v ligand-vazebném i transkripčním místě, což může vést k poruše mechanismu potlačení jejich účinku. Není dosud vyjasněno, zda amplifikace a zvýšená exprese androgenních receptorů může být příčinou neúčinnosti hormonální blokády. Oba tyto jevy však nevysvětlují mechanismus úniku u všech pacientů. Velkou roli zřejmě hraje i posttranslační modifikace receptorů. Nevylučuje se ještě účinek alternativních cest indukce proliferace, a to zcela nezávislých na androgenních receptorech.

5. Exprese HER-2/neu ve tkáni byla podrobena metaanalýze ve vztahu k resistenci pacientek s karcinomem prsu k hormonální terapii. Závěry srovnání výsledků 12 studií (asi 2400 pacientů) jsou statisticky prokazatelné: pacienti s vyšší expresí HER-2/neu jsou méně senzitivní na hormonoterapii. Vyšetření sérových hodnot bude mít rovněž prediktivní hodnotu.

Z dalších sdělení je zajímavé si všimnout, že jako nejlepší prognostický faktor mezi testovanými konvenčními markery **kostních metastáz u karcinomu prostaty** (kostní alkalická fosfatáza, kolagen propeptid typ I, karboxyterminální peptid kolagenu typu I, močové kalcium), ev. dalšími charakteristikami nádoru i nemocného byl shledán Karnofski index. Byl popsán nový **marker pro časnou detekci karcinomu prsu** (TA-90, detekován je komplex antigenu s endogenní protilátkou), který v kombinaci s mammografií značně zvýší klinickou senzitivitu zachytu tohoto onemocnění.

Z molekulárně-biologických technik je třeba se zmínit především o několika prezentacích:

Přes nejasnosti o významu volných nebuděných **složek telomerázy** uvolněné přímo do plasmy byla prokázána korelace mezi klinickým stavem u karcinomu prsu a katalytickou podjednotkou tohoto ribonukleoproteinu – hTERT, a to modifikací PCR metody. Stanovení **mRNA thymidylátsyntázy** bylo provedeno na malém souboru kolorektálního karcinomu s následnou terapií 5-FU typu. Výsledky nejsou uzavřeny – byly ověřeny nesignifikantní trendy vyššího mediánu bezpříznakového intervalu i nižšího mediánu celkového přežití u nádorů s vyšší expresí mRNA pro thymidylátsyntázu. Přesto, že se na podzim tr. koná konference s podobným zaměřením v Edinburgu (International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, ISOBM), bylo setkání poměrně dobře zastoupeno světovými odborníky. Příští rok se koná 21. ročník IATMO v Číně.

Literatura

1. National Institutes of Health Consensus Development Conference statement: adjuvant therapy for breast cancer. November 1-3, 2000. J.Natl. Cancer Inst. Monogr. 2001, 30, 5-15.
2. van de Vijver M.J., He Y.D., Van't Veer L.J. et al: A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. New Engl.J.Med. 2002, 347, 1999-2009.

PROSTATE CANCER

CARROLL, P. R., GROSSFELD, G. D. (Eds.)
B. C. Decker Inc., Hamilton – London 2002
402 str., 169 obr., 79 tab., CD-ROM, ISBN 1-55009-130-1, cena 159,- USD

Na této aktuální knize sestávající z 28 kapitol participovalo 40 odborníků převážně z USA za redakce dvou editorů z urologického pracoviště v San Francisku. Tak jak je obvyklé u knih nakladatelství B. C. Decker vydávaných v řadě *Atlas of Clinical Oncology* za podpory American Cancer Society, i toto dílo je doprovázeno CD-ROM obsahujícím kompletní text i ilustrace.

V úvodu editoři poukazují na zlepšení, jež přineslo do praxe zavedení PSA (specifického antigenu prostaty), který se stal nejdůležitějším markerem ca prostaty. Epidemiologie ca prostaty je ovlivněna geograficky, rasově, věkově a rodinným výskytem; vedle faktorů dietních se uplatňují životní styl a faktory genetické, jež jsou v současnosti intenzivně zkoumány. Dále editoři podávají histopatologickou klasifikaci ca s definicí 12 typů tumoru a diskutují základy gradingu systémů. Pokroky v genetice pravděpodobně přinesou v budoucnosti novou a racionální léčebnou strategii. Přehledně jsou jmenovány biochemické markery a hodnocen jejich význam pro monitorování léčby. Uplatňují se především kyselé fosfatázy prostaty a specifický antigen prostaty zmíněný výše.

Významný prostor je vymezen pro diagnostické zobrazovací metody; je popsán transrektální ultrazvuk (TRUS) a použití sondy 5 – 7,5 MHz v sagitální a axiální rovině. Karcinom vytváří obvykle hypoechogenní zónu na periférii; senzitivita a specifita jsou však značně omezené. Přesnost TRUS se vyčísľuje na 18 – 52 %. V poslední době je využívány dopplerovské přístroje, pomocí nichž lze registrovat vyšší prokrvení maligního ložiska. Začíná se také využívat kontrastních látek pro ultrasonografii. Význam TRUS se oceňuje rovněž u recidivy nádoru. CT je vhodná pro posouzení měkkých tkání a k průkazu uzlin, vhodné je však i trojrozměrné zobrazení; také se dobře zobrazují ložiska rozptýlená v okolních tkáních. Celotělová scintigrafie prováděná pomocí fosfátů značených ^{99m}Tc pomáhá odhalovat časně kostní metastázy.

Zajímavé jsou údaje o přirozeném vývoji karcinomu prostaty, není-li z nějakého důvodu léčen. Jsou demonstrovány chirurgické postupy léčby, radioterapie a adjuvantní a neoadjuvantní léčba. Rovněž je probrána radikální prostatektomie s pomocí laparoskopie. Jsou diskutovány radiobiologické změny jako odpověď tumoru a normální tkáně na radikální léčbu. Postupně jsou zařazeny údaje o zevním ozařování a brachyterapii a kombinované léčbě s využitím hormonů, vakcín, antiangiogenních preparátů a dalších faktorů. Zmínka je rovněž o nových formách fokální léčby (např. kryoablace a termální ablace). Poslední kapitoly jsou zaměřeny na rozbor erektilní dysfunkce po léčbě karcinomu prostaty, ošetření komplikací močového měchýře a středních funkcí, které se objevily po operaci.

Kniha s relativně stručným textem ale doprovázená vysokým počtem obrazů, často i barevných, přináší nové údaje o malignitě s vysokým stupněm výskytu a mortalitou. Bude jistě užitečná nejen pro urology a onkology, ale i pro chirurgy, radio-terapeutu a lékaře, jež provozují zobrazovací metody. Adresa nakladatelství: B. C. Decker, P. O. Box 620, LCD I, Hamilton, ON L8N 3K7, Canada (www.bcdecker.com). V. R., V. H.

FAMILIAL BREAST AND OVARIAN CANCER, GENETICS, SCREENING AND MANAGEMENT

MORRISON, S., HODGSON, V., HAITES, N. E. (Eds.)
Cambridge University Press, Cambridge 2002
401 s., cena 65,- GBP. ISBN 0-521-80373-X.

Je známým faktem, že některé typy maligních nádorů jsou geneticky podmíněné. Svědčí pro to i fakt, že velké množství osob, u nichž se karcinomy vyskytnou, má rakovinu v rodinné anamnéze. Je proto žádoucí vyvinout techniky, které by byly schopné odhalit nositele genů podmiňující vznik geneticky vázaných karcinomů a vypracovat postupy nevhodnější péče o tyto osoby. Jde o problematiku dotýkající se klinických pracovníků na různých úrovních – od praktických lékařů, přes chirurgy, onkology a psychology, až po genetiky. Tato kniha je jednou z prvních, která se pokouší souhrnným způsobem zmapovat tematiku familiárního karcinomu ovaria a prsu. Není ale jediná, např. v roce 2002 vyšla v nakladatelství Oxford University Press monografie: I. J. Jacobs et al.: *Ovarian Cancer*. Ale zpět k recenzované knize – část jejích kapitol je výstupem evropského projektu „Familiární karcinom prsu“, na kterém spolupracuje 11 center v různých zemích Evropské unie. Zbývající kapitoly byly napsány dalšími odborníky z jiných center v Evropě a USA. V úvodním oddíle jsou shrnuta nejvýznamnější fakta, z nichž jsem vybral následující údaje. Již dlouho je známo, že některé velmi vzácné formy nádorů, jako např. retikuloblastom nebo neurofibromatóza, jsou geneticky vázány. Ale teprve v posledních letech byly identifikovány geny determinující častější typy karcinomů, např. prsu, ovaria a kolorektální karcinom. Jejich přesná role v incidenci těchto karcinomů není zatím zcela jasná, přesto je jisté, že přibližně u 5 % těchto karcinomů podmiňují tyto geny vysoké riziko vzniku karcinomu v průběhu života osoby – až 80 % (jde zejména o mutace BRCA1 a BRCA2). Karcinomy podmíněné těmito geny s vysokou penetrancí navíc vznikají signifikantně častěji v mladším věku – 15 – 20 % karcinomů diagnostikovaných u pacientů mladších 50 let je spojeno s těmito genetickými mutacemi. Dalších 10 – 20 % karcinomů je spojeno s častěji se vyskytujícími se geny, které ale mají menší penetranci – přesto zvyšují incidenci karcinomů na trojnásobek při srovnání s ostatní populací – tyto „středně rizikové“ geny však zatím nebyly jednoznačně identifikovány.

V dalších kapitolách prvního oddílu nalezneme detailní informace o známých i předpokládaných genech podmiňujících zvýšené riziko familiárního karcinomu a také nástin hodnocení rizika vzniku familiárního karcinomu. Ve druhé části jsou popsány různé možnosti screeningu, kriteria pro zařazení osob do rizikových skupin i kulturní a vzdělanostní aspekty mající vliv na rozvoj geneticky podmíněných nádorů v různých zemích Evropy. Třetí oddíl je věnován péči o osoby se zvýšeným rizikem. Rozebrány jsou různé možnosti včetně např. profylaktické mastektomie, etické, či psychosociální aspekty. Uvedeny jsou i zatím známé skutečnosti z oblasti vyvíjené genové terapie. Závěrečná kapitola popisuje předpokládané směry budoucího výzkumu v této oblasti.

Kniha přináší přístupnou formou podané informace, které oceňuji zejména genetikové, onkologové a odborníci zabývající se organizací péče o pacienty s onkologickými onemocněními nebo rizikem jejich vzniku. M. H.

ZÁPIS ZE SCHŮZE Odstupujícího výboru ČOS JEP konané dne 2. července 2003

- Přítomni:** Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.
Prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.
Prim. MUDr. Alena Jelínková
As. MUDr. Olga Příbylová
Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.
Prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.
- Omluveni:** Doc. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.
Prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc.
Prim. MUDr. Jan Fischer
- Nepřítomni:** Prim. MUDr. Šmelhaus
MUDr. Josef Drbal
- Dále hosté(budoucí výbor):**
Doc. MUDr. Jitka Abrahámová, CSc.
Prim. MUDr. Jindřich Fínek
Doc. MUDr. Jiří Petera, PhDr.
Prim. MUDr. Hana Stankušová, CSc.
Doc. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc.
Doc. MUDr. Bohuslav Konopásek, CSc.
Prim. MUDr. Alexandra Aschermannová
MUDr. Karel Cwiertka

1. Kontrola zápisu – ad 3) verze doporučených postupů doplněná o připomínky byla zaslána doc. Němečkovi na VZP. Pro vypršení mandátu výboru OS nebyl však rukopis připraven do tisku.

2. Zpráva za období od 1. 4. 03 do 30. Mandát výboru OS skončil 31.3.2003, ale teprve dopisem ze dne 20.května 03, podepsaným předsedkyní revizní komise ČLS JEP, byla činnost výboru obnovena (prodloužena) do 30.6. V tomto období došly přihlášky do OS, které členové výboru odsouhlasili „per rolam“. Stejným způsobem vyslovili souhlas s ukončením pracovního poměru pí. Amiroucheové k 30.6.2003. Dopis s žádostí o ukončení poměru odeslal předseda předsednictvu ČLS.

Seznam nových členů:

- Doc. RNDr. Kolářová Hana, CSc., Ústav lékařské fyziky, LF UP, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc
MUDr. Vladimír Kotek, Nemocnice v Třebíči, Urologie, Purkyňovo nám. 2, 674 01 Třebíč
MUDr. Iveta Kolářová, Krajská nem. Pardubice, Kyjevská 44, 532 03 Pardubice
MUDr. Vojtech Chrenko, CSc., MOÚ, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno
MUDr. Jan Banský, FTN, onkol.odděl., Vídeňská 800, 140 59 Praha 4-Krč
Bc. Michaela Libosvárová, Lab. experimentální med., Dětská klinika, UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc
Mgr. Radek Trojanec, Ph.D., Lab.exp.mediciny, Dětská klinika, UP a FN, Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc
MUDr. Kateřina Špačková, Lab. exp. mediciny, Dětská klinika, LF UP a FN Olomouc, Puškinova 6, 775 20 Olomouc
Mgr. Gabriela Kořínková, Lab. exp. mediciny, Dětská klinika Olomouc, LF a FN UP Olomouc, Puškinova 6, 772 00 Olomouc
RNDr. Věra Nosková, Ph.D., Lab. exp. mediciny, FN Olomouc, Dětská klinika, Puškinova 6, 775 20 Olomouc
MUDr. Radomír Zachoval, Nemocnice v Třebíči, Urologie, Purkyňovo nám. 2, 674 01 Třebíč
MUDr. Martin Šmakal, ÚOP - Nová Ves pod Pleší

Vzhledem k tomu, že výtěžek z běhu Terryho Foxe měl být rozdělen do 30.6.03 a uzávěrka pro žádosti se prakticky kryla s koncem mandátu výboru OS, nemohl výbor ustanovit oponenty a administrativně zpracovat přidělení podpory. Po jednání s Nadací Terryho Foxe a s předsedou ČLS bylo rozhodnuto náhradní řešení pro využití částky získané v roce 2002, a to pro zakoupení přístrojů nutných pro onkologický výzkum. Požadavkem nadace bylo co nejširší využití přístrojů. Částka byla rozdělena rovným dílem pro české a moravské pracoviště. Bude zakoupen přístroj „Metafer“, pro automatické vyhledávání buněk na cytogenetických a histologických preparátech umístěných v laboratoři molekulární genetiky prof. Michalové (využití 1.LF, 2.LF, VFN, ÚHK a ve spolupráci další pracoviště) a kapalinový chromatograf Waters, typ Aliance, který bude sloužit k vyhledávání jedinců s potenciálem výrazné toxicity a k individualizaci cytostatické léčby, umístěný na MOU v Brně (využití MOÚ, 2.interní hemato-onkologická klinika, nemocnice u sv.Anny a další spolupracující pracoviště moravského regionu). Žádosti o grantovou podporu budou zpracovány novým výborem a budou dotovány z výběžku běhů T.F. získaných v r.2003. Řešitelé tak budou moci obdržet podporu hned počátkem kalendářního roku 2004.

V souvislosti s běhy T.F. obdržel předseda stížnost dr. Hrušáka, který opakovaně žádal vědeckého sekretáře o informace, ale jeho žádosti zůstaly bez odpovědi. Obrátil se pak se stížností na Nadaci T.F. a na kanadské vyslanectví. Předseda se dr. Hrušákoví písemně omluvil.

Na žádost VR MZ-ČR vypracoval předseda OS stanovisko k projektu „Protonového ozařovacího centra“, které vědecké radě předkládal doc. Petruželka. Stanovisko bylo jednoznačně zamítavé. Je pozoruhodné, že vědecký sekretář společnosti předsedu o své aktivitě neinformoval.

Prof. Klener podal žádost o zrušení více než dvacet let staré vyhlášky, umožňující přiznat specializační atestaci z klinické onkologie bez zkoušky, pouze na základě proběhlého habilitačního řízení, po obhajobě práce se vztahem k onkologii. Tento vztah může být značně vzdálený a nedává záruku o erudici uchazeče v celé šíři oboru.

Prof. Klener odeslal předsednictvu ČLS JEP žádost o ukončení pracovního poměru dosavadní sekretářky OS pí. Amiroucheové a poděkoval za její práci pro OS.

Prof. Klener se spolu s prof. Vorlíčkem zúčastnili tiskové konference konané 13.6. v Praze, jejímž cílem bylo upozornit novináře na některé aktuální problémy (prevence, význam včasné diagnózy, nové léky a jejich dostupnost). následující den vyšla v MF Dnes naprosto zkršená informace, podle níž OS dala pokyn, aby se nemocní s pokročilým onemocněním neléčili. Následně TV NOVA odvysílala podobně zkršené informace v pořadu „Střepiny“. Prof. Klener odeslal do redakce protestní dopis s žádostí o korekci neoprávněných informací, nedostal však žádnou odpověď. Proto po dohodě s vedením ČLS podává trestní oznámení na oba subjekty.

3. Volby nového výboru. Prof. Klener seznámil přítomné s výsledkem voleb do nového výboru. Vyslovil překvapení nad tím, že čtyřletá pasivita členské základny se po vyhlášení voleb náhle proměnila v neobvyklou aktivitu vyjádřenou množstvím připomínek, jejichž povaha neukazovala na nut-

nost anulování vyhlášeného prvního kola. Výbor přesto souhlasil s opakováním voleb a neprosazoval přímou volbu, která by situaci vyřešila rychleji a bez finančních nákladů na obě další kola.

Ve volbách rozhodujícího druhého kola bylo odevzdáno 204 platných hlasů, což činí při počtu oprávněných voličů (členů OS) pouze 36 % ze všech členů OS. Počty hlasů odevzdaných ve druhém kole jsou následující:

Prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.	148
Prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.	131
Doc. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.	130
Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc.	118
MUDr. Jindřich Fínek, PhD.	104
Doc. MUDr. Jiří Petera, PhD.	99
MUDr. Hana Stankušová, CSc.	97
Doc. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc.	94
Doc. MUDr. Bohuslav Konopásek, CSc.	84
Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.	81
MUDr. Karel Cwiertka	80

Doc. MUDr. Josef Kovařík, CSc.	80
MUDr. Vladimíra Stáhalová	80

MUDr. Pavel Vodvářka, PhD	75
MUDr. Jan Fischer	71
Prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc.	63
MUDr. Jana Prausová	55
Doc. MUDr. Pavel Šlampa	53
Doc. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc.	50
Doc. MUDr. Lukáš Rob, CSc.	50
MUDr. Alena Jelínková	49
MUDr. Marian Hajdúch	43
MUDr. Alexandra Aschermannová	39
MUDr. Olga Příbylová	37

Revizní komise:

MUDr. Alena Jelínková	50
MUDr. Alexandra Aschermannová	37
MUDr. Bohuslav Konopásek, CSc.	32
(upřednostnil mandát ve výboru)	
Doc. MUDr. Tomáš Eckschlager	30
Doc. MUDr. Lukáš Rob	30
MUDr. Olga Příbylová	30

Vzhledem k rovnosti hlasů 3 x 80 pro výbor, 3 x 30 pro revizní komisi navrhla volební komise 3 varianty:

- rozšířit výbor na 13 členů a revizní komisi na 5 členů,
- losovat,
- zohlednit počty hlasů do obou orgánů.

Varianta c) je však nepřijatelná – nelze slučovat hlasy z voleb do různých orgánů. Rozhodnutí o variantě a) či b) musí rozhodnout nový výbor.

Prof. Klener se svého mandátu vzdává. Kandidoval do Onkologické společnosti, nikoliv do společnosti Radiační onkologie, kterou svým složením nový výbor připomíná.

Vyslovil svůj podiv nad tím, že předseda a vědecký sekretář jedné společnosti souhlasí se svým zvolením do výboru jiné společnosti, i když to stanoví ČLS nevyklučují.

5. Poděkování. Prof. Klener poděkoval všem členům odstoupajícího výboru za jejich docházku na výborové schůzi. Za práci pro OS pak jmenovitě poděkoval prim. Fischerovi, prim. Jelínkové, prof. Vorlíčkovi a prof. Žaloudíkovi.

6. Blahopřání. Prof. Klener gratuloval nově zvoleným členům výboru a popřál výboru hodně úspěchů. Poté protokolárně předal bývalému místopředsedovi a nově zvolenému členu OS prof. Vorlíčkovi dokumentaci a seznam nejnáléhavějších úkolů, které musí nový výbor urychleně vyřídit, s tím, aby jej předal nově zvolenému předsedovi.

7. Úkoly, které nemohl dořešit odstoupící výbor:

- Urychleně zadat do tisku novou verzi "Doporučených nových postupů".
- Administrativně vyřídit žádosti o grant z výtěžků běhu Terryho Foxe. Je nutno jmenovat 2 oponenty pro každý projekt, stanovit termín dodání oponentských posudků tak, aby vyhodnocení mohlo být provedeno do konce kalendářního roku 2003.
- Napsat stanovisko k dopisu Doc. Emmerové
- Odpovědět na dopis zdravotního rady Středočeského kraje.
- Jmenovat zástupce OS do transplantační sekce, společně pro Hematologickou a onkologickou společnost. Doc. Petruželka jmenovaný bývalým výborem se schůzí této sekce nezúčastňoval.
- vypsat výběrové řízení na novou sekretářku společnosti.
- Inovovat stránky www.linkos.cz, kde např. "visí" informace z ASCO v r. 2002 a další neaktuální informace.
- Podat zprávu předsednictvu ČLS JEP o složení nového výboru.
- Kontaktovat Ing. Knížka, tel 266 052 429, domů 466 393 552, který má zájem o uspořádání semináře a žádal, aby se s ním nový předseda OS spojil.
- Pověřit nově zvoleného pokladníka, aby kontaktoval prim. Fischera (t.č. v pracovní neschopnosti) a převzal doklady o hospodaření OS.

Za odstoupící výbor s přáním mnoha úspěchů novému výboru
Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.

Informace pro členy OS:

Po ukončené schůzi odstoupajícího výboru zvolil nový výbor funkcionáře OS:

Předseda:	Prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.
Místopředsedkyně:	Doc. MUDr. Jitka Abrahámová, DrSc.
Vědecký sekretář:	Prof. MUDr. Jan Žaloudík, CSc.
Pokladník:	Prim. MUDr. Jindřich Fínek, PhD.

Členové:	MUDr. Karel Cwiertka Doc. MUDr. Bohuslav Konopásek, CSc. Doc. MUDr. Jiří Petera, PhD Doc. MUDr. Luboš Petruželka, CSc. MUDr. Hana Stankušová, CSc. Doc. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc.
----------	---

Revizní komise:	Prim. MUDr. Alexandra Aschermannová Doc. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc. Prim. MUDr. Alena Jelínková
-----------------	--