

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  
tel., fax: 543 134 226

Grafická a technická úprava:  
Bohuslav Havlíček

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

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

Expedici na základě roční objednávky  
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR  
MK ČR 5158  
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI  
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK  
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO  
REDAKTORA: KOZA IVAN  
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

**REDAKTOŘI:**

ČOUPEK PETR  
HÁJEK ROMAN  
KOCÁK IVO  
VALÍK DALIBOR  
VORLÍČEK JIŘÍ  
ŽALOUĐÍK 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  
ŽALOUĐÍK JAN, Brno

<b>Přehled</b> Fuchs O. Úloha ubiquitin-proteasomového systému v přenosu signálu transformačního růstového faktoru-β a její význam při vzniku nádorů .....	199
T.Eckschlager T., Poučková P., Matoušek J. Ribonukleázy /RNázy/ v protinádorové terapii .....	207
Pour L., Adam Z., Hájek R. Ibandronat – přehledný článek .....	210
<b>Původní práce</b> Šiffnerová H., Bustová I. Prognostické faktory u metastatických nádorů ledvin .....	216
Stolz A.J., Šimonek J., Lischke R., Schützner J., Pafko P. Chirurgická resekce plicních metastáz kolorektálního karcinomu. Analýza prognostických faktorů. ....	219
<b>Sdělení</b> Bartoňková H., Hanák L., Žaloudík J., Schneiderová M., Standara M. Kostečka A. Využití vakuové biopsie (mamotomie) k odběrům vzorků z maligních nádorů mimo mléčnou žlázu .....	222
Horváth T. Chirurgická léčba plicních malignit. ....	226
<b>Kasuistika</b> Kocáková I., Kocák I., Špelda S., Pacal M., Řehák Z. Irinotecan/cetuximab – salvage chemobioterapie metastatického kolorektálního karcinomu .....	230
<b>Informace</b> -Témata XXX.BOD 2006 .....	218
-Deklarace .....	209
-Taxotere- výsledky studie .....	235
<b>Rejstřík</b> – jmenný a věcný .....	233
<b>Onkologické společnosti</b> .....	236

## CONTENTS

<b>Reviews</b> Fuchs O. The role of ubiquitin-proteasome system in transforming growth factor-β signaling and its importance in tumorigenesis .....	199
Eckschlager T., Poučková P., Matoušek J. Ribonucleases /RNases/ in anti-cancer treatment .....	207
Pour L., Adam Z., Hájek R. Ibandronat - Review .....	210
<b>Original publications</b> Šiffnerová H., Bustová I. Prognostic factors for metastatic renal cancer .....	216
Stolz A.J., Šimonek J., Lischke R., Schützner J., Pafko P. Surgical resection of pulmonary metastases from colorectal carcinoma. Prognostic factors analysis. ....	219
<b>Communications</b> Bartoňková H.1, Hanák L.2, Žaloudík J.3, Schneiderová M.1, Standara M.1, Kostečka A.2 Vacuum biopsy application for malign tumors outside of the breast .....	222
Horváth T. Surgical treatment of lung malignancies .....	226
<b>Case Report</b> Kocáková I., Kocák I., Špelda S., Pacal M., Řehák Z. Irinotecan/cetuximab – salvage chemobiotherapy in metastatic colorectal cancer .....	230
<b>Notification</b> Topics for the 30 <sup>th</sup> Brno Oncology Days, 2006 .....	218
Declaration .....	209
Taxotere - study results .....	235
<b>Register</b> nominal and factual .....	234
<b>Oncological associations</b> .....	236

## ÚLOHA UBIKVITIN-PROTEASOMOVÉHO SYSTÉMU V PŘENOSU SIGNÁLU TRANSFORMAČNÍHO RŮSTOVÉHO FAKTORU- $\beta$ A JEJÍ VÝZNAM PŘI VZNIKU NÁDORŮ

## THE ROLE OF UBIQUITIN-PROTEASOME SYSTEM IN TRANSFORMING GROWTH FACTOR- $\beta$ SIGNALING AND ITS IMPORTANCE IN TUMORIGENESIS

FUCHS O.

ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVŇNÍ TRANSFUZE, PRAHA

**Souhrn:** Přenos signálu transformačního růstového faktoru- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) a dalších členů této rodiny cytokinů je zprostředkován heteromerním komplexem dvou typů transmembránových receptorů s aktivitou serin/threonin-kinasy na povrchu buňky a jejich vnitrobuněčnými substráty, proteiny Smad. Specifičnost, různost, intenzita a časový průběh přenosu signálu TGF- $\beta$  jsou určeny aktivací a inaktivací molekul složek signální dráhy zahrnutých v přenosu signálu TGF- $\beta$ . Tyto klíčové molekuly (receptory pro TGF- $\beta$  a proteiny Smad) podléhají degradaci v ubikvitin-proteasomovém systému. Inhibitor přenosu signálu TGF- $\beta$ , proto-onkoprotein SnoN („Ski-related novel gene product“), je také degradován v ubikvitin-proteasomovém systému. Hladina proteinu SnoN je silně zvýšena u karcinomů žaludku, štítné žlázy a plic a u lymfomů. U řady lidských nádorů byla nalezena zvýšená degradace proteinů Smad. Nesmyslné mutace proteinů Smad2 a Smad4 na konservativním argininovém zbytku u kolorektálních karcinomů a u nádorů slinivky břišní zvyšují degradaci proteinů Smad proteasomy. Porucha přenosu signálu TGF- $\beta$  u nádorových buněk tak může být způsobena neřízenou degradací složek signální dráhy TGF- $\beta$  v proteasomech a nádorové buňky se tím stávají rezistentní k anti-proliferativnímu účinku TGF- $\beta$ .

**Klíčová slova:** transformační růstový faktor-beta (TGF- $\beta$ ), ubikvitin-proteasomový systém, proteiny Smad, Smad ubikvitinligázy Smurf.

**Summary:** The signaling responses to the transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and other members of this cytokine family are mediated by a heteromeric complex of two types of transmembrane serine/threonine kinase receptors at the cell surface and their intracellular substrates, the Smad proteins. The specificity, diversity, intensity, and timing of TGF- $\beta$  signaling are tightly controlled by activation and inactivation of signal transduction components. These key transducer proteins (TGF- $\beta$  receptors and Smad proteins) undergo ubiquitin-proteasome-mediated degradation. The inhibitor of TGF- $\beta$  signaling proto-oncoprotein SnoN (Ski-related novel gene product) is also a substrate for proteasome degradation. It was found that SnoN is amplified in stomach, thyroid and lung carcinoma and lymphoma. The disruption of proper degradation of Smads has been observed in human cancers. Mis-sense mutations of Smad2 and Smad4 at a conserved arginine residue in colorectal and pancreatic cancers increased the turnover rate of Smad proteins via the proteasome pathway. The dysregulated proteasomal degradation is a novel pathway how tumor cells silence TGF- $\beta$  signaling and thus these cells are resistant to the anti-proliferative activity of TGF- $\beta$ .

**Key words:** transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ), ubiquitin-proteasome system, Smad proteins, Smad ubiquitin ligases Smurf.

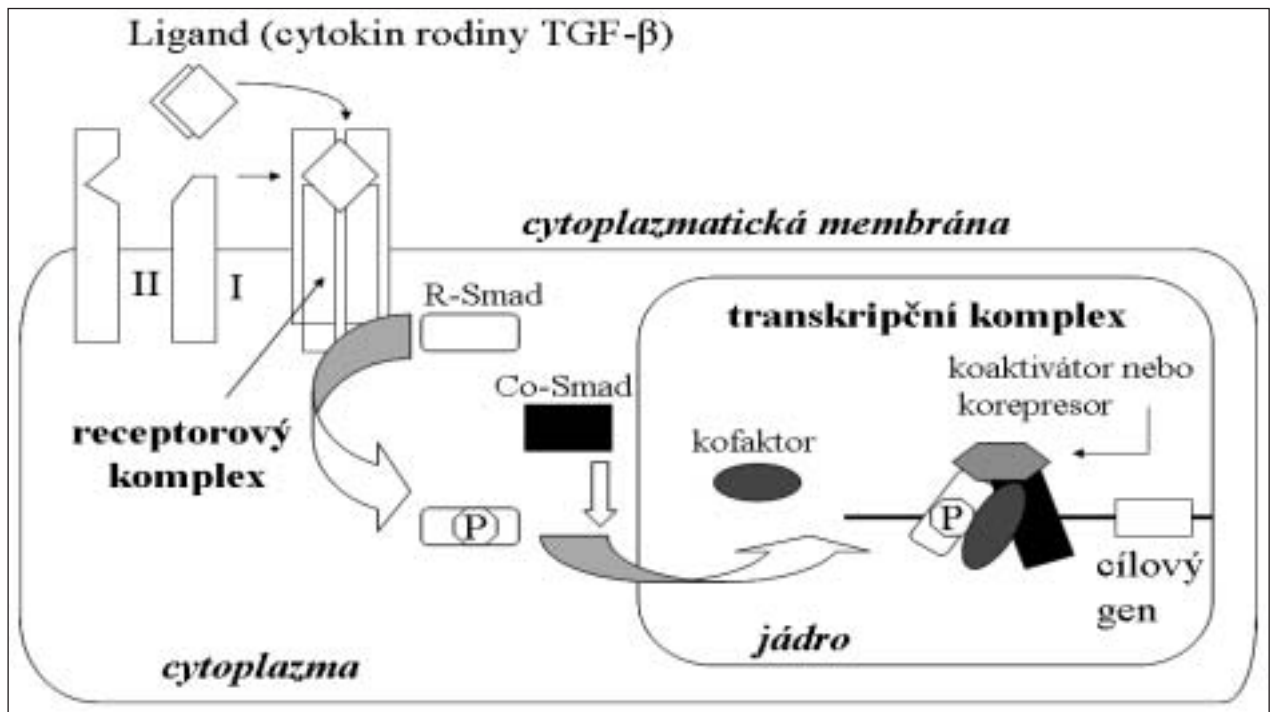
### Úvod

Transformační růstový faktor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) hraje důležitou úlohu v regulaci proliferace, apoptózy a imunitní odpovědi buněk, v angiogenezi a tvorbě extracelulární matrix (1-6). Tři isomerní formy TGF- $\beta$ , které jsou kódovány různými geny existují u buněk savců. Signální dráha je pro všechny formy stejná. Poruchy přenosu signálu TGF- $\beta$  byly nalezeny u řady nemocí včetně nádorů (5,7-11). Působení TGF- $\beta$  je zprostředkováno heteromerním komplexem receptorů na povrchu

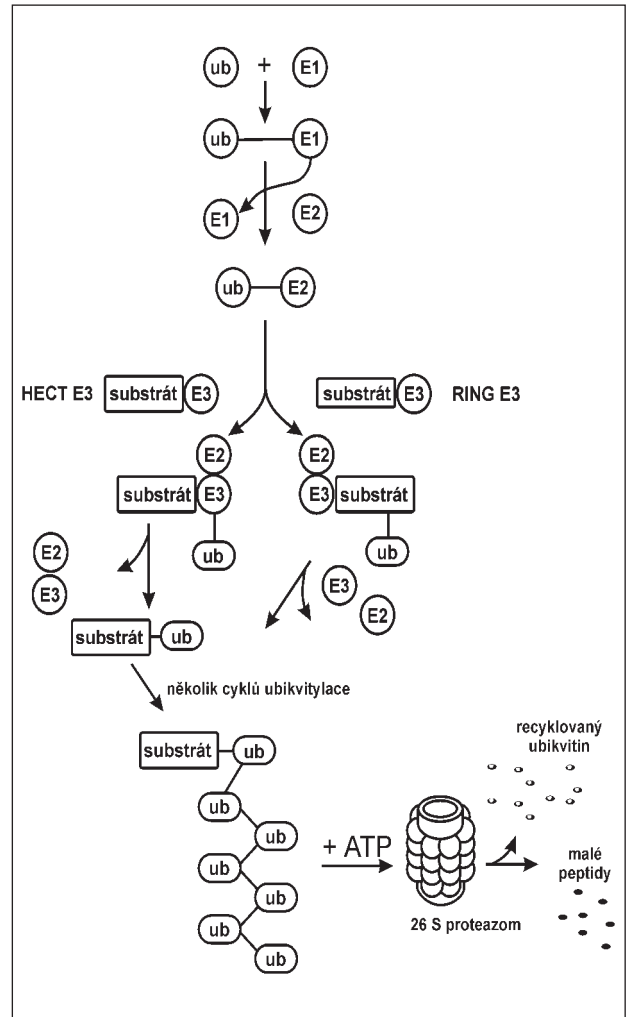
buňky. Komplex se skládá z receptorů II. a I. typu (T $\beta$ RII a T $\beta$ RI) a ligandu (TGF- $\beta$ ). T $\beta$ RII a T $\beta$ RI jsou proteinkinázy, které fosforylují serinové a threoninové zbytky složek signální dráhy TGF- $\beta$  při jejich aktivaci (12). Vazba ligandu indukce tvorbu uvedeného heteromerního komplexu, kde T $\beta$ RII fosforyluje T $\beta$ RI v oblasti přilehlé k membráně a obsahující hlavně glycinové a serinové zbytky. Aktivovaný T $\beta$ RI potom fosforyluje proteiny Smad, označované R-Smad, které jsou řízeny receptory. Vazba proteinů R-Smad na receptory I. typu

je usnadněna ukotvujícím proteinem SARA („Smad anchor for receptor activation“) (2). Aktivované proteiny R-Smad tvoří heteromerní komplexy se společným proteinem Smad4, který je také označován Co-Smad. Tyto komplexy se hromadí v jádře buněk, kde řídí expresi cílových genů působením TGF- $\beta$ . Řízení exprese těchto cílových genů závisí na typu buněk, na množství TGF- $\beta$  a probíhá interakcí s dalšími transkripčními faktory, koaktivátory a korepresory. Vedle proteinů R-Smad a Co-Smad existuje ještě třetí skupina tzv. inhibičních proteinů Smad (Smad6 a Smad7). Protein Smad7 přednostně inhibuje signální dráhu TGF- $\beta$  a aktivinů (13-15). Smad6 inhibuje signální dráhu kostních morfogenetických proteinů (16,17), které tvoří důležitou skupinu rodiny cytokinů TGF- $\beta$  a uskutečňují přenos signálu TGF- $\beta$  přes proteiny Smad1,5 a 8 (R-Smad). Protein Smad7 tvoří stabilní komplexy s aktivovanými BMPRI a tím brání fosforylaci proteinů Smad2 a 3 (R-Smad), tvorbě komplexů R-Smad-Smad4 a transportu těchto komplexů do jádra buněk. Smad7 tvoří i komplexy s aktivovanými receptory I. typu pro BMP a inhibuje tak i aktivaci proteinů Smad1,5 a 8 (18). Smad7 také váže E3-ubikvitinligázy Smurf1 („Smad ubiquitination regulatory factor“) a Smurf2 a tím předurčuje aktivované receptory I. typu pro TGF- $\beta$  i BMP k degradaci proteasomy (18,19). Kromě proteinu Smad7 je degradací v proteasomech regulována i hladina dalšího inhibitoru signální dráhy TGF- $\beta$ , proto-onkoproteinu SnoN (20,21). Popsaná signální dráha TGF- $\beta$ , schematicky zobrazená na obr. 1, není jediným možným přenosem signálu TGF- $\beta$  (4,22-25). TGF- $\beta$  aktivuje také další signální dráhy, nezávisle na proteinech Smad. Jedná se o signální dráhy proteinkináz MAPK (4,22,23), které jsou aktivovány mitogeny a o signální dráhu GTPázy RhoA (24,25). Ubikvitin-proteasomový systém je důležitým regulátorem signální dráhy TGF- $\beta$ . Řada složek signální dráhy TGF- $\beta$ , které ji stimulují nebo inhibují, je degradována v proteasomech. Poruchy v ubiquitinylaci (používá se i označení ubiquitinace a ubiquitylace) složek signální dráhy TGF- $\beta$  a v jejich degradaci proteasomy, tedy zvýšená degradace přenašečů signálu TGF- $\beta$  nebo naopak snížená degradace inhibitorů signální dráhy TGF- $\beta$ , často vedou k resistenci nádorových buněk na anti-proliferanční účinek TGF- $\beta$ .

**Obr.1.:** Zjednodušené schéma přenosu signálu cytokinů rodiny TGF- $\beta$ . Bližší popis signální dráhy TGF- $\beta$  je uveden v textu.



**Obr. 2.:** Schema ubiquitin-proteasomového systému. Ubikvitinylace a následný rozklad polyubikvitinylovaného proteinu v proteasomech je podrobně popsán v textu.



## Ubikvitin a ubikvitinylace

Ubikvitin je malý polypeptid (76 aminokyselinových zbytků), který je přítomen ve všech studovaných eukaryotických buňkách a tkáních. Jeho sekvence je velmi konzervativní a liší se jen ve 3 aminokyselinových zbytcích mezi ubikvitinem buněk kvasinek a člověka. Ubikvitin byl izolován již v roce 1975 skupinou Dr. Goldsteina (26). Ještě v roce 1984 bylo publikováno méně než 100 prací s klíčovým slovem ubikvitin. Výzkum v této oblasti je dnes daleko rozsáhlejší a svědčí o tom asi 1000 publikací s tímto klíčovým slovem v roce 2003.

Ubikvitinylace je post-translační modifikace proteinu, která spočívá v připojení polyubikvitinu k proteinu kovalentní vazbou. Probíhá mechanismem víceúrovňové kaskády, která slouží k označení proteinů pro rozklad v proteasomech (27). Enzym E1, který aktivuje C-konec ubikvitinu za použití ATP, tvoří s ním meziprodukt E1-ubikvitin (obr.2). Cystein v aktivním místě enzymu E1 je přítom vázán thioesterovou vazbou na C-koncový glycin ubikvitinu. Aktivovaný ubikvitin je potom přemístěn z E1 na thiolovou skupinu jednoho z konjugačních enzymů E2 opět za vzniku thioesterové vazby mezi cysteinem v aktivním místě enzymu E2 a C-koncovým glycinem ubikvitinu. Ve třetím stupni se připojí E3-ubikvitinligáza, která specificky rozpozná substrát. C-koncový glycin ubikvitinu je potom kovalentní isopeptidovou vazbou připojen ke druhé aminoskupině vnitřního lyzinového zbytku substrátu. V připojení dalších molekul ubikvitinu hraje úlohu elongační faktor E4 (28). C-koncový glycin každé další molekuly ubikvitinu se váže obvykle na specifický lyzinový zbytek (Lys-48) již před tím navázané molekuly ubikvitinu. Teprve po připojení více molekul ubikvitinu k substrátu dojde k rozpoznání substrátu proteasomem a substrát je degradován.

Zatímco enzym E1, který aktivuje ubikvitin, je jeden a konjugačních enzymů E2 je více než 40, E3-ubikvitinligázy jsou velmi početnou heterogenní skupinou proteinů (přes 500 proteinů), která umožňuje specificky označit polyubikvitinem velké množství různých proteinů. Pro značnou část substrátů určených k degradaci v proteasomech zatím neznáme rozpoznávací znaky pro enzymy E2 a E3 a degradaci proteasomy. Při tomto mechanismu rozpoznání může dojít k regulaci aktivity uvedených enzymů E2 a E3, ale také i k enzymatické modifikaci substrátu (27).

E3-ubikvitinligázy se dělí na tři skupiny podle struktury a rozpoznání substrátu. První skupina se řídí tak zvaným N-koncovým pravidlem, které platí pro degradaci proteinů s krátkou životností, které obsahují destabilizující N-koncové basické a hydrofóbní aminokyseliny typu I (arginin, lysin, histidin) nebo typu II (fenylalanin, tryptofan, leucin, isoleucin, tyrosin). Tato N-koncová sekvence, často nazývaná destruktční box nebo degon, je signálem pro ubikvitinylaci a následnou degradaci v proteasomech (29,30). Další skupiny E3-ubikvitinligáz představují HECT („homologous to the E6-AP COOH terminus“) (31,32) a RING („really interesting new gene“) E3-ubikvitinligázy (33). E6-AP je ubikvitinligáza, protein asociovaný k virovému proteinu E6 lidských papiloma virů, který se podílí na ubikvitinylaci a následné degradaci proteinu p53 v proteasomech (31). Cysteinový zbytek blízko COOH konce E6-AP je důležitý pro tvorbu thioesterové vazby s ubikvitinem jako u enzymů E1 a E2 a hraje podstatnou úlohu i v ubikvitinylaci substrátů. Ubikvitin je přemístěn z konjugačního enzymu E2 k cysteinu E3-ubikvitinligáz skupiny HECT před vazbou na substrát (obr.2). Aktivovaný ubikvitin se přímo váže z konjugačního enzymu E2 na substrát vázaný k E3-ubikvitinligáze skupiny RING (obr.2). E3-ubikvitinligázy skupiny RING obsahují charakteristickou oblast C3H2C3 nebo C3HC4, kde cysteinové (C) a histidinové (H) zbytky váží dva zinkové atomy na molekulu ligázy.

E3-ubikvitinligázy, které se podílejí na označení proteinů Smad, určených k degradaci v proteasomech, náleží do podskupiny HECT a byly pojmenovány Smurf („Smad ubiquitination regulatory factor“).

Objev mechanismu označení proteinů polyubikvitinem (27,34-37) pro rozklad v proteasomech byl v roce 2004 odměněn Švédskou královskou akademií Nobelovou cenou za chemii. Aaron Ciechanover a Avram Hershko z Izraele a Irwin Rose z USA získali tuto cenu, protože jimi popsaný mechanismus bude jistě využit k výrobě léků proti mnohým onemocněním a to nejen nádorovým.

## E3-ubikvitinligázy Smurf, NEDD4-2 a WWP1 a jejich úloha v degradaci proteinů Smad, receptorů typu I pro TGF-β a BMP, GTPázy RhoA a proto-onkoproteinu SnoN

Smurf1 se podílí na specifické ubikvitinylaci proteinů Smad1 a Smad5, které přenášejí signál kostních morfogenetických proteinů (BMP). Konzervativní cysteinový zbytek blízko COOH konce oblasti HECT této E3-ubikvitinligázy tvoří thioesterovou vazbu s ubikvitinem. Ubikvitin je přenesen k uvedenému konzervativnímu cysteinovému zbytku z příslušného konjugačního enzymu E2. E3-ubikvitinligáza-ubikvitin thioester je potom donorem ubikvitinu pro tvorbu amidové vazby se substrátem (Smad1 nebo Smad5). E3-ubikvitinligázy typu HECT obsahují kromě oblasti HECT na C-konci dále doménu WW (38-40) uprostřed a doménu C2 na N-konci. Doména C2 váže fosfolipid v závislosti na iontech  $Ca^{2+}$  a tato doména byla poprvé popsána u protein-kinázy C, jako oblast vážící  $Ca^{2+}$ . Doména se nachází v řadě proteinů, které účinkují v buněčné signalizaci. Doména WW o velikosti 38-40 aminokyselinových zbytků obsahuje dva charakteristické tryptofanové zbytky (W), podle kterých byla pojmenována. Tyto tryptofanové zbytky jsou odděleny 20-22 aminokyselinami (38-40). Doména WW neobsahuje žádné disulfidické můstky a tvoří trojčetřčcovou strukturu antiparalelního β-listu. Doména WW interaguje přednostně s krátkými sekvencemi, bohatými na prolinové zbytky. Doména WW proteinu Smurf1 interaguje specificky s proteiny Smad1 a Smad5 a ne s proteiny Smad2 a Smad3. Sekvence bohatá na prolin (motiv PPXY) v oblasti linkeru molekul Smad hraje úlohu v interakci se Smurf1. Účinek Smurf1 není závislý na indukci pomocí BMP (41). Smurf1 reguluje přenos signálu BMP nejen přes degradaci proteinů Smad1 a Smad5. Smurf1 interaguje také s inhibitory přenosu signálu TGF-β a BMP, proteiny Smad6 a Smad7 a přes tyto proteiny i s receptory I. typu pro TGF-β i BMP a způsobí jejich ubikvitinylaci a následnou degradaci v proteasomech (42,43). E3-ubikvitinligáza Smurf1 je schopna interagovat s membránou přes svou C2 doménu a tím naopak transportovat Smad7 k plazmatické membráně (44).

Smurf1 účinkuje také v ubikvitinylaci guanosin trifosfatázy (GTPázy) RhoA (45,47). RhoA hraje úlohu v přenosu signálu TGF-β, nezávislém na proteinech Smad (24,25). Intenzita této dráhy přenosu signálu TGF-β závisí na typu buněk (24,25). Cílené vyřazení genu pro Smurf 1 u myši neovlivnilo signální dráhu TGF-β a BMP (47). Vedlo však k akumulaci fosforylované MAPKK kinasy MEKK2 a aktivaci kaskády JNK (c-Jun N-koncové kinasy) a ovlivnilo vývoj a homeostázu kostí (47). Vyřazení genů pro Smurf 1 i Smurf2 bylo však pro embrya myši letální a ukazuje na přinejmenším částečně zastupitelnou funkci Smurf1 prostřednictvím Smurf2 (47).

Smurf2 také náleží do E3-ubikvitinligáz podskupiny HECT, obsahuje doménu WW a interaguje s proteiny R-Smad aktivovanými fosforylačními receptory, ale ne s proteinem Co-Smad (Smad4). Smurf2 má největší afinitu ke Smad1 a Smad2 (48-50), ale interaguje i se Smad3 (47,48) a možná i s ostatními R-Smad (Smad5 a 8). Smurf2 se také váže ke Smad7 a to nezávisle na přenosu signálu TGF-β (19). Smad7 pomocí své C-koncové domény (51) zprostředkuje vazbu Smurf2 k receptorům I. typu pro TGF-β a BMP a následuje rozklad komplexu těchto receptorů se Smad7 v proteasomech (19). Smad7 je tedy adaptorovým proteinem pro ubikvitinylaci receptorů I. typu pro TGF-β a BMP. Stabilita Smad7 je určena mírou acetylace jeho lysinových zbytků 64 a 70. Stejně lysinové zbytky jsou



cílem ubikvitinylace a následné degradace v proteasomech (52,53).

Interakce Smurf2 a Smad2 je závislá na fosforylaci Smad2 v C-koncovém motivu SXS, tedy na aktivaci Smad2 (48). Motiv bohatý na prolinové zbytky v oblasti linkeru proteinu Smad2 je pravděpodobně maskován v nefosforylovaném stavu a je nepřístupný pro interakci s doménou WW E3-ubikvitinligázy Smurf2. Rada jaderných proteinů interagujících s proteiny R-Smad může jednak ovlivňovat afinitu Smurf2 k R-Smad, ale může být i tím předurčena k degradaci v proteasomech. Jedním z těchto proteinů je SnoN („Ski-related novel gene product“). Smad2 působí jako adaptor závislý na TGF- $\beta$  pro Smurf2 k ubikvitinylaci SnoN (50). O proto-onkoproteinu SnoN pojednáme v samostatném odstavci níže.

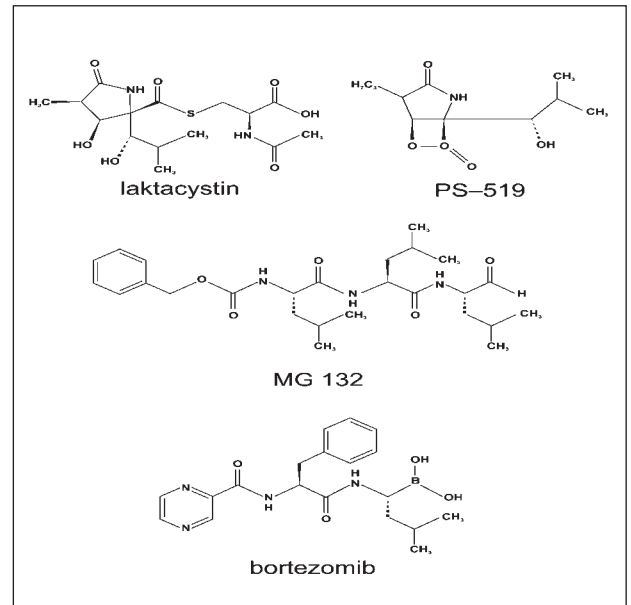
E3-ubikvitinligázy NEDD4-2 („neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-2“) a WWP1 se podobají E3-ubikvitinligázám Smurf a obsahují stejné domény (54,55). Podílejí se obdobně jako E3-ubikvitinligázy Smurf na ubikvitinylaci Smad2 a jeho degradaci v proteasomech a přes tvorbu ternárního komplexu obsahujícího Smad4, inhibiční Smad7 a E3-ubikvitinligázu i na ubikvitinylaci Smad4 a jeho následné degradaci v proteasomech. Inhibiční Smad7 zde hraje úlohu adaptéru interakce Smad4 s E3-ubikvitinligázou (54). Smad7 slouží podobně i jako adaptor pro ubikvitinylaci receptorů I. typu pro TGF- $\beta$  pomocí E3-ubikvitinligázy NEDD4-2 a jejich degradaci v proteasomech (55).

### E3-ubikvitinligázy jiných typů, které se podílí na ubikvitinylaci proteinů Smad a proto-onkoproteinu SnoN

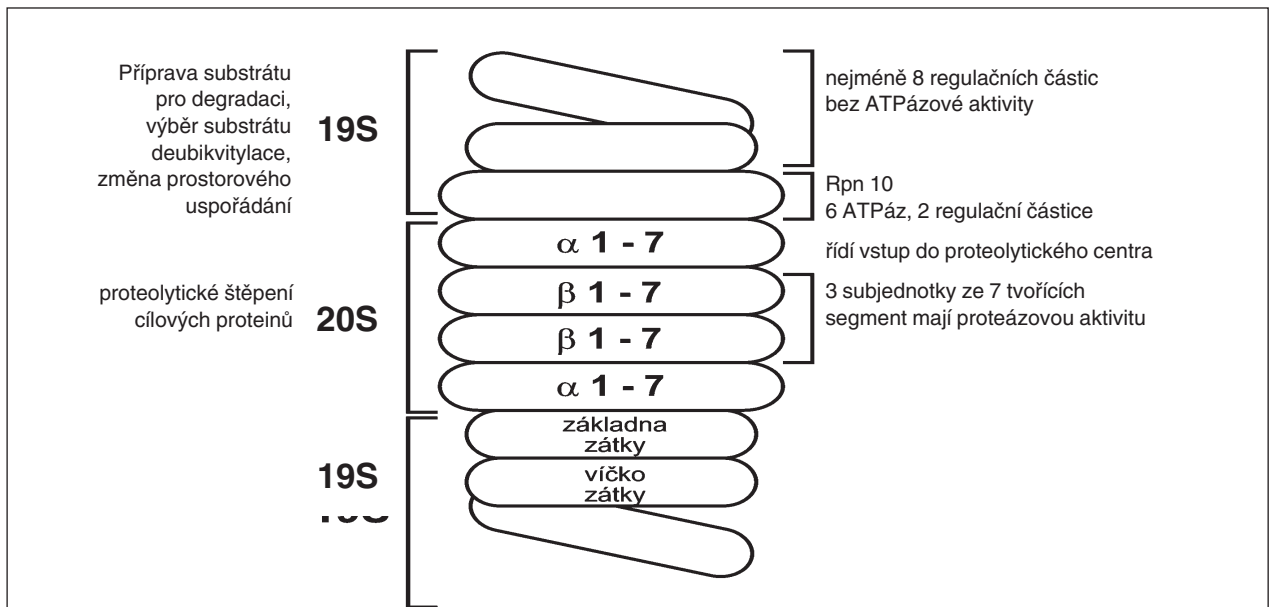
E3-ubikvitinligázový komplex ROC1-SCF<sup>F</sup>, který se podílí na ubikvitinylaci Smad3, náleží do skupiny RING E3-ubikvitinligáz (56). Protein ROC1 (také označovaný Rbx1 nebo Hrt1) váže cullin1, který je složkou komplexu SCF. Dalšími proteiny v komplexu jsou Skp1 a Fbw1a (často označován jako  $\beta$ TrCP1), který je důležitý pro specifické působení E3-ubikvitinligáz tohoto typu (56). Interakci této E3-ubikvitinligázy s jadernou aktivovanou formou Smad3 napomáhá přítomnost koaktivátoru transkripce, proteinu p300. Smad3 je s komplexem E3-ubikvitinligázy přenesen z jádra do cytoplazmy a degradován v proteasomech (56). Podobné komplexy E3-ubikvitinligázy typu RING jsou součástí komplexu APC podporujícího anafázi a hrají důležitou úlohu v mitoze neboli jaderném dělení. Během anafáze se obě sesterské chromatidy od sebe synchronizovaně oddělují a jsou taženy mitotickým vře-

těnkem k opačným pólům buňky. Stroschein et al. (57) popsali ubikvitinylaci proto-onkoproteinu SnoN právě komplexem APC a Smad3 účinkoval při této ubikvitinylaci jako adaptorový protein. Na ubikvitinylaci se podílel UbcH5 jako konjugací enzym E2. UbcH5 hraje ale úlohu v ubikvitinylaci za účasti RING i HECT E3-ubikvitinligáz (57). E3-ubikvitinligázové komplexy Jab1, SCF<sup>F</sup>-TrCP1 nebo CHIP mají podíl na ubikvitinylaci proteinu Smad4 a jeho následné degradaci v proteasomech (58-61). Jab1 (také označená jako CNS5) je složka signalisomového komplexu COP9, který obsahuje 8 podjednotek s homologií k regulačním podjednotkám proteasomu. Jab1 byl poprvé nalezen jako koaktivátor transkripce genu pro c-Jun. Jab1 se podílí také na degradaci Smad7 (62). CHIP („carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein“) se podílí na funkci chaperonu Hsc70 a je zároveň E3-ubikvitinligázou s U-boxem (61). Tato E3-ubikvitinligáza náleží do skupiny RING, ale postrádá konzervativní cysteiny a histidiny, které váží atomy zinku. CHIP interaguje se Smad1 a Smad4, podílí se na jejich ubikvitinylaci a degradaci proteasomou (61).

Obr.4.: Struktura vybraných inhibitorů proteasomů.



Obr.3.: Schema složení proteasomu a popis funkcí jeho podjednotek.



## Sumoylace

V letech 1996-1997 byla objevena skupina polypeptidů podobných ubikvitinu, která byla pojmenována SUMO (Small Ubiquitin-related Modifier) (63,64). Mechanismus post- translační modifikace cílových proteinů sumoylací se podobá ubikvitinylaci (65-68). Enzymy, které účinkují v sumoylaci a odstranění SUMO jsou však jiné než při ubikvitinylaci a deubikvitinylaci. Sumoylace často probíhá na stejném lyzinovém zbytku substrátu jako ubikvitinylace a proto ji inhibuje. Cílem sumoylace jsou proteiny hrající důležitou úlohu v přenosu signálu, transkripci, změně struktury chromatinu, opravě DNA, mitoze, virové infekci a dopravě makromolekul (RNA a proteinů) mezi cytoplazmou a jádrem buňky (65-68).

Sumoylace na rozdíl od ubikvitinylace neoznačuje proteiny pro degradaci v proteasomech, ale reguluje interakce protein-protein, lokalizaci v různých podstrukturách jader, např. v jaderných tělískách („nuclear bodies“), interakci protein-DNA, enzymatickou aktivitu a jak již bylo zmíněno často inhibuje ubikvitinylaci. Skupina SUMO E3-ligáz PIAS („protein inhibitor of activated STAT“), inhibitorů aktivovaných přenašečů signálu a aktivátorů transkripcí STAT („signal transducers and activators of transcription“), interaguje se Smad4 a katalyzuje sumoylaci Smad4 (69-72). Sumoylace Smad4 zvyšuje jeho stabilitu a v některých případech i aktivitu koaktivátoru v regulaci transkripcí (69-71). Naopak v jiných případech sumoylace Smad4 snížila jeho aktivitu koaktivátoru v regulaci transkripcí (72,73). Je pravděpodobné, že sumoylace Smad4 ovlivnila transkripci různých genů různým způsobem podle druhu analyzovaného promotoru. PIAS se také podílí na sumoylaci Smad3 i když zatím neznáme následky této post-translační modifikace (74).

## Deubikvitinylace

Kromě ubikvitinylací enzymů se v buňkách eukaryot nachází i značný počet (asi 80) deubikvitinylací enzymů (75). Pomocí studia interakcí protein-protein v dvouhybridním kvasinovém systému byl identifikován deubikvitinylací enzym Uch37 jako partner proteinů Smad s největší afinitou k inhibičnímu Smad7. Další studium významu tohoto deubikvitinylací enzymu v přenosu signálu rodiny cytokinů TGF- $\beta$  jistě přinese nové poznatky o regulaci této signální dráhy.

## Proteasomy

Proteasom je komplexní bílkovinná částice o sedimentační konstantě 26S a hmotnosti přibližně 2,5 MDa. Proteasomy se nacházejí v cytoplazmě i jádře všech eukaryotických buněk (76). Proteasomy se skládají ze dvou funkčních komplexů proteinů (obr.3). První část nese katalytickou aktivitu a má tvar sudu délky 15 nm a průměru 11 nm. Má sedimentační konstantu 20S a skládá se ze čtyř segmentů. Dva vnitřní segmenty jsou složeny ze sedmi různých  $\beta$ -podjednotek a dva vnější segmenty ze sedmi různých  $\alpha$ -podjednotek.

Tři ze sedmi  $\beta$ -podjednotek mají proteolytickou aktivitu podobnou trypsinu, chymotrypsinu a peptidylglutamyl-peptid hydrolyzáze (77-79). Tělo sudu je z obou stran zazátkováno komplexem proteinů o sedimentační konstantě 19 S. Tyto komplexy jsou nezbytné pro správnou degradaci proteinů s navázaným polyubikvitinem. Rozpoznávají a vážou tyto proteiny určené k degradaci a vtahují je dovnitř dutiny proteasomu, kde se nachází katalytická místa s proteázovou aktivitou. Regulační podjednotky o sedimentační konstantě 19 S zařídí rozbalení proteinů určených k degradaci, odštěpení řetězců ubikvitinu a otevření obou segmentů  $\alpha$ -podjednotek 20 S proteasomu.

## Inhibitory proteasomů

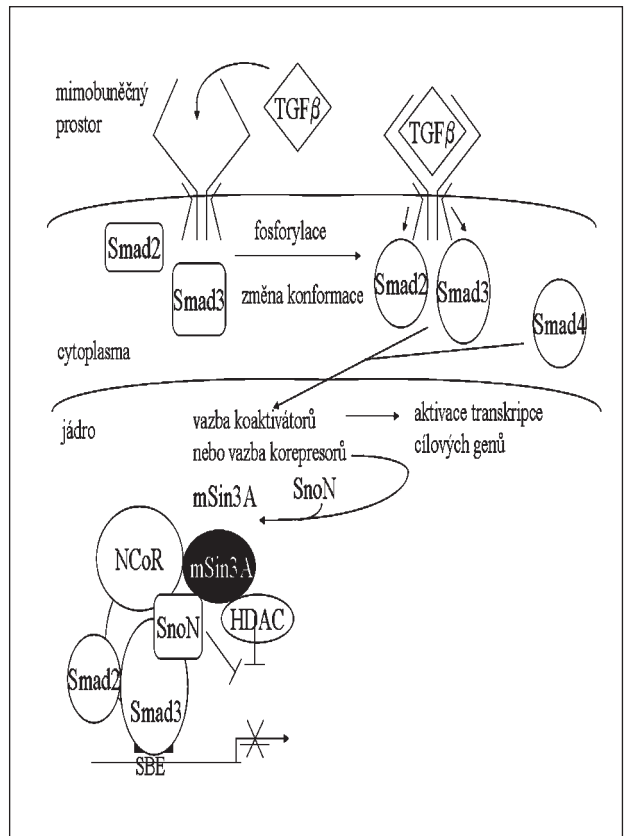
Úloha proteasomů v růstu buněk a apoptóze nabízí atraktivní cíl pro protinádorovou terapii. Různé inhibitory proteasomů byly zkoušeny *in vitro* a *in vivo* v modelových pokusech. Inhibitory proteasomů jsou různé skupiny sloučenin přírodního charakteru (např. laktacystin, 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- $\beta$ -D-glukóza, (-)-epigal-

loylkatechin-3-gallát, eponemycin, epoxymycin a další) nebo syntetické aldehydy peptidů (např. N-benzoyloxykarbonyl-leucyl-leucyl-leucinal /MG132/, N-acetyl-leucyl-leucyl-norleucinal /ALLN/, N-acetyl-leucyl-leucyl-normethional /ALLM/ a další), vinylsulfontripeptid (4-hydroxy-5-jodo-3-nitrofenylacetyl-leucyl-leucyl-leucinvinylsulfon), dipeptidyl derivát boronové kyseliny (např. bortezomib, nazývaný též Velcade, původně PS-341).

Pokusně jsou zkoušeny i další deriváty odvozené od těchto inhibitorů. Jedná se o MG262, který je obdobou MG132, ale obsahuje místo aldehydové skupiny boronát a klasto-laktacystin- $\beta$ -laktan, který je aktivní složkou vzniklou z laktacystinu a jeho derivát, který nese v poloze C-7 n-propyl místo methylové skupiny (PS-519, také známý jako MLN 519). Struktura některých z těchto inhibitorů proteasomů je ukázána na obr.4. Nízká specifita a velmi rychlý obrát většiny těchto látek neumožňují jejich klinické použití. Do klinického zkoušení se dostaly jen dva inhibitory proteasomů a to bortezomib, patentovaný a vyráběný firmou Millenium Pharmaceuticals pod označením VELCADE™ a společně vyvinutý s Dana-Farber Cancer Institute v Bostonu, i řady nádorových onemocnění, především mnohočetného myelomu (80-82) a PS-519, který společně vyvinuly firmy Millenium Pharmaceuticals Inc. a PAION GmbH, k léčbě ischemie u cévních mozkových příhod (83).

Řada z těchto inhibitorů proteasomů byla pokusně použita při studiu vlivu degradace v proteasomech na přenos signálu cytokinů rodiny TGF- $\beta$ .

**Obr.5:** Účast proteinu SnoN v korepresorovém komplexu s transkripčními faktory Smad při inhibici transkripcí cílových proteinů signální dráhy TGF- $\beta$ .



## Ubikvitinylace a degradace onkogenních mutant proteinů Smad

Ubikvitin-proteasomový systém udržuje nízkou základní hladinu složek signální dráhy cytokinů rodiny TGF- $\beta$ . Má schopnost i vypnout signální dráhu degradací aktivovaných receptorů a proteinů R-Smad po docílení potřebné transkripční odpovědi. Je také zahrnut v degradaci neaktivních

mutant Smad4 u řady lidských nádorů, zejména u nádorů slinivky břišní, kolorektálních karcinomů a plicních karcinomů a v menší míře u nádorů mléčné žlázy, vaječníků, prostaty, krku, jícnu a žaludku a mutant Smad2 u kolorektálních a plicních karcinomů (5,8,58,84-86). Některé z těchto onkogenních mutací v proteinech Smad4 a Smad2 nebrání jejich aktivaci, tedy fosforylaci v uvedené sekvenci Ser-Ser-X-Ser v C-koncové oblasti proteinu Smad2, oligomerizaci a translokaci do jádra, kde se účastní regulace transkripce (87-89). Smysl měnící mutace v N-koncové blasti MH1 proteinu Smad4 (L43S, G65V, R100T a P130S) vedou ke zvýšené ubikvitinylaci a degradaci v proteasomech onkogenních Smad4 ve srovnání se Smad4 divokého typu (87-89). Podobně záměna argininu za cystein v poloze 133 v oblasti MH1 proteinu Smad2 znamenala zvýšenou ubikvitinylaci a degradaci proteinu onkogenního Smad2 ve srovnání se Smad2 divokého typu (88). Smysl genetického kódu měnící mutace v poloze 515 v doméně MH2 proteinu Smad4, která způsobila záměnu argininu za stop-kodon a tím zkrácený protein Smad4 o 38 aminokyselin u adenokarcinomů slinivky břišní, měla za výsledek zvýšenou ubikvitinylaci a degradaci zkráceného proteinu Smad4 v proteasomech (90). Navíc tato mutace zabránila asociaci zkráceného Smad4 se Smad2 a translokaci do jádra, tedy vazbu k DNA (90). Mutace, měnící smysl genetického kódu, v poloze 407 v doméně MH2 proteinu Smad2 u karcinomu jater, znamenající záměnu glutaminu za arginin a mutace v poloze 369 Smad2 u kolorektálního karcinomu vedoucí k záměně glutaminu za arginin činí Smad2 nestabilní a v prvním případě mutace Q407R způsobila rychlou ubikvitinylaci a degradaci mutovaného Smad2 v proteasomech (91,92). Tato zjištění naznačují, že část onkogenních mutací proteinů Smad4 a Smad2 vede k jejich rychlé ubikvitinylaci a degradaci v proteasomech. Výsledkem je porucha v přenosu signálu TGF- $\beta$ , deregulace proliferace buněk a podpora tvorby nádoru.

E3-ubikvitinligázy řídí umístění, aktivitu a stabilitu přenašečů signálu TGF- $\beta$ , zejména Smad2 a T $\beta$ RI. Jak jsme uvedli výše, Smurf2 interaguje se Smad7, který slouží jako adaptor pro interakci Smurf2 s T $\beta$ RI, pro ubikvitinylaci T $\beta$ RI a pro degradaci T $\beta$ RI v proteasomech (19). Vysoká hladina exprese Smurf2 byla nalezena u karcinomu jícnu vzorků z 80 pacientů a znamenala invazi nádoru, metastáze do lymfatické tkáně a špatnou prognózu pro pacienty s tímto onemocněním (93). Vysoká hladina Smurf2 znamenala i zvýšenou degradaci Smad2 a tedy sníženou hladinu Smad2 u uvedených pacientů a celkovou poruchu přenosu signálu TGF- $\beta$  (93).

TGF- $\beta$  funguje jako supresor nádoru v časných fázích tvorby nádoru a naopak podporuje pozdní stadium nádoru a vznik metastáz (5,8,84,86,94,95). V pozdním stadiu nádoru TGF- $\beta$  neinhibuje růst buněk a indukují transdiferenciaci epitheliálních buněk na mesenchymální a tím invazi nádoru a zvýšení metastáz. Snížení hladiny Smurf2 a tím současně zvýšení intenzity přenosu signálu TGF- $\beta$  může u pozdního stadia nádoru naopak podporovat jeho metastáze. Ubikvitinligáza RNF11, protein typu RING, má zvýšenou expresi u invazivních nádorů mléčné žlázy (96). RNF11 interaguje se Smurf2 a zřejmě ji ubikvitinyluje a předurčí k degradaci v proteasomech a tím zesílí přenos signálu TGF- $\beta$  u těchto invazivních nádorů mléčné žlázy (96).

### Protoonkoprotein SnoN

Struktura proto-onkoprotein SnoN („Ski-related novel gene product“) je podobná struktuře proto-onkoproteinu Ski. Ski byl poprvé popsán jako onkoprotein v-Ski ptačího Sloan-Kettering retroviru, který vyvolal onkogenní transformaci kuřecích embryonálních buněk (97). Proto-onkoprotein SnoN je jaderný protein, který obsahuje 728 aminokyselin. N-koncová část obsahuje oblast 270 aminokyselin, která je shodná u všech čtyř savčích forem Sno. Tyto formy proteinu Sno (c-

SnoN, SnoN2, SnoA a SnoI) vznikají alternativním sestřihem odpovídající pre-mRNA. Uvedená oblast 270 aminokyselin je konzervativně zachována i u proteinů c-Ski a v-Ski. C-konec se liší u jednotlivých členů této rodiny proteinů. Exprese Ski a SnoN je nízká a je zvýšena jen v jistých fázích embryonálního vývoje a u některých nádorových buněk (98). Gen pro Sno leží na chromosomu 3q26, tedy v onkogenním lokusu, který je často amplifikován u lidských nádorů (99). Zvýšená exprese SnoN je špatným prognostickým faktorem u karcinomů mléčné žlázy pozitivních na receptor pro estrogen (100). Vedle exprese tu hraje úlohu i lokalizace SnoN, tedy rozdělení mezi jádro a cytoplazmu (100). Exprese SnoN je kontrolována na úrovni stability proteinu SnoN samotným TGF- $\beta$  (101). Ihned po stimulaci pomocí TGF- $\beta$  je SnoN degradován (20,21) a to umožní akumulaci Smad3 a Smad2 v jádře a jejich fungování jako transkripční faktory při řízení transkripce cílových genů působení TGF- $\beta$ . TGF- $\beta$  také naopak stimuluje expresi genu pro SnoN a tím zvyšuje hladinu mRNA pro SnoN. Umožňuje tím vypnout signální dráhu TGF- $\beta$ .

SnoN je represorem transkripce cílových genů působení TGF- $\beta$  prostřednictvím transkripčních faktorů Smad2 a Smad3 (98,102). SnoN tvoří komplex s těmito proteiny Smad a se Smad4. V tomto komplexu, který se váže na DNA, jsou dále přítomny jaderný korepresor N-CoR, mSin3A a histondeacetyláza (HDAC). Tento komplex nahradí komplex Smad2/3 a Smad4 s transkripčním koaktivátorem p300/CBP s aktivitou histonacetylázy a změni tak původně indukci transkripce cílových genů působení TGF- $\beta$  na represi transkripce těchto genů (obr.5). SnoN neinhiboval transkripční cílových genů působení TGF- $\beta$  v epitheliálních buňkách plic křečka na rozdíl od linií HaCaT (lidská linie keratinocytů) a HeLa buněk (101). Zdá se tedy, že účinkování SnoN je závislé i na typu buněk (103). Tento předpoklad posiluje i další zjištění, že SnoN +/- myši vyvinou lymfomy v daleko menší frekvenci než normální SnoN+/+ myši (104). SnoN zde působí jako nádorový supresor, zatímco v převážně většině případů působí jako stimulant tvorby nádoru. Má tedy onkogenní nebo antionkogenní účinky podobně jako TGF- $\beta$ .

### Závěr

Ubikvitin-proteasomový systém ovlivňuje přenos signálu cytočinů rodiny TGF- $\beta$  a důkladnější poznání jeho úlohy v této signální dráze umožní i využití v terapii nádorových onemocnění. Inhibitor proteasomů bortezomib by mohl zvýšit hladinu receptorů a proteinů Smad v případech jejich zvýšeného rozkladu např. při neobvykle vysoké expresi E3-ubikvitinligáz, účastnicích se na jejich ubikvitinylaci, tedy označení pro rozklad v proteasomech. V těchto případech by bylo možno i zablokovat expresi specifických E3-ubikvitinligáz pomocí metody RNA interference (105,106). Dostat malou interferující RNA (siRNA) v dostatečném množství a s dostatečnou účinností specificky do nádorové tkáně však zatím zůstává dosti podstatným problémem.

Naopak v některých případech karcinomů se setkáváme s poruchou ubikvitin-proteasomového systému, např. u karcinomu jícnu (107). Rezistence nádorových buněk na anti-proliferální účinek TGF- $\beta$  je zde způsobena neschopností TGF- $\beta$  indukovat rozklad proto-onkoproteinu SnoN (107). Podobným příkladem zvýšení hladiny proto-onkoproteinu SnoN v invazivních karcinomech mléčné žlázy je snížená exprese E3-ubikvitinligázy typu RING, která je součástí komplexu APC podporujícího anafázi a podílí se na ubikvitinylaci SnoN pro jeho degradaci v proteasomech (108). Pokud jsou proteasomy funkční a defekt je jen v ubikvitinylaci, lze použít u některých typů buněk inhibitor syntézy proteinu anisomycin. Anisomycin snižuje hladinu SnoN degradací v proteasomech, která je nezávislá na ubikvitinylaci, aktivaci MAPK, inhibici syntézy proteinu a aktivaci proteinů Smad (109).

### Poděkování

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NC/7605-3.



## Literatura:

1. Piek E, Roberts AB. Suppressor and oncogenic roles of transforming growth factor- $\beta$  and its signaling pathways in tumorigenesis. *Adv Cancer Res* 2001; 83: 1-54.
2. Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF- $\beta$  signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003; 113: 685-700.
3. Miyazono K, Suzuki H, Imamura T. Regulation of TGF- $\beta$  signaling and its roles in progression of tumors. *Cancer Sci* 2003; 94: 230-234.
4. Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF- $\beta$  family signalling. *Nature* 2003; 425: 577-584.
5. Fuchs O. Úloha signální dráhy indukované transformačním růstovým faktorem beta při vzniku nádorů. *Klin onkologie* 2002; 15: 7-16.
6. Fuchs O, Kubrová O. Signální dráha indukovaná cytokiny rodiny transformačního růstového faktoru beta (TGF $\beta$ ). *Biol listy* 2002; 67: 1-39.
7. Blobel GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor  $\beta$  in human disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1350-1358.
8. deCaestecker MP, Piek E, Roberts AB. Role of transforming growth factor- $\beta$  signaling in cancer. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1388-1402.
9. Kim IY, Kim MM, Kim S-J. Transforming growth factor- $\beta$ : biology and clinical relevance. *J Biochem Mol Biol* 2005; 38: 1-8.
10. Grady WM. Transforming growth factor- $\beta$ , Smads, and cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 3151-3154.
11. Danielpour D. Functions and regulation of transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) in the prostate. *Eur J Cancer* 2005; 41:846-857.
12. ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGF- $\beta$ -Smad signalling. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 265-273.
13. Whitman M. Feedback from inhibitory SMADs. *Nature* 1997; 389: 549-551.
14. Hayashi H, Abdollah S, Qiu J et al. The MAD-related protein Smad7 associates with the TGF $\beta$  receptor and functions as an antagonist of TGF $\beta$  signalling. *Cell* 1997; 89: 1165-1173.
15. Nakao A, Afrakhte A, Moren T et al. Identification of Smad7, a TGF $\beta$ -inducible antagonist of TGF- $\beta$  signalling. *Nature* 1997; 389: 631-635.
16. Imamura T, Takase M, Nishihara A et al. Smad6 inhibits signalling by the TGF-beta superfamily. *Nature* 1997; 389: 622-626.
17. Hata A, Lagna G, Massague J, Hemmati-Brivanlou A. Smad6 inhibits BMP/Smad1 signaling by specifically competing with the Smad4 tumor suppressor. *Genes Dev* 1998; 12: 186-197.
18. Hanyu AY, Ishidou T, Ebisawa T et al. The N domain of Smad7 is essential for specific inhibition of transforming growth factor- $\beta$  signaling. *J Cell Biol* 2001; 155: 1017-1027.
19. Kavsak P, Rasmussen RK, Causing CG et al. Smad7 binds to Smurf2 to form an E3 ubiquitin ligase that targets the TGF $\beta$  receptor for degradation. *Mol Cell* 2000; 6: 1365-1375.
20. Sun Y, Liu X, Ng-Eaton E et al. SnoN and Ski protooncoproteins are rapidly degraded in response to transforming growth factor  $\beta$  signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 12442-12447.
21. Wan Y, Liu X, Kirschner MW. The anaphase-promoting complex mediates TGF- $\beta$  signaling by targeting SnoN for destruction. *Mol Cell* 2001; 8: 1027-1039.
22. Engel ME, McDonnell MA, Law BK, Moses HL. Interdependent SMAD and JNK signaling in transforming growth factor- $\beta$ -mediated transcription. *J Biol Chem* 1999; 274: 37413-37420.
23. Yu L, Hebert MC, Zhang YE. TGF- $\beta$  receptor-activated p38 MAP kinase mediates Smad-independent TGF- $\beta$  responses. *EMBO J* 2002; 21: 3749-3759.
24. Denicourt C, Dowdy SF. Another twist in the transforming growth factor  $\beta$ -induced cell-cycle arrest chronicle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 15290-15291.
25. Bhowmick NA, Ghiassi M, Aakre M. et al. TGF- $\beta$ -induced RhoA and p160Roc activation is involved in the inhibition of Cdc25A with resultant cell-cycle arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 15548-15553.
26. Goldstein G, Scheid M, Hammerling U et al. Isolation of a polypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is probably represented universally in living cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 11-15.
27. Glickman MH, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev* 2002; 82: 373-428.
28. Hoppe T. Multiubiquitylation by E4 enzymes: „one size“ doesn't fit all. *Trends Biochem Sci* 2005; 30: 183-187.
29. Bartel B, Wüning I, Varshavsky A. The recognition component of the N-end rule pathway. *EMBO J*. 1990; 9: 3179-3189.
30. Varshavsky A, Turner G, Du F, Xie Y. The ubiquitin system and the N-end rule pathway. *Biol Chem* 2000; 381: 779-789.
31. Huijbregtse JM, Scheffner M, Beaudenon S, Howley PM. A family of proteins structurally and functionally related to the E6-AP ubiquitin-protein ligase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 2563-2567.
32. Kumar S, Kao WH, Howley PM. Physical interaction between specific E2 and Hect E3 enzymes determines functional cooperativity. *J Biol Chem* 1997; 272: 13548-13554.
33. Petroski MD, Deshaies RJ. Function and regulation of cullin-RING ubiquitin ligases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6: 9-20.
34. Hershko A, Ciechanover A, Heller H et al. Proposed role of ATP in protein breakdown: conjugation of proteins with multiple chains of the polypeptide of ATP-dependent proteolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 1783-1786.
35. Hershko A, Heller H, Elias S et al.: Components of ubiquitin-protein ligase system. *J Biol Chem* 1983; 258: 8206-8214.
36. Hershko A, Heller H, Eytan E et al. ATP-dependent degradation of ubiquitin-protein conjugates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 1619-1623.
37. Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 425-479.
38. Staub O, Rotin D. WW domains. *Structure* 1996; 4: 495-499.
39. Bork P, Sudol M. The WW domain: a signalling site in dystrophin? *Trends Biochem Sci* 1994; 19: 531-533.
40. Macías MJ, Wiesner S, Sudol M. WW and SH3 domains, two different scaffolds to recognize proline-rich ligands. *FEBS Lett* 2002; 513: 30-37.
41. Zhu H, Kavsak P, Abdollah S et al. A Smad ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature* 1999; 400: 687-693.
42. Ebisawa T, Fukuchi M, Murakami G et al. Smurf1 interacts with transforming growth factor- $\beta$  type I receptor through Smad7 and induces receptor degradation. *J Biol Chem* 2001; 276: 12477-12480.
43. Murakami G, Watabe T, Takaoka K et al. Cooperative inhibition of bone morphogenetic protein signaling by Smurf1 and inhibitory Smads. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 2809-2817.
44. Suzuki C, Murakami G, Fukuchi M et al. Smurf1 regulates the inhibitory activity of Smad7 by targeting Smad7 to the plasma membrane. *J Biol Chem* 2002; 277: 39919-39925.
45. Jaffe AB, Hall A. Smurfing at the leading edge. *Science* 2003; 302: 1690-1691.
46. Wang H-R, Zhang Y, Ozdamar B et al. Regulation of cell polarity and protrusion formation by targeting RhoA for degradation. *Science* 2003; 302: 1775-1779.
47. Yamashita M, Ying S-X, Zhang G-M et al. Ubiquitin ligase Smurf1 controls osteoblast activity and bone homeostasis by targeting MEKK2 for degradation. *Cell* 2005; 121: 101-113.
48. Lin X, Liang M, Feng XH. Smurf2 is a ubiquitin E3 ligase mediating proteasome-dependent degradation of Smad2 in transforming growth factor- $\beta$  signaling. *J Biol Chem* 2000; 275: 36818-36822.
49. Zhang Y, Chang C, Gehling DJ et al. Regulation of Smad degradation and activity by Smurf2, an E3 ubiquitin ligase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 974-979.
50. Bonni S, Wang H-R, Causing CG et al. TGF- $\beta$  induces assembly of a Smad2-Smurf2 ubiquitin ligase complex that targets SnoN for degradation. *Nature Cell Biol* 2001; 3: 587-592.
51. Mochizuki T, Miyazaki H, Hara T et al. Roles for the MH2 domain of Smad7 in the specific inhibition of transforming growth factor- $\beta$  superfamily signaling. *J Biol Chem* 2004; 279: 31568-31574.
52. Grönroos E, Hellman U, Heldin C-H, Ericsson J. Control of Smad7 stability by competition between acetylation and ubiquitination. *Mol Cell* 2002; 10: 483-493.
53. Simonsson M, Heldin C-H., Ericsson J, Grönroos E. The balance between acetylation and deacetylation controls Smad7 stability. *J Biol Chem* 2005; 280: 21797-21803.
54. Morén A, Imamura T, Miyazono K et al. Degradation of the tumor suppressor Smad4 by WW and HECT-domain ubiquitin ligases. *J Biol Chem* 2005; 280: 22115-22123.
55. Kuratomi G, Komuro A, Goto K et al. Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-2 (NEDD4-2) negatively regulates transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) signaling by inducing ubiquitin-mediated degradation of Smad2 and TGF- $\beta$  type I receptor. *Biochem J* 2005; 386: 461-470.
56. Fukuchi M, Imamura T, Chiba T et al. Ligand-dependent degradation of Smad3 by a ubiquitin ligase complex of ROC1 and associated proteins. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 1431-1443.
57. Stroschein SL, Bonni S, Wrana JL, Luo K. Smad3 recruits the anaphase-promoting complex for ubiquitination and degradation of SnoN. *Genes Dev* 2001; 15: 2822-2836.
58. Wan M, Cao X, Bai S et al. Jab1 antagonizes TGF- $\beta$  signaling by inducing Smad4 degradation. *EMBO Rep* 2002; 3: 171-176.
59. Wan M, Tang Y, Tytler EM et al. Smad4 protein stability is regulated by ubiquitin ligase SCF $\beta$ -TrCP1. *J Biol Chem* 2004; 279: 14484-14487.
60. Wan M, Huang J, Jhala NC et al. SCF $\beta$ -TrCP1 controls Smad4 protein stability in pancreatic cancer cells. *Am J Pathol* 2005; 166: 1379-1392.
61. Li L, Xin H, Xu X et al. CHIP mediates degradation of Smad proteins and potentially regulates Smad-induced transcription. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 856-864.
62. Kim B-C, Lee H-J, Park SH et al. Jab1/CAN5, a component of the COP9 signalosome, regulates transforming growth factor  $\beta$  signaling by binding to Smad7 and promoting its degradation. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 2251-2262.
63. Matunis MJ, Coutavas E, Blobel G. A novel ubiquitin-like modification modulates the partitioning of the Ran-GTPase-activating protein RanGAP1 between the cytosol and the nuclear pore complex. *J Cell Biol* 1996; 135: 1457-1470.
64. Mahajan R, Delphin C, Guan T et al. A small-ubiquitin related polypeptide involved in targeting Ran-GAP1 to nuclear pore complex protein RanBP2. *Cell* 1997; 88: 97-107.
65. Schwartz DC, Hochstrasser M. A superfamily of protein tags: ubiquitin, SUMO and related modifiers. *Trends Biochem Sci* 2003; 28: 321-328.
66. Gill G. SUMO and ubiquitin in the nucleus: different functions, similar mechanisms? *Genes Dev* 2004; 18: 2046-2059.
67. Hay RT. SUMO: a history of modification. *Mol Cell* 2005; 18: 1-12.
68. Melchior F, Schergaut M, Pichler A. SUMO: ligases, isopeptidases and nuclear pores. *Trends Biochem Sci* 2003; 28: 612-616.
69. Lee PS, Chang C, Liu D, Derynck R. Sumoylation of Smad4, the common Smad mediator of transforming growth factor- $\beta$  family signaling. *J Biol Chem* 2003; 278: 27853-27863.
70. Lin X, Liang M, Liang Y et al. Activation of transforming growth factor- $\beta$  signaling by SUMO1 modification of tumor suppressor Smad4/DPC4. *J Biol Chem* 2003; 278: 18714-18719.
71. Lin X, Liang M, Liang Y et al. SUMO1/Ubc9 promotes nuclear accumu-

- lation and metabolic stability of tumor suppressor Smad4. *J Biol Chem* 2003; 278: 31043-31048.
72. Long J, Matsuura I, He D. et al. Repression of Smad transcriptional activity by PIASy, an inhibitor of activated STAT. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 9791-9796.
  73. Long J, Wang G, He D, Liu F. Repression of Smad4 transcriptional activity by SUMO modification. *Biochem J* 2004; 379: 23-29.
  74. Imoto S, Sugiyama K, Muromoto R et al. Regulation of transforming growth factor- $\beta$  signaling by protein inhibitor of activated STAT, PIASy through Smad3. *J Biol Chem* 2003; 278: 34253-34258.
  75. Wilkinson KD. Ubiquitination and deubiquitination: targeting of proteins for degradation by the proteasome. *Semin Cell Dev Biol* 2000; 11: 141-148.
  76. Wojcik C, DeMartino GN. Intracellular localization of proteasomes. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 579-589.
  77. Fuchs O. Proteasomy. *Biol listy* 1996; 61: 13-27.
  78. Groll M, Huber R. Substrate access and processing by the 20S proteasome core particle. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 606-616.
  79. Pickart CM, Cohen RE. Proteasomes and their kin: proteases in the machine age. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 77-187.
  80. Twombly R. First proteasome inhibitor approved for multiple myeloma. *J Nat Cancer Inst* 2003; 95: 845.
  81. Špička I, Klener P. Inhibitory proteazomu-nová možnost léčby nádorových onemocnění. *Čas Lék čes* 2004; 143: 701-704.
  82. Špička I, Kleibl Z, Hájek R. Bortezomibum. *Remedia* 2005; 15: 196-203.
  83. Elliott PJ, Zollner TM, Boehncke W-H. Proteasome inhibition: a new anti-inflammatory strategy. *J Mol Med* 2003; 81: 235-245.
  84. Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A. TGF- $\beta$  signaling in tumor suppression and cancer progression. *Nature Genet* 2001; 29: 117-129.
  85. Wong S-F, Lai LC. The role of TGF- $\beta$  in human cancers. *Pathology* 2001; 33: 85-92.
  86. Elliott RL, Blobel GC. Role of transforming growth factor beta in human cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2078-2093.
  87. Moren A, Itoh S, Moustakas P et al. Functional consequences of tumorigenic missense mutations in the amino-terminal domain of Smad4. *Oncogene* 2000; 19: 4396-4404.
  88. Xu J, Attisano L. Mutations in the tumor suppressors Smad2 and Smad4 inactivate transforming growth factor  $\beta$  signaling by targeting Smads to the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 4820-4825.
  89. Moren A, Hellman U, Inada Y et al. Differential ubiquitination defines the functional status of the tumor suppressor Smad 4. *J Biol Chem* 2003; 278: 33571-33582.
  90. Maurice D, Pierreux CE, Howell M et al. Loss of Smad4 function in pancreatic tumors: C-terminal truncation leads to decreased stability. *J Biol Chem* 2001; 276: 43175-43181.
  91. Eppppert K, Scherer SW, Ozcelik H et al. MADR2 maps to 18q21 and encodes a TGFbeta-regulated MAD-related protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma. *Cell* 1996; 86: 543-552.
  92. Dumont E, Lallemand F, Prunier C et al. Evidence for a role of Smad3 and Smad2 in stabilization of the tumor-derived mutant Smad2, Q407R. *J Biol Chem* 2003; 278: 24881-24887.
  93. Fukuchi M, Fukai Y, Masuda N et al. High-level expression of the Smad ubiquitin ligase Smurf2 correlates with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 7162-7165.
  94. Akhurst RJ, Derynck R. TGF- $\beta$  signaling in cancer- a double-edged sword. *Trends Cell Biol* 2001; 11: S44-S51.
  95. Roberts AB, Wakefield LM. The two faces of transforming growth factor  $\beta$  in carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 8621-8623.
  96. Subramaniam V, Li HX, Wong M et al. The RING-H2 protein RNF11 is overexpressed in breast cancer and is target of Smurf2 E3 ligase. *Br J Cancer* 2003; 39: 1538-1544.
  97. Li Y, Turck CM, Teumer JK, Stavnezer E. Unique sequence, ski, in Sloan-Kettering avian retroviruses with properties of a new cell-derived oncogene. *J Virol* 1996; 57: 1065-1072.
  98. Luo K. Ski and SnoN: negative regulators of TGF- $\beta$  signaling. *Curr Opin Genet Develop* 2004; 14:65-70.
  99. Imoto I, Pimkhaokham A, Fukuda Y et al. SNO is a probable target for gene amplification at 3q26 in squamous-cell carcinomas of the esophagus. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286: 559-565.
  100. Zhang F, Lundin M, Ristimäki A et al. Ski-related novel protein N (SnoN), a negative controller of transforming growth factor- $\beta$  signaling, is a prognostic marker in estrogen receptor-positive breast carcinomas. *Cancer Res* 2003; 63: 5005-5010.
  101. Stroschein SL, Wang W, Zhou S et al. Negative feedback regulation of TGF- $\beta$  signaling by the SnoN oncoprotein. *Science* 1999; 286: 771-774.
  102. Liu X, Sun Y, Weinberg RA, Lodish HA. Ski/Sno and TGF- $\beta$  signaling. *Cytokine Growth Fac Rev* 2001; 12: 1-8.
  103. Sarker KP, Wilson SM, Bonni S. SnoN is a cell type-specific mediator of transforming growth factor- $\beta$  responses. *J Biol Chem* 2005; 280: 13037-13046.
  104. Shinagawa T, Dong HD, Xu M et al. The sno gene, which encodes a component of the histone deacetylase complex, acts as a tumor suppressor in mice. *EMBO J* 2000; 19: 2280-2291.
  105. Pray TR, Parlari F, Huang J et al. Cell cycle regulatory E3 ubiquitin ligases as anticancer targets. *Drug Resist Updat* 2002; 5: 249-258.
  106. Sun Y. Targeting E3 ubiquitin ligases for cancer therapy. *Cancer Biol Ther* 2003; 2: 623-629.
  107. Edmiston JS, Yeudall WA, Chung TD, Lebman DA. Inability of transforming growth factor- $\beta$  to cause SnoN degradation leads to resistance to transforming growth factor- $\beta$ -induced growth arrest in esophageal cancer cells. *Cancer Res* 2005; 65: 4782-4788.
  108. Park K-H, Choi S-E, Eom M, Kang Y. Downregulation of the anaphase-promoting complex (APC)7 in invasive ductal carcinomas of the breast and its clinicopathologic relationships. *Breast Cancer Res* 2005; 7: R238-R247.
  109. Vázquez-Macias A, Ruíz-Mendoza AB, Fonseca-Sánchez MA et al. Downregulation of Ski and SnoN co-repressors by anisomycin. *FEBS Lett* 2005; 579: 3701-3706.

# RIBONUKLEÁZY /RNÁZY/ V PROTINÁDOROVÉ TERAPII RIBONUCLEASES /RNASES/ IN ANTI-CANCER TREATMENT

T. ECKSCHLAGER<sup>1</sup>, P. POUČKOVÁ<sup>2</sup>, J. MATOUŠEK<sup>3</sup>

<sup>1</sup>KLINIKA DĚTSKÉ HEMATOLOGIE A ONKOLOGIE, UK 2.LF A FN MOTOL, PRAHA,

<sup>2</sup>ÚSTAV BIOFYZIKY A INFORMATIKY, UK 1LF, PRAHA,

<sup>3</sup>ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ FYZIOLOGIE A GENETIKY, AV ČR, LIBECHOV

**Souhrn:** Jednou z perspektiv systémové protinádorové terapie je použití enzymů štěpících kyselinu ribonukleovou – RNáz. Řada přirozených i geneticky modifikovaných RNáz je v různých fázích výzkumu a některé se jeví nadějně jako protinádorové preparáty. RNáza z žabích vajíček a embryí - onkonáza (ranpirnáza) je používána v léčbě mezoteliomu a v dalších indikacích je předmětem klinických studií. Cytostatický účinek je podmíněn inhibicí proteosyntézy štěpením tRNA. Dále se uplatňuje i štěpení rRNA, aktivace kaspáz a snížení exprese Bcl-2. Konečným výsledkem je indukce apoptózy nádorové buňky jak dokazuje řada experimentů *in vitro* i *in vivo*. RNázy navázané na protilátku (proti ErbB-2 a proti CD22) byly úspěšné v preklinických experimentech. Naději pro praxi vzbuzují pokusy prokazující synergismus onkonázy s cytostatiky a s interferony.

Co se týče nežádoucích účinků, které jsou jedním z faktorů limitujících použití cytostatik, jsou u RNáz méně závažné. Zkušenosti s použitím onkonázy u více než 850 pacientů ukázaly, že hlavní nežádoucí účinek jsou „flu-like symptomy“, vasodilatace, parestesie, periferní otoky, alergické reakce a nefrotoxicita projevující se proteinurií a někdy i zhoršením renálních funkcí. Výsledky experimentů a klinických studií naznačují, že zařazení onkonázy eventuálně jiných RNáz do chemoterapeutických režimů by mohlo přispět ke zvýšení účinku bez zvýšení toxicity.

**Klíčová slova:** protinádorové léky, ribonukleázy, onkonáza, protinádorové RNázy, indukce apoptózy.

**Abstract:** One of perspective trends in the systemic anti-cancer treatment is the use of enzymes splitting ribonucleic acid – ribonucleases /RNases/. A number of both natural and genetically modified RNases are currently being subjected to different stages of studies and some of them are promising as efficient anticancer agents. RNase from frog eggs and embryos – onconase (ranpirnase) – is currently used in the mesothelioma treatment and subjected to clinical trials in further indications (breast, kidney, and non-small cell lung cancer). The cytostatic effects result from proteosynthesis inhibition due to the tRNA splitting. The splitting of rRNA, activation of caspases and reduction of the Bcl-2 expression also contribute to this action. The final result is the tumor cell apoptosis induction, as demonstrated in many *in vivo* as well as *in vitro* experiments. RNases bound to antibodies (anti Erb-2 and anti CD 22) were successfully tested in preclinical experimental studies. Experiments demonstrating synergism of onconase with cytostatics and interferons offer promising results.

Side effects belonging to factors restricting the use of cytostatics are only mild with the use of RNases. Experience with onconase application in more than 850 patients demonstrated the main undesirable effects to be „flu-like symptoms“, vasodilatation, paresthesia, peripheral oedemas, allergic reactions and nephrotoxicity manifested by proteinuria and sometimes also by renal function impairments.

The results of experiments and clinical trials suggest that inclusion of onconase and/or other RNases into chemotherapeutic protocols could contribute to enhancement of the therapeutic effects without increase of the toxicity.

**Key words:** anticancer drugs, onconase, anticancer ribonucleases, apoptosis induction.

Protinádorová chemoterapie jako hlavní léčebná metoda, která jediná ovlivňuje rovněž diseminované onemocnění a systémové malignity, je omezena řadou faktorů. Proto se stále hledají nové účinnější terapeutické postupy, které mohou klasickou chemoterapii doplnit nebo dokonce nahradit. Patří sem biomodulační, genová a antiangiogenní terapie, inhibitory růstových faktorů, faktorů signální transdukce, telomerázy, regulačních proteinů buněčného cyklu a transkripčních faktorů a induktory apoptózy (1). Jednou z perspektiv systémové protinádorové terapie je i použití enzymů štěpících kyselinu ribonukleovou – ribonukleáz /RNáz/.

Struktura a funkce RNázy A byla studována od počátku 50. let. První zprávy o klinickém použití RNázy A jsou již z roku 1958, kdy Aleksandrowicz po její aplikaci pacientům s chronickou

myeloidní leukemií pozoroval parciální odpověď (2) Řada přirozených i geneticky modifikovaných RNáz je v různých fázích výzkumu a některé z nich se jeví nadějně jako účinné protinádorové preparáty (3). RNáza z vajíček a embryí žaby *Rana pipiens* z čeledi skokanovitých - onkonáza (ranpirnáza) je již používána v léčbě mezoteliomu a v dalších indikacích (nema-lobuněčný karcinom plic, pokročilý karcinom prsu, karcinom ledviny) je předmětem klinických studií (1, 3, 4, 5, 6). Ve výzkumu protinádorových účinků RNáz zvláště bovinní seminální RNázy /BS RNáza/ získala skupina z ÚŽFG AV ČR v Liběchově a jejich spolupracovníků řadu priorit.

Přesný mechanismus protinádorového účinku RNáz není dosud plně objasněn. RNázy s protinádorovým účinkem se adsorbují specificky na povrch pouze určitých buněk i když



pro ně nebyl nalezen žádný specifický receptor (7). Endocytózou vstupují do cytoplazmy a tam účinkují. Předpokládá se že cytostatický účinek je podmíněn převážně inhibicí proteosyntézy v důsledku štěpení tRNA (8). Dále se u některých RNáz uplatňuje i štěpení rRNA a prokázáno je i aktivace kaspázy 3, 8 a 9 a snížení exprese antiapoptického proteinu Bcl-2 (9, 10, 11, 12, 13). Jednoznačně je však prokázáno řadou studií *in vitro* i *in vivo*, že konečným výsledkem působení RNáz na nádorovou buňku je indukce apoptózy (9, 10, 12, 14, 15). Indukce apoptózy je nezávislá na přítomnosti funkčního p53. To umožní použít tyto látky i u často se vyskytujících nádorů s inaktivací tohoto proteinu (9). Naše studie s buněčnými liniemi s experimentálně navozenou rezistencí k BS-RNáze ukazují, že na vzniku rezistence se může podílet zvýšená exprese Bcl-2 (15). Na druhou stranu jsou buněčné linie rezistentní k řadě cytostatik (antracykliny, vinca alkaloidy, cisplatinu) citlivé k BS-RNáze jak *in vitro* tak i *in vivo* (14, 15, 16, 17).

Byly rovněž připraveny také tak zvané imunoRNázy, což jsou RNázy navázané na protilátku. V pokusu na zvířeti byla testována lidská pankreatická RNáza navázaná na variabilní fragment lidské protilátky proti ErbB-2, která byla účinná proti nádorům exprimujícím tento receptor (4, 18). Na imunodeficitních myších s transplantovaným lidským Burkittovým lymfomem byl ověřen efekt onkonázy navázané na myší monoklonální protilátku proti antigenu CD22 (19). BS RNázu jsme úspěšně použili k experimentálnímu čištění štěpů periferních hematopoetických progenitorových buněk od kontaminace neuroblastomem bez poškození jejich schopnosti obnovit krev tvorbu (20)

Protože ve všech tělních tekutinách jsou přítomny inhibitory RNáz RI/ jsou RNázy *in vivo* účinné pouze pokud jsou k nim rezistentní. Rezistentní k RI jsou oligomerní RNázy – jediná přirozená je dimerní BS RNáza, arteficiální oligomery RNáz nebo RNázy navázané na polymery (21, 22, 23). Výjimku tvoří monomerní onkonáza, která je k RI rezistentní protože se na ně váže s velmi nízkou afinitou (24). K RI jsou rovněž rezistentní některé modifikace RNázyA připravené metodami genového inženýrství nebo RNáza A navázaná na polymery (22, 23, 24). Nemodifikovaná RNázaA je k RI vysoce citlivá. RNázy navázané na polymery nejen odolávají účinkům RI, ale jsou pomaleji eliminovány z organismu (23). V experimentech *in vitro* jsou RNázy navázané na polymery prakticky neúčinné i když jsou *in vivo* účinnější než RNázy nenavázané (15, 22, 23, 25).

Velkou nadějí pro klinickou praxi vzbuzují experimenty *in vitro* i *in vivo*, které prokazují synergismus onkonázy s cytostatiky a s interferony (26, 27, 28, 29, 30). Cytostatický účinek onkonázy na buněčnou linii OVCAR-3 odvozenou od ovariálního karcinomu byl potencován tamoxifenem, lovastinem a cisplatinou (27). Účinek tamoxifenu na buněčnou linii odvozenou od karcinomu pankreatu se zvyšoval po přidání onkonázy (30) Doxorubicin potencoval cytotoxicitu onkonázy na linii lidského karcinomu prsu MDA-MB-231 transplantovanou imunodeficitním myším (26). Synergismus s interferonem gama byl popsán u linií HL-60 (promyelocytární leukemie) a MCF-7 (karcinom prsu), ale ne u SK-Hep-1 (adenokarcinom jater) (28). Jiná studie prokazuje potenciaci účinku onkonázy interferonem beta na linii karcinomu prostaty JCA-1 (29). Společné působení onkonázy a interferonu vyvolává vyšší aktivaci kaspáz. V současné době probíhá klinická studie srovnávající efekt doxorubicinu a doxorubicinu v kombinaci s onkonázou u pacientů s mesotheliomem.

Co se týče nežádoucích účinků, které jsou jedním z hlavních faktorů limitujících použití cytostatik, jsou převážně méně závažné. Pokusy na zvířatech i klinické studie prokazují, že RNázy nejsou myelotoxické (4, 31). *In vitro* pokusy prokázaly, že BS RNáza a dimer lidské pankreatické RNázy byly účinné pouze proti buněčným liniím odvozeným od lidského nebo myšího karcinomu štítné žlázy, ale ne odvozených z normálních buněk lidské nebo myší štítné žlázy, na rozdíl od doxorubicinu který poškozoval i buňky nenádorové (13). Zkušenosti s použitím onkonázy u více než 850 pacientů ukázaly, že má jako hlavní nežádoucí účinek „flu-like symptomty“, vasodilataci, parestezie, periferní otoky, alergické reakce a nejčastěji nefrotoxicitu, která se projevuje proteinurií a v horším případě i zhoršením renálních funkcí. (4, 5).

Jak naznačují výše zmíněné výsledky experimentů *in vitro* i *in vivo* a klinických studií zařazení onkonázy eventuálně jiných RNáz s protinádorovými účinky do chemoterapeutických režimů by mohlo přispět ke zvýšení jejich účinku bez výraznějšího zvýšení toxicity.

**Experimenty s RNázami prováděné autory jsou financovány GA ČR grant č.523/04/0755 a výzkumnými záměry MŠMT č. 0021620813.**

## Literatura:

1. Klener P: Klinická onkologie. Galén, Praha 2002
2. Aleksandrowicz J.: Intracutaneous ribonuclease in chronic myeloid leukemia. Lancet, 1958; 1: 420- 422
3. De Lorenzo C, Di Gaetano S, Notomista E et al.: Human antitumor RNases and ImmunoRNases. Abstracts, 7th International Meeting on Ribonucleases, June 16- 20, 2005, Stara Lesna
4. Mikulski SM, Costanzi JJ, Vogelzang NJ et al.: Phase II trial of a single weekly intravenous dose of raprinasin in patients with unresectable malignant mesothelioma. J. Clin. Oncol., 2002; 20: 274- 281
5. Vogelzang NJ, Aklilu M, Stadler WM et al.: A phase II trial of weekly intravenous raprinasin (Onconase), a novel ribonuclease in patients with metastatic kidney cancer. Investigational New Drugs 19: 255-260, 2001
6. Leland PA, Raines RT: Cancer chemotherapy- ribonucleases to the rescue. Chem Biol., 2001;8:404- 413
7. Mastronicola MR, Piccoli R, D\_Alessio G: Key extracellular steps in the antitumor action of seminal ribonuclease. Eur.J.Biochem., 1995; 230: 242- 249
8. Lee I, Lee YH, Mikulski SM et al.: Tumoricidal effects of onconase on various tumors. J. Surg.Oncol., 2000; 73: 164- 171
9. Jordanov MS, Ryabinina OP, Wong J et al.: Molecular determinants of apoptosis induced by the cytotoxic ribonuclease Onconase: Evidence for cytotoxic mechanism different from inhibition of protein synthesis. Cancer Res., 2000; 6: 1983- 1994
10. Kotchetkov R, Cinatl J, Krivtchik AA et al.: Selective activity of BS-RNase against anaplastic thyroid cancer. Anticancer Res., 2001; 21:1035- 1042
11. Schindler DG, Davies JE: Specific cleavage of ribosomal RNA caused by alpha sarcin. Nucl. Acids res., 1977; 4: 1097- 1110

12. Spalletti-Cernia D, Sorrentino R, Di Gaetano S et al.: Antineoplastic ribonucleases selectively kill thyroid carcinoma cells via caspase-mediated induction of apoptosis. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2003; 88: 2900- 2907
13. Spalletti-Cernia D, Sorrentino R, Di Gaetano S et al.: Highly selective toxic and proapoptotic effects of two dimeric ribonucleases on thyroid cancer cells compared to the effects of doxorubicin. Br. J. Cancer., 2004; 90: 270- 277
14. Eckschlagler T, Matoušek J, Činátl J jr., Činátl J.:Effect of BS RNase on chemosensitive and chemoresistant neuroblastoma cell lines. Abstracts, 6th International Meeting on Ribonucleases ,University of Bath, June 14-18, 2002, Bath,
15. Eckschlagler T, Hraběta J, Škvor J et al.: Effect of RNases of different origin on chemosensitive and chemoresistant neuroblastoma cell lines. Abstracts, 7th International Meeting on Ribonucleases. June 16- 20, 2005, Stara Lesna
16. Činátl J jr, Činátl J, Kotchetkov R et al.: Bovine seminal ribonuclease selectively kills human multidrug-resistant neuroblastoma cells via induction of apoptosis. Int.J. Oncol., 1999; 15: 1001- 1009
17. Činátl J jr, Činátl J, Kotchetkov R et al.: Bovine seminal ribonuclease exerts selective cytotoxicity toward neuroblastoma cells both sensitive and resistant to chemotherapeutic drugs. Anticancer Res., 2000; 20: 853- 859
18. De Leronzo C, Arciello A, Cozzolino R et al.: A fully human antitumor immunoRNase selective for ErbB-2-positive carcinomas. Cancer Research, 2004; 64: 4870- 4874
19. Newton DL, Hansen HJ, Mikulski SM et al.: Potent and specific antitumor effects of an anti-CD22-targeted cytotoxic ribonuclease: potential for the treatment of non-Hodgkin lymphoma. Blood 2001;97: 528-535



20. Cinátl J jr., Cinátl J, Kotechetkov R et al.: Bovine seminal ribonuclease depleted multidrug resistant human neuroblastoma cells from ex vivo expanded blood derived CD34+ hematopoietic progenitor cells. 5th International Meeting on Ribonucleases. May 12- 16, Warrenton 1999
21. Di Gaetano S, D'Alessio G, Picocoli: second generation antitumour human RNase: significance of its structural and functional features for the mechanism of antitumour action. *Biochem J.*, 2001; 358: 241- 247
22. Matoušek J, Poučková P, Souček J, Škvor J: PEG chains increase asprematogenic and antitumor activity of RNase A and BS-RNase enzymes. *J. Control. Release*, 2002; 82: 29- 37
23. Matoušek J, Poučková P, Hloušková B et al.: Effect of hyakuronidase and PEG chain conjugation on the biologic and antitumor activity of RNase A. *J. Control. Release*, 2004; 94: 401- 410
24. Leland PA, Schultz LW, Byung-Moon K, Raines RT et al.: Ribonuclease A variants with potent cytotoxic activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1998; 95: 10407- 10412
25. Souček J, Poučková P, Zadinová M et al.: Polymer conjugated bovine seminal ribonuclease inhibits growth of solid tumors and development of metastases. *Neoplasma*, 2001; 48: 127- 132
26. Mikulski SM, Newton DL, Wiltout RH et al.: Onconase and doxorubicin synergy in prolonging survival of MDA-MB-231 human breast cancer-bearing nude mice. *Proc. Am. Assoc. Cancer. Res.* 1999; 40: 491
27. Mikulski SM, Viera A, Shogen K: In vitro synergism between anovel amphibian oocytic ribonuclease (Onconase) and tamoxifen, lovastatin, and cisplatin in human OVCAR-3 ovarian carcinoma cell line. *Int. J. Oncol.*, 1992; 1:779- 785
28. Tang CH, Hu CC, Wei CW, Wang JJ: Synergism of Rana catesbeiana ribonuclease and IFN-gamma triggers distinct death machineries in different human cancer cells. *FEBS Lett.*, 2005; 579: 265- 270
29. Tsai SY, Hsieh TC, Ardel B et al.: Combined effects of onconase and IFN-beta on proliferation, macromolecular synthesis and expression of STAT-1 in JCA-1 cancer cells. *Int. J. Oncol.*, 2002; 20: 891- 896
30. Lee I, Lee YH, Mikulski SM, Shogen K: Effect of ONCONASE +/- tamoxifen on ASPC-1 human pancreatic tumors in nude mice. *Adv Exp Med Biol.* 2003; 530: 187-196
31. Souček J, Chudomel V, Potměšilová I a Novák JT.: Effect of Ribonucleases on cell-mediated lympholysis reaction and on GM-CFC colonies in bone marrow culture. *Nat.Immun.Cell Growth Regul.*,1986; 5: 250- 258

# informace

Příloha k zápisu ČOS - formulář

## Deklarace

### Komplexního onkologického centra (KOC) nebo Komplexní onkologické skupiny (KOS) a žádost o garanci Českou onkologickou společností ČLS JEP

**Deklarujeme vůli poskytovat komplexní onkologickou péči naplňováním kritérií**

Komplexního onkologického centra  (platí pro jediné IČO):

Komplexní onkologické skupiny  (platí pro více IČO)

pod názvem :  
s adresou :

**žádáme o přiznání statutu pracoviště garantovaného Českou onkologickou společností ČLS JEP**

Deklarujeme, že naplňujeme následující kritéria komplexních onkologických služeb KOC/KOS a jsme ochotni spolupracovat na jejich auditu i dalším rozvíjení :

(s detailním rozpisem LPT,lůžkovou kapacitou,lékařské specialisty,dokumentace a p.)

- 1. Onkologická diagnostika**
- 2. Interní onkologie**
- 3. Radiační onkologie**
- 4. Chirurgická onkologie**
- 5. Podpůrná a paliativní péče**
- 6. Onkologická dokumentace**
- 7. Dispenzarizace onkologicky nemocných**
- 8. Stanovení odpovědnosti za onkologicky nemocného**
- 9. Klinická hodnocení a zavádění nových postupů**
- 10. Organizace onkologické péče v regionu**

Máme trvalý zájem na zdokonalování svých onkologických služeb i své role jako silného článku v síti pracovišť komplexní onkologické péče v České republice, garantovaných Českou onkologickou společností ČLS JEP. Jsme otevření spolupráci s ostatními KOC/KOS, výměně odborných informací, součinnosti s Českou onkologickou společností a v tuzemském i mezinárodním kontextu se budeme pokládat za součást České sítě onkologických center (Czech Cancer Center Network).

Jméno, tituly a podpis vedoucího KOC/KOS :

Kontaktní adresa, telefon, e-mail :

Souhlas ředitele zdravotnického zařízení (v případě KOC) nebo ředitelů zdravotnických zařízení (v případě KOS) :

# IBANDRONAT – PŘEHLEDNÝ ČLÁNEK

## IBANDRONAT – REVIEW

POUR L., ADAM Z., HÁJEK R.

INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FN BRNO

**Souhrn:** Léčba bisfosfonáty je standardem v podpůrné léčbě osteoporózy, do kostí metastazujících karcinomů, Pagetovy choroby a mnohočetného myelomu. I přes poměrně krátkou historii léčby je na trhu množství preparátů z této lékové skupiny. Jedním z novějších preparátů je i ibandronat. Preparát je pro přítomnost dusíku v postranním řetězci jeho molekuly řazen do skupiny aminobisfosfonátů, některými autory je řazen do skupiny bisfosfonátů třetí generace, autoři tohoto referátu se dělení na jednotlivé generace nedrží. Je dostupný v intravenózní i perorální lékové formě. Byla prokázána stejná účinnost obou lékových forem. Nežádoucí účinky léku jsou charakteristické pro skupinu aminobisfosfonátů. Perorální varianta má podle dostupných dat zatím nejmenší procento nežádoucích účinků ze všech vyráběných bisfosfonátů. Nebyl prokázán toxický efekt na ledvinový parenchym a zhoršení renálních funkcí. Ibandronat je účinný při léčbě hyperkalcémie, maligní osteolýzy, osteoporózy a má i analgetický efekt při metastatickém kostním postižení. Následující přehledný článek přináší detailní popis tohoto bisfosfonátu.

**Klíčová slova:** bisfosfonáty, ibandronat.

**Abstract:** Treatment with bisphosphonates is a standard supportive care in osteoporosis, Paget disease, metastatic bone disease and in multiple myeloma. One of the newest members of this group is ibandronate. The molecule of ibandronate contains nitrogen, therefore, some authors classify it as aminobisphosphonate. Both peroral and intravenous forms are available. The same efficacy was confirmed in both drug forms. Adverse reactions of ibandronate are the ones characteristic for aminobisphosphonates. The peroral form reportedly has the lowest rate of adverse reactions from all commercially available peroral bisphosphonates. No toxic effect on renal parenchyma and no renal function alteration were registered. Ibandronate is effective in treatment of hypercalcaemia, malignant osteolysis, and osteoporosis; it also reduces pain in metastatic bone disease.

**Key words:** bisphosphonates, ibandronat.

### Úvod

Standardní indikací bisfosfonátů je postižení kostí neoplastickým procesem: osteolytické, smíšené či osteoplastické metastázy karcinomů, osteolýza způsobená infiltrací kosti maligními krevními chorobami (lymfomy, chronická lymfatická leukémie, Langerhansova histiocytóza a mnohočetný myelom). Nejčastější nemaligní indikací je postmenopauzální a senilní osteoporóza. Indikací je také iatrogeně způsobená osteoporóza (osteoporóza způsobená hormonální léčbou karcinomu prsu, osteoporóza způsobená hormonální léčbou karcinomu prostaty, osteoporóza způsobená glukokortikoidy. Mimo těchto standardních indikací existují ještě další, méně časté nemoci, u nich mají bisfosfonáty také pozitivní efekt, které uvádíme v tabulce 1 převzatou z publikace (1)

I přes poměrně krátkou historii léčby (od roku 1980) je na trhu množství preparátů z této lékové skupiny, v ČR jsou dostupné 4 preparáty pro maligní osteolýzu (klodronat, pamidronat, zoledronat a ibandronat. Tyto preparáty lze použít v menších dávkách i pro osteoporózu, zatím aledronat a risedronat je indikován pouze pro osteoporózu, perorální forma těchto léků nemá dostatečný účinek pro osteolýzu způsobenou maligním procesem, takže v této indikaci nebyly tyto preparáty perorálně testovány. Pouze nitrožilní forma alendronatu, která není v ČR dostupná, byla použita pro léčbu hyperkalcémie. Ibandronat je nejnovějším lékem z této skupiny. Přítomnost dusíku v postranním řetězci jej zařazuje do skupiny dusík obsahujících bisfosfonátů. Některými autory je řazen do skupiny bisfosfonátů takzvané třetí generace. Dělení bisfosfonátů

**Tabulka č 1.:** Patologické stavy, u nichž byly podány bisfosfonáty v rámci individuálního řešení situace a výsledky zveřejněny formou popisu případu (1)

Hyperkalcémie a maligní nádory
imobilizace, hyperparathyreóza, podkožní tuková nekróza u novorozence familiární hypokalciurická hyperkalcémie hyperkalcémie způsobená tvorbou PTHrP hyperkalcémie po transplantaci orgánů intoxikace vitamínem D
Osteopatie
osteogenesis imperfecta juvenilní osteoporóza juvenilní revmatoidní artritida fibrózní dysplasie Mc Cune Albright hyperfosfatázie steroidní osteoporóza mukolipidóza M. Gaucher fraktura při angiomatóze nebo lipomatóze skeletu SAPHO syndrom
kalcinóza
myositis/fibrodysplasia ossificans infantilní arteriální kalcifikace dermatomyositis s osteoporózou slerodermie s osteoporózou

## Molekulární účinek bisfosfonátů na osteoklasty

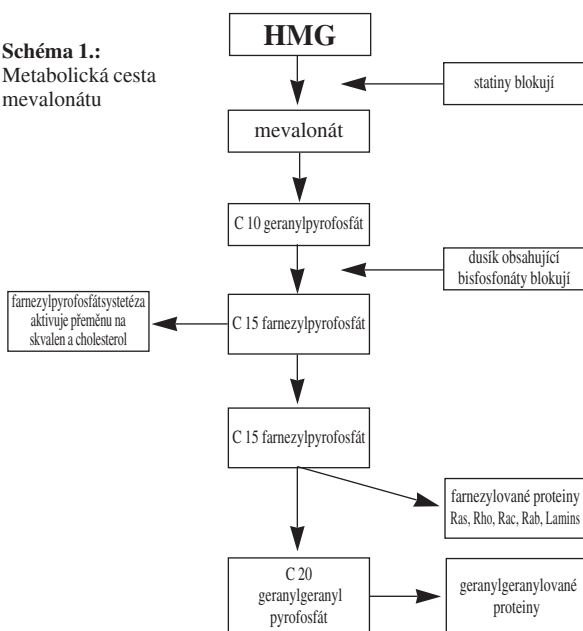
Jednoduché bisfosfonáty	Dusík obsahující bisfosfonáty
Intracelulární inkorporace bisfosfonátu do ATP obsahujících molekulu je podstatou účinku	Inhibice metabolismu kyseliny mevalonové a důsledku snížení tvorby izoprenoidních lipidů způsobuje inhibici post-translační prenylace (přednos řetězců mastných kyselin na proteiny). To poškodí funkci GTP vázajících proteinů nutných pro funkci osteoklastu. Tento mechanismus je podstatou účinku:
<ul style="list-style-type: none"> <li>● klodronatu,</li> <li>● etidronatu</li> <li>● tiludronatu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● pamidronatu,</li> <li>● alendronatu,</li> <li>● ibandronatu,</li> <li>● zoledronatu,</li> <li>● risendronatu</li> </ul>

**Tabulka č. 2.:** Molekulární účinek bisfosfonátů na osteoklasty

tů na generace, však již před lety prohlásil Herbert Fleisch za obsolentní. Za směrodatné považuje pouze dělení bisfosfonátů na skupinu jednoduchých a skupinu dusík obsahujících bisfosfonátů. Racionálnost tohoto dělení je dána nejen chemickým složením, ale hlavně rozdílným mechanismem účinku jednoduchých a dusík obsahujících bisfosfonátů (1). Z tohoto pohledu lze dohady o to, do které generace patří ten či onen preparát, považovat za neopodstatněné žabomyší války. Proto se ani autoři tohoto referátu nedrží dělení na jednotlivé generace (1), ale pouze na jednoduché a dusík obsahující bisfosfonáty, viz tabulka 2

Ibandronat je dostupný v intravenózní i perorální lékové formě. Obě formy byly testovány v rámci randomizovaných studií a jejich autoři prohlašují, že v účinnosti nebylo signifikantního rozdílu. Příjemným překvapením je, že na rozdíl od dalších léků této skupiny, pamidronatu a zoledronatu, nebyl zatím zaznamenán případ klinické nebo laboratorní nefrotoxicity a také v souvislosti s ibandronatem nebyly popsány případy osteonekrózy čelisti, které jsou formou popisů případů zaznamenány nejčastěji v průběhu podání pamidronatu či zoledronatu (ne však klodronatu). Ibandronat je účinný při léčbě hyperkalcémie, maligní osteolýzy, osteoporózy a má i analgetický efekt při metastatickém kostním postižení. Následující přehledný článek přináší detailní popis tohoto bisfosfonátu.

**Schéma 1.:** Metabolická cesta mevalonátu



### Základní farmakologické vlastnosti ibandronatu

Ibandronat se řadí mezi novější bisfosfonáty s navázaným atomem dusíku a skupinou OH v postranním řetězci. Tyto změny v chemické struktuře zvyšují biologickou účinnost až stonásobně oproti prvním užívaným bisfosfonátům (1, 2, 11). Ibandronat se při i.v. aplikaci velmi rychle a pevně váže na hydroxyapatit kostí, a proto je jeho plazmatický poločas je velmi krátký (5-15 hodin), zatímco jeho terminální eliminační poločas díky pevné vazbě na hydroxyapatit je velmi dlouhý. V séru je poměrně silně vázán na bílkoviny z 85 % (50 - 99 %), jeho poločas v séru je 5 - 15 hodin. Přibližně kolem 40 % nitrožilní dávky se objeví v moči do dvou hodin a až 60 % do 24 hodin od aplikace. V kostech zůstává deponováno 40 - 50 % z celkového množství v plazmě. Jen minimální množství zůstává deponováno ve slezině, játrech a v ledvinách. Ibandronat se vylučuje glomerulární filtrací a tubulární exkrecí bez jakékoliv metabolické přeměny v množství 50 - 60 %. Renální clearance ibandronatu těsně souvisí s clearance kreatininu. Krátký plazmatický poločas a rychlé navázání ibandronatu na hydroxyapatit je zřejmě příčinou, proč nevznikají mimo flulike syndromu žádné další nežádoucí účinky, neboť expozice ostatních tkání účinku tohoto preparátu je velmi krátká. Proto je účinek omezen pouze na kostní tkáň a dominantně opět na osteoklasty. Proč na osteoklasty? Protože ibandronat je deponován hlavně v té části kosti, kde je rychlý krevní průtok a rychlý metabolismus. Jakmile dojde k rozpouštění hydroxyapatitu pod osteoklastem, dochází k uvolnění ibandronatu z vazby na hydroxyapatit a kartáčkový lem osteoklastu se tak setkává s koncentrací ibandronatu, která výrazně převyšuje maximální plazmatické hladiny.

Rychlé vymizení ibandronatu z plazmy, pevné uchycení na hydroxyapatit a uvolnění z této vazby až pod kartáčkovým lemem osteoklastů je příčinou, proč tento lék inhibuje dominantně aktivitu osteoklastů (11). Obrazně lze říci, že osteoklasty svojí aktivitou odjistí miny (deponované molekuly bisfosfonátu), která je zahubí. Ibandronat snižuje počet aktivních osteoklastů, indukuje v nich apoptózu a brzdí vyzrávání jejich progenitorů (1, 11).

Na molekulární úrovni je za hlavní mechanismus inhibice osteoklastů považováno blokování posttranslačních úprav proteinů inhibicí tvorby farnesyl- a geranylgeranylpyrofosfátu, viz schéma 1. Dusík obsahující bisfosfonáty inhibují farnesylpyrofosfát-syntetázu. Tato inhibice způsobuje snížení tvorby izoprenoidních lipidů (farnesyl- a geranylgeranylpyrofosfátu). Ty jsou důležité pro posttranslační prenylací (přenos řetězce mastných kyselin) proteinů, včetně GTP vázajících proteinů (Ras, Rho, Rac a Rab), které jsou důležité pro četné funkce, včetně funkce cytoskeletu a buněčné signalizace. Narušení této cesty vede ke snížení aktivity a případně apoptóze (převzato s povolením z publikace Nádorová kostní choroba, Grada 2005).

Preklinické experimenty prokázaly redukcí růstu nádorových

buněk in vitro a sníženou adhezí nádorových buněk na kostní tkáň (2).

Ibandronat existuje ve dvou lékových formách 1. injekční - Bondronat (Roche) injekční lahvičky 6 mg/6ml a 2. perorální Bondronat (Roche) potahované tablety 50 mg.

Perorální ibandronat se podobně jako ostatní perorální zástupci této skupiny obtížně vstřebává z gastrointestinálního traktu v množství okolo 1 % podané dávky. Dostupnost je zhoršována stravou či tekutinou s dvojnásobnými ionty (Ca<sup>2+</sup>). Autoři klinických studií tvrdí, že i přes nízkou biologickou dostupnost je možné dostatečně vysokou perorální dávkou ibandronatu dosáhnout přibližně stejného účinku jako nitrožilní aplikací (4, 5).

### Nežádoucí účinky ibandronatu

Vzhledem ke známým nežádoucím účinkům pamidronatu a zoledronatu na ledviny byla logickým krokem monitorace nefrotoxicity v průběhu léčby. Z četných sdělení, která byla publikována na 15. meetingu MASCC 2003 vyplynulo, že ibandronat nemá nepříznivý vliv na ledviny. Dvě nejzásadnější sdělení pocházejí od ruských a rakouských autorů. První skupina sledovala u 74 nemocných dostávajících 2 a 6 mg ibandronatu proteinurii, albuminurii, alfa-1 mikroglobulin, N-acetyl-beta-D-glukosaminidázu, hematurii a sérový kreatinin. Podávání ibandronatu nevedlo k statisticky signifikantnímu zhoršení žádného z parametrů (16). Podobně rakouská skupina sledovala skupinu 57 zdravých dobrovolníků. Stejně parametry jak uvedeno výše se signifikantně nelišily a nebyl prokázán nežádoucí vliv ibandronatu na ledviny. Jeho práce však zatím nevyšla in extenso, byla pouze prezentována jako poster na konferenci MASCC Berlíně 2003 (20). Vzhledem k tomu, že ibandronat patří do skupiny dusík obsahujících bisfosfonátů, má podobně jako všechny léky této skupiny obdobný výskyt „flu like syndromu“ po i.v. podání. Na rozdíl od dalších léků této skupiny, pamidronatu a zoledronatu, nebyly popsány případy osteonekrózy čelisti, které jsou formou popisů případů zaznamenány nejčastěji v průběhu podání pamidronatu či zoledronatu (ne však klodronatu). Perorální varianta má podle dostupných dat zatím nejmenší procento nežádoucích účinků ze všech perorálně podávaných bisfosfonátů. Z nežádoucích účinků byla v průběhu intravenózní léčby zaznamenána rovněž hypokalcémie. Při perorální léčbě bylo popsáno nízké procento očekávaných nežádoucích účinků, dyspepsie 2,6 %, hypokalcémie, 2,6 % a esofagitida. Tato čísla jsou nižší než u prvních používaných bisfosfonátů (5).

U ibandronatu byly také testovány lékové interakce včetně interakce s H<sub>2</sub> blokátory (ranitidin), estrogeny, tamoxifenem, melfalanem a prednisonem. Nebyly zjištěny žádné závažnější interakce.

### Dávkování ibandronatu

Pro léčbu hyperkalcémie se doporučuje od 2 mg do 6 mg ibandronatu v nitrožilní infuzi. Rozhodnutí o výši dávky je nutno udělat dle hodnoty kalcémie. Dle firemního doporučení lze za dostatečnou dávku pro pacienty s mírnou hyperkalcémií do 3 mmol/l považovat 2 mg, pro pacienty s kalcémií nad tento limit alespoň 4 mg. Při závažné hyperkalcémii lze podat 6 mg ibandronatu. Výrobce je doporučeno 1 hodinové trvání infuze a zároveň se v ní uvádí, že u dobrovolníků bolusová injekce 2 mg a 30-ti minutová infuze 4 mg nezpůsobila žádné nežádoucí účinky (26). V literatuře se objevují další sdělení potvrzující dobrou toleranci 15 minutové infuze, zatím jsou dostupná ve formě abstraktů (6). Současně probíhající klinické studie již mají v protokolu aplikace v délce 15 minut.

Standardní doporučenou dávkou pro nemocné s maligní osteolýzou je v současnosti 6 mg nitrožilně v intervalu 3-4 týdnů a 1 potahovaná 50 mg tableta denně. Autoři klinických studií uvádějí, že takové dávkování je přibližně ekvivalentní výše zmíněným 6mg i.v. 1x za tři týdny (4, 5). Tabletu je nutno spolknout ráno nalačno a nejíst nejméně dalších 30 minut. V případě klodronatu se doporučuje po spolknutí tab-

lety sníst až po 120 minutách od spolknutí tablety, což není zásadní rozdíl.

Podobně jako u všech dusík obsahujících bisfosfonátů má člověk po spolknutí tablety ibandronatu zůstat ve vzpřímené poloze a tableta má být zapita dostatečným množstvím čisté vody.

### Úprava dávek při renálním selhání

Dle firemní publikace z roku 2004 není nutné upravovat dávku u pacientů s mírným a středním snížením funkce ledvin (kreatininová clearance nad 30 ml/minutu 0,5 ml/sec).

Při clearanci pod 30 ml/min (0,5 ml/s) se doporučuje podávat 2 mg v intervalu 3 - 4 týdnů a infuze by měla trvat nejméně 1 hodinu. V případě perorální léčby 50 mg tabletou se v těchto případech doporučuje její podání 1x týdně.

Vliv poškození ledvin na farmakokinetiku Bondronatu byl analyzován v rámci studie MF 7148. Orální i nitrožilní aplikace byla tolerována jak 14 osobami s normální funkcí ledvin, tak 20 osobami s různým stupněm poškození ledvin. Mezi hodnotami clearance kreatininu a clearance ibandronatu byla lineární závislost. To je první zpráva, která naznačila možnost podávat ibandronat i osobám se zhoršenou funkcí ledvin. Klíčovým sdělením je skutečnost, že ibandronat nezvyšuje incidenci renální insuficience v porovnání s placebem (16, 19, 26). Vzhledem k nepřítomnosti nefrotoxicity je reálné, že pacienti s renálním selháním budou dobře tolerovat i vyšší dávky a je možné, že v budoucnu bude doporučení pro redukci mírnější. Usuzujeme tak z analogie s pamidronatem, kde také byly zpočátku restrikce při renálním selhání, ale klinické zkušenosti u pacientů se závažným renálním selháním nakonec prokázaly, že redukce není nutná a pouze nutno počítat s intenzivnějším inhibičním účinkem na osteolýzu (hypokalcémii).

### Léčebný efekt ibandronatu

Ve shodě se zásadami „evidence based medicine“ vybíráme informace převážně z publikací in extenso.

### Léčba hyperkalcémie

Opakovaně bylo potvrzeno klinickou studií že dávka 6 mg a 4 mg ibandronatu je účinnější než 2 mg v léčbě hyperkalcémie (26, 22). Pecherstorfer (2003) zveřejnil srovnání ibandronatu (v dávce 2-4 mg) s pamidronatem (v dávce 15, 30, 60 a 90 mg) u 72 nemocných s hyperkalcémií. Dávky bisfosfonátů závisely na koncentraci kalcia v séru. Nejčastěji použitou dávkou byly 4 mg ibandronatu (78 %) a 60 mg pamidronatu (50 %). Vzhledem k nestejným dávkám je interpretace výsledků obtížnější, ale přesto výsledky uvedeme. Čtvrtý den poklesla kalcémie po ibandronatu v průměru o 0,6 mmol/l a po pamidronatu o 0,41 mmol/l, počet pacientů s léčebnou odpovědí byl v obou skupinách bez rozdílu, 76,5 % a 78,8 %. Signifikantní rozdíl byl v mediánu intervalu do opakovaného vzestupu kalcémie 14 dní po ibandronatu a 4 dny po pamidronatu (p = 0,0303). V podskupině 17 pacientů se vstupní kalcémií nad 3,0 mmol/l byl ibandronat účinnější (20).

### Léčba osteolytického kostního postižení

První klinická studie III. fáze srovnávala 2 mg ibandronatu s placebem u pacientů s mnohočetným myelomem a nenalezla statisticky významný rozdíl mezi oběma skupinami, rozdíl byl zaznamenán pouze v laboratorních hodnotách hodnotící kostní metabolismus (18). Dále byly zkoušeny i vyšší dávky. V další studii bylo testováno 4 mg ibandronatu a porovnáno 90 mg pamidronatu. Tato studie měla krátké trvání, takže nebylo možné hodnotit důležité klinické výstupy. Autoři se spokojili s hodnocením biochemických parametrů ve skupinách po 20 pacientech. Svoje hodnocení uzavřeli slovy: parametry osteolýzy tlumil výrazněji pamidronat v dávce 90 mg/měsíc než ibandronat v dávce 4 mg/měsíc (29). Malá účinnost nedostačné dávky je problémem i další práce (33).



**Tabulka č. 3.:** Srovnání ibandronatu a placeba, vyjádřená celkovým počtem kostních komplikací (skeletal related events) na pacienta a pomocí SMPR.

Body, J. J. et al.: Intravenous ibandronat reduces the incidence of skeletal complication in patients with breast cancer and bone metastases <i>Ann. Oncol.</i> , 14, 2003, 1399-1405				
Sledovaný parametr	Placebo N = 158	2 mg ibandronatu /měsíc m = 154	6 mg ibandronatu /měsíc n = 154	p ve skupině placebo versus 6 mg ibandronatu
Nové kostní komplikace – jejich průměrný počet na 1 pacienta v průběhu sledování	3,64	4,24	2,65	p = 0,032
Pacienti s kostní komplikací	62 %	62,3 %	50,6 %	p = 0,052
Medián intervalu do první kostní komplikace	33,1 týdnů	44,6 týdnů	50,6 týdnů	P = 0,018
Vertebrální fraktury (SMPR)	0,82	0,70	0,71	P = 0,023
Nevertebrální fraktury (SMPR)	0,81	0,70	0,72	P = 0,421
Radioterapie (SMPR)	1,09	0,95	0,91	P = 0,012
Kostní operace	0,62	0,50	0,56	P = 0,060
Body, J. J. et al.: Oral ibandronat reduces the risk of skeletal complication in breast cancer with metastatic bone diseases. results from two randomised, placebo controlled phase III trials. <i>Brit. J. Cancer</i> , 90, 2004, 1133-1137.				
	Placebo N = 277	Ibandronat 50 mg p.o. N = 287		
Nové kostní komplikace – jejich průměrný počet na 1 pacienta v průběhu sledování	1,85	1,15		P = 0,008
Počet pacientů s kostní komplikací	52,2	45,3		P = 0,122
Medián intervalu do první kostní komplikace	64 týdne	90,3 týdne		P = 0,089
Počet 12 týdenních period s novou kostní komplikací/pacienta (SMPR)	0,99	0,71		P = 0,015
Celkový počet kostních komplikací (SMPR)	1,15	0,99		P = 0,041
Vertebrální fraktury SMPR	0,52	0,49		P = 0,145
Nevertebrální fraktury SMPR	0,52	0,51		P = 0,330
Radioterapie SMPR	0,98	0,80		P < 0,004
Kostní operace SMPR	0,44	0,40		P = 0,098
Tripathy D et al.: Oral ibandronate for the treatment of metastatic bone disease in breast cancer. <i>Ann. Oncol.</i> , 15, 2004, 743-750				
	Placebo N = 143	Ibandronat 20 mg p.o. N = 144	Ibandronat 50 mg p.o. N = 148	
Interval do nové kostní komplikace od randomizace	48 týdnů	54 týdnů	76 týdnů	P = 0,297
Průměrný počet všech komplikací/pacienta	2,23	1,36	1,43,	P = 0,017
Počet pacientů s kostní komplikací	61,5	46,5	52,0	P = 0,036
Celkový počet kostních komplikací (SMPR)	1,20	0,97	0,98	P = 0,044
Nevertebrální fraktury (SMPR)	0,52	0,54	0,54	P = 0,887
Vertebrální fraktury (SMPR)	0,51	0,52	0,52	P = 0,730
Radioterapie (SMPR analýza)	0,99	0,81	0,77	P = 0,004
Ortopedické výkony	0,44	0,50	0,43	P = 0,643
SMPR – skeletal morbidity period rate je počet 12-týdenních period s novou kostní komplikací (vertebrální, nevertebrální fraktura, radioterapie či kostní operace) dělený počtem period ve studii. Vypočítává se dle následujícího vzorce SMPR počet kostní komplikací + 1/ počet 12-týdenních period +0,5 (Tripathy, 2004)				

V roce 2003 byla zveřejněna studie srovnávající placebo, 2 mg a 6 mg ibandronatu intravenózně v souboru 466 nemocných s karcinomem prsu a kostními metastázemi. Pacienti dostávali ibandronat po dobu 2 let. Medián sledování pacientů s ibandronatem byl 18,1 měsíce.

Primárním parametrem hodnoceným v této studii byl počet nových kostních komplikací v průběhu 12-ti týdenních period léčby. Prokázala přednost 6 mg ibandronatu před placebem, ale také prokázala snížení spotřeby analgetik a analgetické radioterapie ve skupině dostávající 6 mg ibandronatu a snížení počtu nových kostních komplikací o 38 %. Medián intervalu do další kostní komplikace ve skupině byl ve skupině s i.v. ibandronatem delší: 50,6 týdne oproti placebu - 33,1 týdne. Výsledný efekt je hodnocen podobně i parametrem skeletal morbidity period rate, neboli poměrem počtu kostních komplikací za sledovanou periodu, který činil 1,19 u ibandronatu 6 mg versus 1,48 u skupiny s placebem. Studie srovnávající placebo s p.o. aplikací 50 mg

ibandronatu denně v souboru 564 pacientů s karcinomem prsu a kostním postižením prokázala snížení četnosti kostních komplikací vlivem ibandronatu (4). Výsledný efekt je hodnocen podobně jako v předchozí studii parametrem skeletal morbidity period rate, který byl 0,95 versus 1,18 (p = 0,004). Medián intervalu do první kostní komplikace byl ve skupině s p.o. ibandronatem 90,3 týdne a ve skupině s placebem 64,9 týdne. Tato fakta statisticky převedli do výsledné formulace: snížení rizika nových kostních komplikací pod vlivem perorální léčby ibandronatem na 0,62 %, neboli o 38 %, což je stejné jako v předchozí studii s nitrožilní aplikací. Orální léčba ibandronatem snížila nutnost analgetické radioterapie (0,73 versus 0,98, p < 0,001) a nutnost ortopedického výkonu (0,47 versus 0,53, p = 0,037) (5). Druhá studie, srovnávající perorální aplikaci placeba s ibandronatem v dávce 20 nebo 50 mg probíhala v USA. Autoři uvádějí, že podání 50 mg snižuje relativní riziko kostních komplikací o 38 %. Medián sledování je kolem 73 týdnů (32). Výsledky

těchto klinických studií uvádí tabulka 3. Musíme konstatovat, že zatímco ve starších studiích srovnávajících bisfosfonáty s placebem se hodnotil odděleně rozdíl v počtu jednotlivých typů skeletal related events za určité období (počet vertebrogenních, nevertebrogených fraktur, ortopedických zákroků, radioterapií, případně hyperkalcemických episod v průběhu jednoho roku a v přepočtu na jednoho pacienta), tak zde se setkáváme s novým typem statistického hodnocení výsledků skeletal morbidity period rated, podrobnější analýzu uvádí publikace (1).

### Průkaz přímého analgetického účinku

Obě výše zmíněné studie prof. Bodyho potvrdily analgetický efekt bisfosfonátů. Další studie, potvrzující analgetickou účinnost těchto dávek, byly v roce 2004 publikovány zatím jen ve formě abstraktů. Nicméně tyto zprávy považujeme za však klinických studií za nejzajímavější a domníváme se, že otvírají cesty k zatím nepoznanému potencialemu přínosu ibandronatu. Citujeme jednu z těchto prací. Pacienti s bolestivými kostními metastázami dostávali buď 4 mg ibandronatu i.v. 4 dny po sobě, nebo 6 mg ibandronatu i.v. tři dny po sobě s následným podáváním 6 mg i.v. v 4 týdenních intervalech. Překvapujícím a nečekaným výsledkem této studie bylo rychlé a výrazné snížení intenzity bolesti a zlepšení hybnosti. Výrazně se zlepšila kvalita života (6, 14).

Ibandronát má mnohaletou historii, ač preparát je známý již dávno, jeho přínos je odhalován teprve v posledních letech. V prvních klinických studiích byl totiž výrazně poddáván. Když 2 mg nebyly účinné, došlo ke zdvojnásobení dávky na 4 mg, ale při dalším zvyšování si již autoři nedovolili neúčinné 4 mg zdvojnásobit na 8 mg, ale pouze dávku navýšili o 50 % tedy ze 4 na 6 mg. Tato šestimiligramová dávka konečně prokázala signifikantní klinický efekt. Nicméně vzhledem k absenci nefrotoxicity a dalších nežádoucích účinků stojíme stále před otázkou jaká je vlastně optimální dávka ibandronatu. Citované práce, v nichž bylo v prvním měsíci podáno trojnásobné množství ibandronatu (18 mg) bez nežádoucích účinků prokazují, že zvyšování je možné. A tak v případě ibandronátu vidíme stále nezodpovězenou otázku: jaký bude poměr žádoucích a nežádoucích účinků při podávání vyšších dávek než 6 mg/den a jaká je vlastně optimální dávka pro pacienta s maligní osteolýzou? Domníváme se, že zde je pole doširoka otevřené klinickým studiím. Za velmi vhodné pro klinické srovnání by byly studie srovnávající maximální tolerovanou dávku zoledronatu (4mg) se standardní dávkou ibandronatu 6 mg ale i se zvýšenou dávkou 8 či více mg ibandronatu/měsíc, neboť maximální dávka ibandronatu pro dlouhodobé podávání není zatím definována. Klinické studie s 16 mg/měsíc prokázaly, že je aplikovatelná i vyšší dávka.

### Účinnost v léčbě postmenopauzální osteoporózy

Již v roce 1996 byla zveřejněna studie testující 0,25, 0,5, 1,0, 2,5 a 5 mg ibandronatu denně a placebo. Cílem této studie bylo najít účinnou dávku. Jedině 2,5 a 5,0 mg denně byly účinné z hlediska nárůstu kostní denzity (23). Při léčbě postmeno-

paузální osteoporózy je tendence zjednodušit léčbu na podávání 1x týdně a to u všech aminobisfosfonátů. Proto i u ibandronatu bylo testováno podávání 5, 10 a 20 mg p.o. 1x týdně a srovnáváno s placebem. Pouze dávka 20 mg způsobila statisticky významné zlepšení kostní hustoty (28). Dále nitrožilní bolusová injekce 2 mg ibandronatu 1x za 3 měsíce měla pozitivní vliv na kostní denzitu (24,30).

### Závěr

Ibandronat patří do skupiny velice účinných aminobisfosfonátů. Z dosavadních výsledků lze konstatovat, že je v léčbě hyperkalcémie a osteolytického postižení u nádorů osteoporózy srovnatelně účinný s ostatními bisfosfonáty, i když přímé srovnání chybí.

Velmi pozitivní je skutečnost, že ibandronat na rozdíl od jiných aminobisfosfonátů nezvyšuje incidenci renální insuficience a nezhoršuje stávající renální poškození. Podle dostupných farmakokinetických dat je pravděpodobné, že bude moci být podáván i pacientům s výrazně porušenou funkcí ledvin.

Klinicky ověřená možnost podávat vyšší dávky, které jsou následovány analgetickým účinkem, dávají naději, že dávku ibandronatu pro pacienty s kostními metastázami bude možné dále zvyšovat nad dnešní doporučení, 6 mg v intervalu 3-4 týdnů, a tím dále zvyšovat přínos léčby.

Výhodou je skutečnost existence intravenózní i perorální formy, která dosud u aminobisfosfonátů chyběla, nebo měla velké množství nežádoucích účinků. Perorální léčba naráží na problém vstřebatelnosti.

A postavení ibandronatu ve srovnání s ostatními preparáty? Vzhledem k tomu, že většina prospektivních randomizovaných studií srovnávala bisfosfonát s placebem a prokazovala superioritu bisfosfonátu nad placebem (s výjimkou studie srovnávající pamidronat a zoledronat) lze pouze konstatovat, že v roce 2005 lze považovat všechny preparáty s indikací maligní osteolýzy za přibližně podobně účinné. Spekulace, vyplývají ze srovnávání výsledků několika studií typu bisfosfonát versus placebo, jsou nevědecké a nelze jimi argumentovat a prokazovat superioritu jednoho bisfosfonátu oproti druhému, neboť jediným přijatelným argumentem pro toto tvrzení jsou výsledky prospektivním randomizovaných klinických studií srovnávajících různé bisfosfonáty. Těmito typům klinických studií se jejich organizátoři zatím vyhýbali.

Přesto lze závěrem tvrdit, že dosavadní výsledky klinických studií testujícím nitrožilní ibandronat odhalují několik jednoznačných předností tohoto preparátu

1) absence nefrotoxicity.

2) průkaz možného navýšení dávky v prvním měsíci na 16 mg bez nežádoucích projevů

A z toho vyplývající možnost dále zvýšit klinický účinek ibandronatu podáváním vyšších dávek, než jsou t.č. doporučovány, samozřejmě v rámci prospektivních klinických studií.

A tak s napětím můžeme očekávat, co nového se o tomto nadějném léku dozvíme za pár let.

### Literatura:

1. Adam, Z., Vorlíček, J., Ševčík, P. a kol.: Nádorová kostní choroba. Grada Publishing, Praha, 2005. v tisku.
2. Beek, E. R., Cohen, L. H., Leroy, I. M. et al.: Differentiating mechanism of antiresorptive action of nitrogen containing bisphosphonates. Bone 33, 2003, 805-811.
3. Body J. J., Tripathy, D., Bergström, B.: Relief from metastatic bone pain with standard and intensive ibandronate dosing. Bone, 34, 2004, Suppl. 1, S. 83
4. Body, J. J., Diel, I. J., Lichinitser, M. R. et al.: Intravenous ibandronate reduces the incidence of skeletal complications in patients with breast cancer and bone metastases. Ann. Oncol., 14, 2003, s. 1399-1405

5. Body, J. J., Diel, I. J., Lichinitser, M. R. et al.: Oral ibandronat reduces the risk of skeletal complications in breast cancer patients with metastatic bone disease: results of two randomized placebo-control phase III studies. Brit. J. Cancer, 90, 2004, 1133-1137
6. Body, J. J., Diel, I. J., Bell, R.: Profiling the safety and tolerability of bisphosphonates. Semin Oncol., 31, 2004, 5, Suppl 10, 73-8.
7. Brychta, M.: Bisfosfonáty v onkologii - analgetický efekt u kostních metastáz karcinomu prsní žlázy. Bolest, 4, 2001, 3, s. 160-163.
8. Carter, G. D., Goss, A. N.: Bisphosphonates and avascular necrosis of the jaws. Aust Dent J. 48, 2003, 4, 268.
9. Cooper, C., Emkey, R. D., McDonald, R. H. et al.: Efficacy and safety of oral weekly ibandronate in the treatment of postmenopausal osteoporosis. J. Clin. Endocrinol. Metab. 88, 2003, s. 4609-15.

10. Diel, I. J., Body, J. J., Lchinitser, M. R. et al.: Improved quality of life after long term treatment with the bisphosphonate ibandronate in patients with metastatic bone disease due to breast cancer. *Eur. J. Cancer*, 40, 2004, 1704-1712.
11. Fleisch, H., Bisphosphonate in bone disease. Academic press, San Diego, San Francisco, 2000, 212 s.
12. Grotz, W., Nagel, C., Poeschel, D. et al.: Effect of ibandronate on bone loss and renal function after kidney transplantation. *J. Amer. Soc. Nephrol.*, 12, 2001, s. 1530-7.
13. Heidenreich, A., Elert, A., Hofmann, R.: Ibandronate in the treatment of prostate painful osseous metastases. *Prostate Cancer, Prostatic Diseases*, 5, 2002, 231-235.
14. Heidenreich, Ohlmann, C., Olbert, P.: et al.: High dose ibandronat is effective and well tolerated in the treatment of pain and hypercalcaemia due to metastatic urologic cancer. *Eur. J. Cancer.*, 2003. Suppl. 5, S 271
15. Christiansen, C., Tanko, L. B., Warming, L. et al.: Dose dependent effects on bone resorption and formation of intermittently administered intravenous ibandronate. *Osteoporos Int.*, 14, 2003 s. 609-13.
16. Lyubimova, B. V., Kushlinsky, N. E., Kucubutserm N et al.: Renal safety of intravenous ibandronat in breast cancer. *Clin. Drug Invest.*, 23, 2003, 707-716.
17. Mancini, I., Dumon, C., Body, J. J.: Efficacy and safety of ibandronate in the treatment of opioid resistant bone pain. associated with metastatic bone disease. *Bone*, 30, 2002, Suppl.3, s.51 Abstr. B56. a *J. Clin. Oncol.*, in press.
18. Menssen, H. D., Sakalova, A., Fontana, A., et al.: Effects of long-term intravenous ibandronate therapy on skeletal-related events, survival, and bone resorption markers in patients with advanced multiple myeloma. *J. Clin. Oncol.*, 20, 2002 s. 2353-9. ]
19. Neugebauer, G., Köhler, W., Akinkunmi, L. et al.: Influence of peak ibandronic acid concentrations after 6 mg i.v. administration with shortened infusion time 15 and 30 minutes, on renal safety in a man *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.*, 20, 2001, s. 122 Abstr. 486.
20. Pecherstorfer, M., Steinhauer, E. U., Rizzoli, R., et al.: Efficacy and safety of ibandronate in the treatment of hypercalcaemia of malignancy: a randomized multicentric comparison to pamidronate. *Support Care Cancer.*, 11, 2003 s. 539-47.
21. Riis, B. J., Ise, J., von Stein, T., et al.: Ibandronate: a comparison of oral daily dosing versus intermittent dosing in postmenopausal osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.*, 16, 2001 s. 1871-8.
22. Ralston, S. H., Gallacher, S. J., Patel, U., et al.: Comparison of three intravenous bisphosphonate in cancer associated hypercalcaemia. *Lancet*, 18, 1989, 1180-1182.
23. Ravn, P., Clemmensen, B, Riis, B. J. et al.: The effect on bone mass and bone markers of different doses of ibandronat: a new bisphosphonate for prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: A 1-year randomised, placebo controlled dose finding study. *Bone*, 19, 1996, s. 527-533.
24. Stakkestad, J. A., Benevolenskaya, L. I., Stepan, J. J., et al.: Ibandronate Intravenous Study Group. Intravenous ibandronate injections given every three months: a new treatment option to prevent bone loss in postmenopausal women. *Ann Rheum Dis.* 62, 2003 s. 969-75.
25. Suri, S.: Nitrogen containing bisphosphonate induce apoptosis of Caco\*2 cells in vitro by inhibiting the mevalonate pathway: a model of bisphosphonate induced gastrointestinal toxicity. *Bone* 29, 2001, 336-343.
26. Syrigos, K. N., Michalaki, V., Mitromaras, A.: Safety and efficacy of new bisphosphonate ibandronate in the management of bone metastases following rapid infusion. *In Vivo*, 16, 2002, 361-364.
27. Tanko, L. B., Mouritzen, U., Lehmann, H. J., et al.: Oral ibandronate: changes in markers of bone turnover during adequately dosed continuous and weekly therapy and during different suboptimally dosed treatment regimens. *Bone*, 32, 2003 s. 687-93.
28. Tanko, L.B., Felsenberg, D., Czerwinski, E. et al.: Oral weekly ibandronate prevents bone loss in postmenopausal woman. *J. Internal. Med.*, 254, 2003, 159-167.
29. Terpos, E., Viniou, N., de la Fuente J., et al.: Pamidronate is superior to ibandronate in decreasing bone resorption, interleukin-6 and beta 2-microglobulin in multiple myeloma. *Eur J Haematol.* 70, 2003 s. 34-42.
30. Thiébaud, D., Buckhardt, P., Kreigbaum, H. et al.: Three monthly intravenous injection of ibandronat in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Amer. J. Med.*, 103, 1997, 298-307.
31. Tripathy, D., Budde, M.: Assessing the efficacy of ibandronate for the prevention of skeletal related events in metastatic bone Diseases. *Bone*, 34, 2004, Suppl.1 S 83.
32. Tripathy, D., Lichinitzer, M., Lazarev, A. et al.: Oral ibandronate for the treatment of metastatic bone disease in breast cancer: efficacy and safety results from a randomized double blind placebo controlled trial. *Ann. Oncol.*, 15, 2004, s. 743-750.
33. Woitge, H. W., Oberwittler, H., Heichel, S., et al.: Short- and long-term effects of ibandronate treatment on bone turnover in Paget disease of bone. *Clin. Chem.*, 46, 2000 s. 684-90.

## PROGNOSTICKÉ FAKTORY U METASTATICKÝCH NÁDORŮ LEDVIN

### PROGNOSTIC FACTORS FOR METASTATIC RENAL CANCER

ŠIFFNEROVÁ H., BUSTOVÁ I.

ONKOLOGICKÉ ODDĚLENÍ NEMOCNICE ČESKÉ BUDĚJOVICE

**Souhrn:** Stanovení a zhodnocení prognostických faktorů významně ovlivňuje výsledky léčby u pacientů s metastatickým nádorem ledvin. V naší studii jsme sledovaly vztah mezi předléčebnými prognostickými faktory a přežitím. **Soubor a metodika:** Zařazeno bylo 33 pacientů s metastatickým nádorem ledvin, kteří byli léčeni imunochemoterapií dle Atzpodiena v letech 1996-2004. Sledovány byly následující prognostické rizikové faktory spojené s horším přežíváním: 1/Karnofsky performance status pod 80%, 2/ hladina LDH nad 1,5x normu, 3/ hladina sérového hemoglobinu pod hranici normy, 4/ hladina sérového vápníku nad normu, 5/ absence předchozí nefrektomie. Nemocní byli rozděleni do rizikových skupin a byl porovnáván medián přežití. **Výsledky:** Nízce rizikovou skupinu (0 rizikových faktorů) tvořilo 18 pacientů (55%). Medián přežití byl 21,3 měsíce (5-103 měsíce). Patnáct pacientů (45%) s 1-2 nepříznivými prognostickými faktory bylo zařazeno do středně rizikové skupiny s mediánem přežití 10,9 měsíce (2-114 měsíce). Pacienty s třemi a více rizikovými faktory jsme v souboru neměli. Medián doby sledování byl 32 měsíců (4-114 měsíců). **Závěr:** V naší studii jsme potvrdily vztah mezi rizikovými prognostickými faktory a zhoršeným přežitím. Zařazení pacientů do rizikových skupin je účelné pro určení prognózy a pro nově vytvářené klinické studie. Otázkou zůstává, zda a jakým způsobem by měly prognostické faktory ovlivňovat současný terapeutický přístup

**Klíčová slova:** metastatický nádor ledvin, prognostické faktory

**Summary:** Identification and evaluation of prognostic factors significantly influences the treatment results in metastatic renal cell cancer patients. It was the relationship between pre-treatment prognostic factors and the survival rate that was the aim of our study. **Patients and methods:** 33 metastatic renal cell cancer patients treated with immunotherapy according to Atzpodien during the period between 1996 - 2004 were included in the study. The following prognostic risk factors associated with lower survival rate were studied: 1/ Karnofsky performance status lower than 80 %, 2/ lactate dehydrogenase levels >1,5x of the upper limit of normal, 3/ serum hemoglobin < lower limit of normal, 4/ serum calcium above normal, 5/ absence of previous nephrectomy. The patients were divided into risk groups and their median survival time was being compared. **Results:** Favorable-risk group (zero risk factors) included 18 patients (55%), reaching a median survival time of 21,3 months (5-133 months). Intermediate-risk group (one or two risk factors) included 15 patients (45%) with a median survival time of 10,9 months (2-114 months). No patients with three and more risk factors were found and included in the study. Median follow-up time was 32 months (4-114 months). **Conclusion:** Our study confirmed the relationship between risk prognostic factors and a lower chance of survival. It is reasonable to categorize patients into risk groups as it helps in the prognosis assessment and in designing of new clinical trials. However, whether and how the prognostic factors should influence the current treatment approach remains a question.

**Key words:** metastatic renal cancer, prognostic factors

#### Úvod

Incidence nádorů ledvin v posledních letech trvale stoupá a to jak u lokalizovaných tumorů, tak i u pokročilých forem onemocnění. Příčina zvýšené incidence není známa. Zvýšení výskytu renálního karcinomu je také spojeno s vyšší mortalitou. 1

Stanovení a zhodnocení prognostických faktorů významně ovlivňuje výsledky léčby a celkové přežití.

#### Cíl práce

V naší práci jsme se zabývaly vztahem mezi předléčebnými prognostickými faktory a přežitím u pacientů s metastatickým karcinomem ledvin.

#### Materiál a metodika

Do souboru byli zařazeni pacienti s metastatickým karcinomem ledviny, kteří byli léčeni na onkologickém oddělení Nemocnice Č.Budějovice v letech 1996-2004.

Používali jsme léčebné schema dle Atzpodiena, a to kombinaci interleukinu 2, interferonu alfa a 5-fluorouracilu. Podmínkou pro zařazení bylo dokončení minimálně 1 serie imunochemoterapie, která trvala 8 týdnů.

Soubor tvoří 33 pacientů, 21 mužů a 12 žen. Medián věku byl 61 let (36-69 let).

Všichni nemocní měli performance status nad 80% a měli provedenou nefrektomii. Pacienti s mozkovými metastasami byli vyloučeni. U 16 nemocných (52%) byla zjištěna generalizace



pouze do plic, ostatní pacienti měli i extrapulmonální metastasy.

Medián follow up pro přežívající byl 32 měsíců (4-114 měsíců).

K rozřídění do skupin jsme použily rizikové prognostické faktory, které byly publikovány v práci Motzera v roce 1999 .2

1) performance status pod 80%, 2) hladina LDH nad 1,5 x norma, 3) hladina hemoglobinu pod normu, 4) hladina kalcia nad normu, 5) absence předchozí nefrectomie.

Pacienti byli rozděleni do následujících skupin:

- a) níže riziková skupina s 0 rizikovými prognostickými faktory
- b) středně riziková skupina s 1-2 rizikovými prognostickými faktory
- c) vysoce riziková skupina s 3-5 rizikovými prognostickými faktory

### Výsledky

Níže riziková skupina- zařazeno 18 pacientů. Medián věku byl 60 let (36-69 let). Generalizaci pouze do plic mělo 55% pacientů. Zjištěný medián přežití je 21,3 měsíce (5-103 měsíce).

Středně riziková skupina - zařazeno 15 pacientů. Medián věku byl 57 let (44-68 let). Pouze plicní metastasy byli zjištěny u 40% nemocných.

Zjištěný medián přežití je 10,9 měsíce (2-114 měsíců).

Dva pacienti (13%) měli kombinaci dvou rizikových faktorů, jednou byla zjištěna anemie spolu s zvýšenou hladinou LDH a podruhé zvýšená hladina LDH a vápníku.

Zvýšenou hladinu vápníku jsme nekorigovaly s hladinou albuminu jako v publikaci Motzera, protože albumin nebyl vyšetřen.

Ostatní nemocní měli pouze jeden rizikový prognostický faktor a to nejčastěji anemii u 8 pacientů (54%) nebo zvýšenou hladinu LDH u 5 pacientů (33%).

Nemocné s třemi a více rizikovými faktory jsme v souboru nezaznamenaly.

### Diskuse

Metastatický karcinom ledviny zůstává nadále frustrujícím onemocněním navzdory zavedení imunochemoterapie.

Řada autorů se snažila stanovit určité prognostické faktory, které by pomohly zařadit nemocné do rizikových skupin a predikovat výsledky léčby.

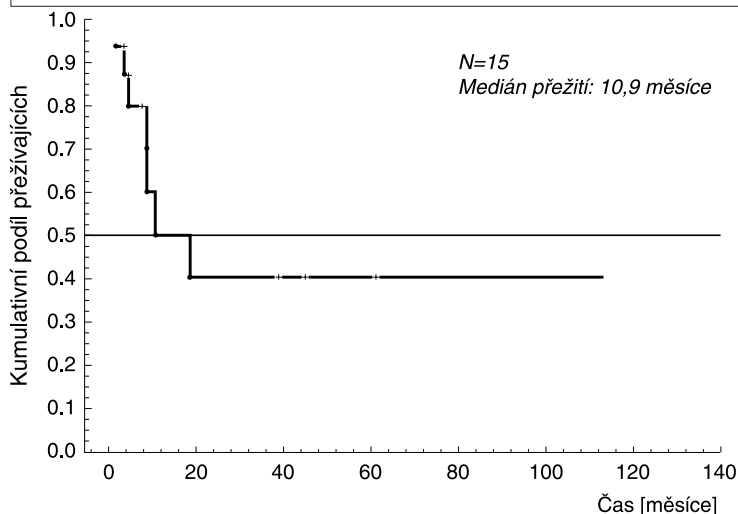
Hänninen publikoval v roce 1996 práci, ve které udává jako významné nezávislé rizikové prognostické faktory vyšší sedimentaci a vyšší hladinu LDH . Za méně významné prognostické faktory považuje nižší počet neutrofilů, sníženou hladinu hemoglobinu, extrapulmonální metastasy a kostní léze. Sledoval údaje zjištěné před léčbou metastatického karcinomu ledviny, která sestávala z interleukinu 2 +- interferonu alfa a fluorouracilu.3

Motzer ve své pozdější analýze 670 pacientů udává 5 významných prognostických faktorů a to: performance status, hladiny hemoglobinu, LDH, vápníku a absenci předchozí nefrectomie. Téměř 60% nemocných bylo léčeno imunoterapií a 40% nemocných chemoterapií.

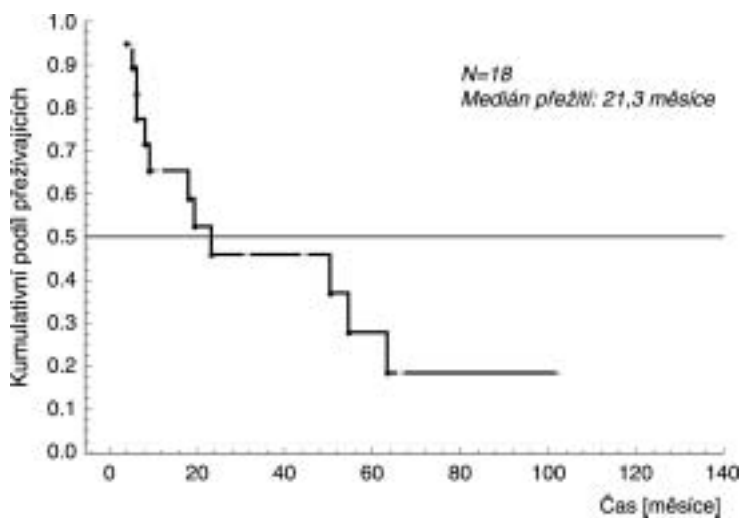
V této studii byl medián přežití u všech pacientů 10 měsíců, jednoleté přežití 42% a dvouleté přežití 20%.2

Performance status je stejně jako u jiných pokročilých malignit základním kriteriem pro indikaci onkologické léčby. Ve většině studií by měl být nad 80 %.

### Celkové přežití pacientů s metastatickým karcinomem ledviny – středně riziková skupina



### Celkové přežití pacientů s metastatickým karcinomem ledviny – níže riziková skupina



Dalším důležitým prognostickým faktorem je provedení nefrectomie.

D.P.Wood se zabýval důkazem, že nefrectomie má smysl a je přínosná i pro pacienty s metastatickým nádorem ledviny.

Byly provedeny 2 téměř identické randomizované studie III. fáze (SWOG 8949 a EORTC 30 947), které hodnotily výsledky nefrectomie s následným interferonem alfa oproti samotnému interferonu alfa. Medián přežití v operované skupině byl 12,6 měsíců oproti 7,8 měsíce u neoperované skupiny. Všichni pacienti měli WHO 0,1,4

Navíc, pokud byla provedena resekce metastas, bylo také pozorováno zlepšení mediánu přežití oproti neoperovaným pacientům. Při odstranění metastas, které se vyskytly jenom v plicích byl medián přežití 14,3 měsíce oproti 10,3 měsíce u neoperovaných pacientů. Horších výsledků bylo dosaženo při operaci extrapulmonálních metastas. Medián přežití pro operované byl 10,2 měsíce a pro neoperované 6,3 měsíce. Signifikantní komplikace operace se objevily pouze u 5,2% nemocných.4

V našem souboru měli dva pacienti odstraněny residuální plicní metastasy a jsou v kompletní remisi po 61 a 114 měsíců.

Jeden nemocný měl pro metastasy ve slezině provedenu splenectomii a je dosud 6 měsíců v kompletní remisi.

Vyšší hladina LDH a vyšší hladina vápníku jsou zase spjaty s kostními a jaterními metastasami, které predikují špatné přežití. Anemie, která těsně souvisí s nízkým albuminem je také nepříznivým prognostickým faktorem.<sup>5</sup>

Hodnoty mediánu přežití v našem souboru korelují s výsledky, které publikoval ve své práci Motzer. Nemocní, kteří byly v uvedené publikaci zařazení do nízké rizikové skupiny měli medián přežití 19,9 měsíce. Pacienti ve středně rizikové skupině měli medián přežití 10,3 měsíce. Ve stejné práci udává i výsledky u pacientů s vysokým rizikem, kdy byl medián přežití pouze 3,9 měsíce.

### Závěr

V našem souboru byl medián přežití u nízké rizikové skupiny pacientů 21,3 měsíce.

Medián přežití u středně rizikové skupiny byl 10,9 měsíce. Pacienti, kteří by splňovali kriteria pro zařazení do vysoce rizikové skupiny jsme v souboru nezaznamenali.

Dosavadní nepříznivé výsledky léčby pokročilých nádorů ledvin zdůrazňují potřebu vývoje nových postupů a léků, nejspíše cílených na biologické abnormality.

Zařazení do rizikových skupin je účelné pro určování prognózy a mělo by být využíváno pro tvorbu designu nových klinických studií pro pacienty s metastatickým karcinomem ledvin.

Otázkou zůstává, zda by prognostické faktory měly ovlivňovat i terapeutický postup.

Pokud ano, je přínosem pro pacienta provádět nefrectomii při výskytu 3 rizikových faktorů, například anemie, zvýšené hladiny LDH a vápníku?

Ovlivní úprava anemie indikaci k nefrectomii a výsledky přežití?

### Literatura:

1. Redman BG., Current approaches to advanced kidney cancer. American Society of Clinical Oncology, 253-257, 2004
2. Motzer RJ., et al. Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. J Clin Oncol 17, 2530, 1999
3. Hänninen EJ., Kircher H., Atzpodien J. Interleukin-2 based home therapy

of metastatic renal cell carcinoma: Risk and benefits in 215 consecutive patients. J Urol 155, 19-25, 1996

4. Wood DP., Role of surgery in the treatment of advanced renal cell carcinoma. American Society of Clinical Oncology, 264-266, 2004
5. Stadler WM., et al. Prognostic factors for survival with gemcitabine plus 5-fluorouracil based regimens for metastatic renal cancer. J Urol 170, 1141-1145, 2003

---

# informace

---

## MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV V BRNĚ

pořádá

### XXX. BRNĚNSKÉ ONKOLOGICKÉ DNY

#### XX. KONFERENCÍ PRO SESTRY A LABORANTY

s mezinárodní účastí

## 11. – 13. května 2006

**Místo konání:** hotel Voroněž, Křižkovského 47, Brno

**Jednací řeč:** čeština, slovenština, angličtina

### Registrační poplatek:

do 31. 3. 2006 VŠ 1 190,- Kč (včetně 19% DPH) SZP 595,- Kč (včetně 19% DPH)

později (po 31. 3. 2006) 1 547,- Kč (včetně 19% DPH)

### Rámcový program

*Čtvrtek 11. 5. 2006*

- European Cancer Plans: Strategies and Solutions
- Onkosíť – dostupnost a ekvita onkologické péče
- Integrace a fúze zobrazovacích metod v onkologii
- Reprezentativní biopsie – klíč k onkologické diagnóze a monitoringu léčby
- Dvoudobé a opakované operace pro nádorová onemocnění, derivační výkony v onkologii
- Etika ošetřovatelství
- Vzdělávání multidisciplinárního týmu ve smyslu platné legislativy
- Rizika při poskytování zdravotní péče

*Pátek 12. 5. 2006*

- Protilátky v léčbě nádorů
- Teorie a praxe klinických hodnocení
- Timing radioterapie
- Soužití s nádorem, levné a efektivní postupy v onkologii, analýza omylů z praxe
- Role sestry při vyhledávání a kontrole nežádoucích účinků léčby onkologicky nemocných

*Sobota 13. 5. 2006*

- Pokroky v biologii nádorů
- Karcinom prostaty
- Metastázy neznámého origa
- Léčba lymfedému

**Podrobné informace na:** <http://www.mou.cz>,  
**Sekretariát přípravného výboru e-mail:** [cechmanova@mou.cz](mailto:cechmanova@mou.cz)

# CHIRURGICKÁ RESEKCE PLICNÍCH METASTÁZ KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU. ANALÝZA PROGNOSTICKÝCH FAKTORŮ.

## SURGICAL RESECTION OF PULMONARY METASTASES FROM COLORECTAL CARCINOMA. PROGNOSTIC FACTORS ANALYSIS.

STOLZ A. J., ŠIMONEK J., LISCHKE R., SCHÜTZNER J., PAFKO P.

3.CHIRURGICKÁ KLINIKA 1. LF UK A FN MOTOL PRAHA,

### Souhrn:

**Úvod.** Cílem retrospektivní studie bylo identifikovat faktory pro délku přežití pacientů po plicní resekci metastázy kolorektálního karcinomu. **Materiál a metody:** V období mezi květnem 1999 a červencem 2004 bylo operováno 21 pacientů pro plicní metastázu kolorektálního karcinomu. Celkem bylo operováno 12 mužů a 9 žen. Průměrný věk pacientů byl 62 let (rozmezí 49-77 let). Primární tumor byl v oblasti rekta u 10 pacientů, v kolon u 11 pacientů. Čtyři pacienti byli reoperováni pro rekurentní plicní metastázu. **Výsledky:** U čtyř pacientů byla plicní metastáza detekována synchronně s kolorektálním karcinomem. Čtyři pacienti měli opakovanou metastazektomii (dva pacienti měli stejnostrannou retorakotomii) a u jednoho pacienta byl proveden bilaterální výkon. Celkem bylo provedeno 19 metastazektomií a 6 lobektomií a jedna bilobektomie. Celkové 3-leté přežití pacientů bylo 67%, 5-leté přežití bylo 36%. Pacienti s normální hladinou karcinoembryonálního antigenu (CEA) před plicní resekci měli lepší prognózu než pacienti se zvýšenou hladinou CEA ( $p = 0,04$ ). Ten byl identifikován jako jediný statisticky významný faktor pro délku přežití pacientů po resekci plicní metastázy. **Závěr:** Provedení plicní metastazektomie může pomoci zlepšit přežívání pacientů jak s izolovanou, tak s bilaterální a rekurentní metastázou. Stanovení hladiny CEA před plicní resekci metastázy se jeví jako signifikantní prognostický faktor přežívání pacientů s izolovanými metastázemi kolorektálního karcinomu.

**Klíčová slova:** kolorektální karcinom, plicní metastáza, karcinoembryonální antigen.

### Abstract:

**Purpose.** To identify prognostic factors of improved survival after resection of isolated pulmonary metastasis (PM) from colorectal cancer. **Methods:** We analyzed retrospectively 21 patients who underwent resection of a pulmonary metastasis from colorectal cancer between May 1999 and July 2004. Twelve men and 9 women were included in the study. Median age was 62 years (range 49-77 years). Primary tumor site was in rectum in 10 patients and in colon in 11 patients. Four patients underwent reoperation for pulmonary recurrence. **Results:** Four patients had synchronous metastases. Four patients had reoperation for pulmonary recurrence and one patient underwent bilateral operation. Nineteen metastasectomies, 6 lobectomies and one bilobectomy were performed. Overall 3-year survival was 67 %, 5-year survival was 36 %. Patients with normal pretoracotomy carcinoembryonic antigen (CEA) level had better prognosis than patients with elevated CEA level ( $p = 0,04$ ). This was identified as the only statistically significant factor for survival prognosis in patients following resection of PM. **Conclusions:** Pulmonary resection for metastases from colorectal cancer may help prolong survival in selected patients, even with bilateral lesions or recurrent metastasectomy. The pretoracotomy serum CEA level appears to be the most reliable predictor of survival in patients with isolated PM from colorectal cancer.

**Key words:** colorectal cancer, pulmonary metastases, carcinoembryonic antigen.

### Úvod

Kolorektální karcinom je druhým nejčastějším nádorovým onemocněním u mužů a žen a je nejčastějším nádorem trávicího ústrojí. Velice znepokojující je neustále vzrůstající trend incidence tohoto nádoru. Česká republika je v incidenci této nemoci na 1. místě v celosvětových tabulkách. Plicní metastázy kolorektálního karcinomu jsou po jaterních metastázách druhými nejčastějšími orgánovými metastázemi tohoto nádoru. Protože neexistuje zatím efek-

tivní chemoterapie pro plicní metastázy, zůstává chirurgické odstranění metastáz, metastazektomie, jedinou potenciálně kurabilní metodou léčby [1]. Resekce solitárních metastáz je všeobecně akceptovaná, avšak resekce vícečetných a bilaterálních metastáz zůstává kontroverzní [1]. Kontroverzní zůstává rovněž retorakotomie při rekurenci onemocnění. Cílem naší práce bylo podat přehled výsledků odstranění plicních metastáz na naší klinice a nastínit naši strategii léčby plicních metastáz.

## Soubor nemocných

Celkem 115 pacientů s plicní metastázou bylo operováno na naší klinice od května 1999 do července 2004. Z toho 21 (18%) pacientů bylo operováno pro plicní metastázy kolorektálního karcinomu. Celkem bylo operováno 12 mužů a 9 žen. Průměrný věk pacientů byl 62 let (rozmezí 49-77 let). Primární tumor byl v oblasti rekta u 10 pacientů, v kolon u 11 pacientů. Bylo provedeno 7 hemikolektomií, dále 8 resekcí transversa a rektosigmoidea, a 6 abdominoperineálních extirpací konečků.

Kriteria pro provedení plicní resekce byla následující: pacient byl bez známek recidivy primárního nádoru, plicní nález radikálně resekovatelný dle počítačové tomografie (CT) plic a pacient neměl známky další generalizace maligního onemocnění. Nález resekovatelných jaterních metastáz nevyklučoval plicní resekci. Bilaterální výskyt metastáz plicních nebyl kontraindikací výkonu.

Před plicní metastazektomií bylo rutinně provedeno: koloskopie, ultrazvuk břicha, CT plic a mediastina, bronchoskopie, spirometrie. U pacientů bylo provedeno vyšetření karci-noembryonálního antigenu (CEA).

Všechny plicní resekce byly provedeny v selektivní plicní ventilaci anterolaterální torakotomií. Palpačně byla vyšetřena celá plic. V případě příznivého anatomického uložení metastáze jsme jako dostačující výkon považovali parenchym šetřící klínovitou excizi, kterou jsme prováděli lineárními staplery TCT (Ethicon). V případě centrálně uložených metastáz a nemožnosti pro její velikost provést radikální klínovitou excizi, byla provedena lobektomie.

Follow-up byl proveden k 1. březnu 2005. Byl proveden kontrolou pacientů na naší ambulanci a telefonickým kontaktem onkologických pracovišť, kde jsou pacienti po plicní metastazektomií dispenzarizováni.

Statistická data byla zpracována pomocí verze SPSS 10.0. Kategorické proměnné byly porovnány pomocí testu. Studentův *t*-test byl použit k analýze pokračujících proměnných. Jako faktor  $\chi^2$  s statistickou významností byl definován jako  $p < 0,05$  a vysoko signifikantní jako  $p < 0,01$ .

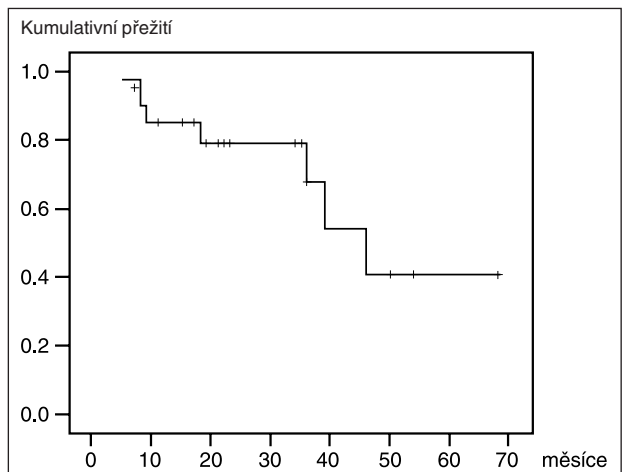
## Výsledky

U 21 pacientů bylo provedeno celkem 25 operací. Čtyři pacienti měli opakovanou metastazektomií (dva pacienti měli stejnostrannou retorakotomií) a u jednoho pacienta byl proveden bilaterální výkon ze separátních anterolaterálních torakotomií. Celkem bylo provedeno 19 metastazektomií a 6 lobektomií a jedna bilobektomie. Pneumonektomie nebyla provedena. Průměrná pooperační hospitalizace byla 7,9 dne (rozmezí 5-12 dní).

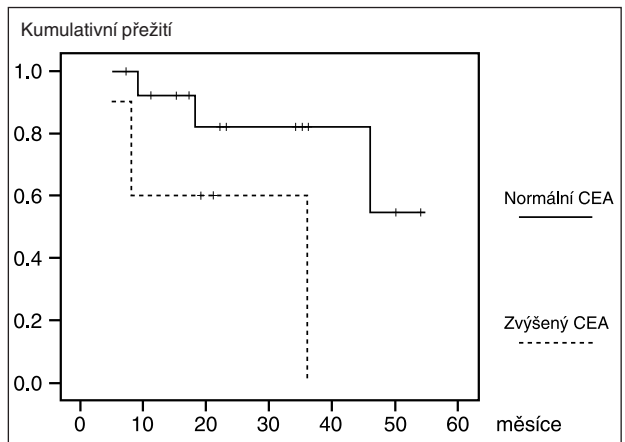
Disease free interval (DFI) byl definován jako doba od provedení resekce kolorektálního karcinomu po detekci plicní metastáze. Průměrný DFI byl 20,7 měsíce (rozmezí 0-102 měsíců). DFI 0-6 měsíců měly 4 pacienti, DFI 6-35 měsíců mělo 12 pacientů a více než 36 měsíců mělo 5 pacientů. U 4 pacientů byla plicní metastáza detekovaná synchronně s kolorektálním karcinomem. U těchto pacientů metastazektomie následovala v druhé době po provedení resekci primárního nádoru.

Celkem jsme odstranili 19 solitárních ložisek, u 7 pacientů byla odstraněna více než jedna metastáza. Dva pacienti měli bilaterální metastázy. Průměrně byla odstraněna 1,44 metastáza. Průměrná velikost ložiska byla 20,5 + 11,6 mm. Celkové 3-leté přežití pacientů po plicní metastazektomií bylo 67%, 5-leté přežití bylo 36%. (Graf č. 1.)

CEA byl před torakotomií vyšetřen u 19 pacientů. U 15 pacientů byl normální, u 4 pacientů byla hladina CEA zvýšená. Celkové 3-leté přežití pacientů s normální hladinou CEA bylo 80%, u pacientů se zvýšenou hladinou CEA bylo 30%. Pacienti s normální hladinou CEA měli signifikantně lepší prognózu než pacienti se zvýšenou hladinou CEA ( $p=0,04$ ). (Graf č. 2.)



Graf č. 1.: Kaplan-Meier křivka kumulativního přežití 21 pacientů po plicní resekci metastáze kolorektálního karcinomu



Graf č. 2.: Kaplan-Meier křivka přežití pacientů dle hladiny CEA. Pacienti s normální hladinou CEA měli signifikantně lepší 3-leté přežití než pacienti se zvýšenou hladinou CEA ( $p=0,04$ )

## Diskuse

Metastazektomie plicních metastáz kolorektálního karcinomu je jedinou potencionálně kurabilní terapií [1]. Považujeme metastazektomií za indikovanou tehdy, je-li primární nádor radikálně odstraněn, nerecidivuje a pacient je schopný hrudního výkonu. Plicní metastáza se nejčastěji detekuje jako periferní kulovité ložisko na rentgenovém snímku (rtg) plic před operací kolorektálního karcinomu nebo v rámci sledování po jeho resekci. Poté je doplněno CT plic a mediastina, kde se ložisko znázorňuje jako subpleurální ložisko kulovitého vzhledu. Již nález ostrého ohraničení proti plicnímu parenchymu může sloužit k odlišení primárního bronchogenního karcinomu, který má charakter spikulací. Optimální je ověření nepřítomnosti metastáz v jiných orgánech, které by byly neresekovatelné. Vyšetření pozitronovou emisní tomografií (PET) se považuje za metodu volby k vyloučení generalizace a diseminace primárního nádoru [2]. Ale uvědomujeme si také, že toto vyšetření není běžně dostupné a proto ho standardně nevyžadujeme u každého pacienta.

Vedou se diskuze o způsobu provedení plicní resekce. Jestli provést videothorakoskopickou (VTS) resekci, nebo přístup zvolit z torakotomie. Na našem pracovišti provádíme standardně anterolaterální torakotomií. Její výhodou je možnost manuálního vyšetření plic, při kterém můžeme najít více metastáz, než bylo před výkonem diagnostikováno. Oboustranný výskyt metastáz nepovažujeme za kontraindikaci k resekci v případě, že bude možné všechny metastázy radikálně odstranit. U oboustranného výskytu metastáz můžeme



zvolit odoperovat simultánně obě strany najednou, nebo zvolit operaci ve dvou dobách. Domníváme se, že jestli je pacient schopný oboustranné torakotomie, je vhodné ji provést. Při rutinním užití epidurální anestezie v pooperačním období je tolerance takového výkonu dobrá. I zde volíme přístup z oboustranné anterolaterální torakotomie. Volgelsang doporučuje provést sternotomii a ošetřit obě plíce [3]. Nevýhodou tohoto přístupu je obtížné ošetření lézí v levém dolním laloku. Za dostačující radikální výkon je považována klínovitá parenchym šetřící plicní resekce s bezpečným lemem zdravé plicní tkáně [1]. Nedostatečná resekce je spojena s lokální recidivou [2,4]. Zde se můžeme setkat s problémem peroperačním histologickým vyšetřením preparátu. Pro patologa může být obtížné odlišit metastázu adenokarcinomu od primárního bronchogenního adenokarcinomu plic. To může být někdy příčinou, že se provede resekce většího rozsahu než klínovitá resekce. U centrálně lokalizovaných metastáz, vícečetných nebo u opakovaných metastazektomií je někdy nutné provést anatomicou plicní resekci (lobektomie, bilobektomie), výjimečně i pneumonektomii.

Okumura v souboru pacientů s plicními metastázami kolorektálního karcinomu našel uzlinové postižení u 15% pacientů [5]. Jejich 5-leté přežívání bylo nízké... 6,7%. Lymfadenektomie mediastinálních uzlin obecně není součástí plicní metastazektomie. Sami odstraňujeme pouze uzliny makroskopicky zvětšené.

McAfee a spol. publikoval práci, kde porovnával pacienty po jedné metastazektomii a pacienty s opakovanou plicní resekci [4]. Neprokázal signifikantní rozdíl 3- a 5-letého přežití u těchto skupin pacientů. Možnost opakování resekčního výkonu je hlavním důvodem maximálního šetření funkčního parenchymu při první operaci.

Mnoho studií se zabývá intervalem mezi primární resekci kolorektálního karcinomu a metastazektomií (DFI). Jsou studie, které potvrzují DFI jako signifikantní prognostický faktor [6,7,8]. Další autoři nepovažují tento interval za signifikantní pro délku přežití pacientů [2,5].

Labow a spol. publikovali práci, která sledovala přežívání pacientů s plicní metastázou, kteří jsou po jaterní metastazektomii [9]. Porovnával skupiny pacientů, kterým byla provedena

plícní resekce a pacienty bez plicní metastazektomie po jaterní resekci. Zjistil rozdíl v 3-letém přežití- 60% vs. 31% u pacientů bez plicní resekce. Girard taky nepovažuje předchozí jaterní metastazektomii za negativní prognostický faktor pro plicní resekci [10]. Robinson a spol. ve své práci porovnávali přežívání pacientů s resekovanou plicní a jaterní metastázou a pacientů bez resekce těchto metastáz [7]. Median přežití u skupiny s resekci (16 měsíců) byl signifikantně delší než u pacientů bez resekce (6 měsíců,  $p < 0,01$ ).

Pětileté přežívání pacientů po plicní resekci metastáz kolorektálního karcinomu se pohybuje kolem 27-63% [6]. Nejvyšší procento zaznamenal ve své studii Ike a spol.- 63,7% [6]. Pacienti v jeho souboru měli intenzivní sledování po resekci kolorektálního karcinomu, kdy ve dvouměsíčních intervalech se sledovala hladina CEA a snímek plic se prováděl každých 6 měsíců. Autoři oslovili přednosty pěti velkých onkologických pracovišť. Všude se sledují nádorové markery v intervalu 3 měsíců. Pouze jedno pracoviště provádí snímek plic za 6 měsíců po operaci, druhé až za rok, třetí za 2 roky a pouze dvě jsou-li nádorové markery zvýšené.

Hladinu CEA je možné považovat za důležitý prognostický faktor, jak dokládají různé studie [8,10,11]. Důležitost CEA jako prognostického faktoru potvrdila také naše studie. Ale zvýšenou hladinu CEA nepovažujeme za kontraindikaci k plicní resekci při splnění všech jiných podmínek radikální resekce.

Provedení plicní metastazektomie je bezpečnou možností zlepšení prognózy pacientů po resekci kolorektálního karcinomu [1-5]. Důsledné sledování pacientů po resekci primárního kolorektálního karcinomu, pravidelné stanovení hladiny CEA (1x za 3 měsíce) a provádění snímku plic (1x za 6 měsíců), může pomoci zachytit plicní metastázy v resekovatelném stádiu.

Závěrem by autoři rádi poděkovali všem spolupracujícím onkologickým pracovištím za spolupráci při sledování, léčbě a dispenzarizaci všech pacientů po plicní resekci metastáz kolorektálního karcinomu.

Práce byla prezentovaná na Dnech mladých chirurgů, 11.-12.6.2005 v Martině.

## Literatura.

1. Rena O, Casadio C, Viano F. et al: Pulmonary resection for metastases from colorectal cancer: factor influencing prognosis. Twenty-year experience. Eur J Cardiothorac Surg 2002;21: 906-912
2. Watanabe I, Arai T, Ono M et al: Prognostic factors in resection of pulmonary metastasis from colorectal cancer. Br J Surg 2003;90:1436-1440
3. Volgelsang H, Haas S, Hierholzer C et al.: Factors influencing survival after resection of pulmonary metastases from colorectal cancer. Br J Surg 2004;91:1066-1071
4. McAfee MK, Allen MS, Trastek VF et al.: Colorectal lung metastases: results of surgical intervention. Ann Thorac Surg 1992;53:780-785
5. Okumura S, Kondo H, Tsuboi M et al: Pulmonary resection for metastatic colorectal cancer: experience with 159 patients. J Thorac Cardiovasc Surg. 1996;112:867-74
6. Ike H, Shimada H, Ohki S et al.: Results of aggressive resection of lung meta-

stases from colorectal carcinoma detected by intensive follow-up. Dis Colon Rectum 2002;45: 468-73

7. Robinson BJ, Rice TW, Strong SA et al.: Is resection of pulmonary and hepatic metastases warranted in patients with colorectal cancer? J Thorac Cardiovasc Surg 1999;117:66-75
8. Sakamoto T, Tsubota N, Iwanaga K et al.: Pulmonary resection for metastases from colorectal cancer. Chest 2001;111:1069-1072
9. Labow DM, Buell JE, Yoshida A et al.: Isolated pulmonary recurrence after resection of colorectal hepatic metastases- is resection indicated? Cancer J 2002;8:342-347
10. Girard P, Ducreux M, Baldeyrou P et al.: Surgery for lung metastases from colorectal cancer: analysis of prognostic factors. J Clin Oncol 1996;14:2047-2053
11. Baron O, Amini M, Duveau D et al.: Surgical resection of pulmonary metastases from colorectal carcinoma. Five-year survival and main prognostic factors. Eur J Cardiothorac Surg 1996;10:347-51

## VYUŽITÍ VAKUOVÉ BIOPSIE (MAMOTOMIE) K ODBĚRŮM VZORKŮ Z MALIGNÍCH NÁDORŮ MIMO MLÉČNOU ŽLÁZU

### VACUUM BIOPSY APPLICATION IN MALIGN TUMORS OUTSIDE OF THE BREAST

BARTOŇKOVÁ H.<sup>1</sup>, HANÁK L.<sup>2</sup>, ŽALOUŠÍK J.<sup>3</sup>, SCHNEIDEROVÁ M.<sup>1</sup>, STANDARA M.<sup>1</sup>, KOSTEČKA A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, RADIOLOGICKÉ ODDĚLENÍ

<sup>2</sup> MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, ZÁKLADNA EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE

<sup>3</sup> MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO, ODD. ONKOLOGICKÉ CHIRURGIE

**Souhrn:** Vakuová biopsie je poměrně nová diagnostická metoda, která byla určena k diagnostice z mléčné žlázy. Umožňuje opakované vakuované (nasávané) odběry vzorků tkáně mléčné žlázy k jejímu kvalitnímu histologickému posouzení.

Naše sdělení se zabývá možností využití vakuové biopsie i v oblastech mimo mléčnou žlázu. Přístroj jsme použili k odběrům vícečetných vzorků z tumorů k jejich dalšímu zpracovávání a testování.

**Klíčová slova:** vakuová biopsie (mamotomie), vzorky z tumorů, chemorezistence.

**Summary:** Vacuum biopsy is a relatively new diagnostic method intended for diagnosis in the mammary gland. It enables repetitive breast tissue sampling for efficient histological diagnosis.

Our paper deals with potential benefits of vacuum biopsy in applications outside of the breast. The device has been used for extraction of multiple tumor specimens for further processing and tests.

**Key Words:** vacuum biopsy (mamotome), tumor samples, chemoresistance.

#### Úvod

Vakuová biopsie (mamotomie) je relativně nová bioptická metoda. Byla vyvinuta pro intervenční odběrové výkony v ženské prsní žláze.

Proti klasickým bioptickým metodám (core-cut biopsie) má několik odlišností, které poskytují nové možnosti a výhody metody. Základním rozdílem je použití podtlaku (vakua), které „nasaje“ tkáň do výřezu jehly před odběrem, teprve potom dojde k automatickému odřezání tkáně mamotomickými nožem. I při pevně fixované pozici jehly (MG nebo MR navádění) je tak možné nejen odebrat vzorek větší, ale odebrat tkáň i z větší vzdálenosti než jen z bezprostřední blízkosti hrotu jehly.

Vakuová biopsie využívá jehel 14G, 11G a 8G. Nejen větší kalibr, ale i speciální tvar jehel umožňuje odběr většího vzorku, než při klasické core-cut biopsii. Objem mamotomického vzorku z jehly 14G je o 10 % větší než u klasické core biptické jehly 14G, při velikosti vakuové jehly 11G je dokonce 8x větší než z konvenční biopsie o velikosti jehly 14 G. Standardně se využívají mamotomické jehly středního rozměru, tedy 11G, zatímco u klasické core-cut biopsie jsou standardní 14 a 16 G jehly.

Výhodou proti klasické biopsii je automatické vysunutí vzorku po odběru vnitřkem jehly ven k odebrání - jehla zůstává stále zavedena v místě odběru. Odběrový výřez jehly lze natáčet v rozsahu 360 stupňů do libovolné (požadované) pozice. Při jediném zavedení jehly tak lze odebrat libovolný počet vzorků. Tkáň v oblasti punkčního kanálu tak není traumatizována opakovanými inzercemi jehly do místa odběru - na rozdíl od core-

cut biopsie, kde po každém odběru vzorku musí jehla ven i se vzorkem a k novému odběru musí být znovu zavedena.

Při absolutní větší velikosti jednoho vzorku a možnosti odebrat několika násobně větší počet vzorků tak získáme výrazně větší množství tkáně k histologickému zpracování (klasická core-cut biopsie 3 - 6 vzorků, vakuová biopsie 6 - 25 i více vzorků).

Vakuová biopsie při tom zůstává miniinvasivní odběrovou technikou prováděnou v lokální anestezii. Místo odběru lze navádět pod ultrazvukovou (UZ), mamografickou (MG), MR (magnetická rezonance) i CT kontrolou (komputerová tomografie).

Pro výkony v mléčné žláze se nejčastěji používá navádění pod MG, přesněji stereotaktickou (STX) kontrolou nebo UZ cílení. Metoda STX vyžaduje pevné umístění mamotomické jehly do držáku a počítačově zpracovávané navádění do místa odběru. Výhodou UZ navádění je možnost „hand held“ techniky: vyšetřující drží mamotomickou jehlu v ruce a sám zavádí jehlu do místa zájmu, které si zobrazuje ultrazvukovou sondou. Jak bylo zmíněno výše, vakuová biopsie byla vyvinuta a je používána u nás i ve světě pro intervenční odběrové výkony v prsní žláze (proto druhý název mamotomie). Dostupné zdroje neuvádí použití v jiné oblasti.

Možnost získat výrazně větší objem tkáně přinesla myšlenku využít tuto metodu k odběrům tkáně i v jiných lokalizacích. Konkrétně nádorové tkáně z primárně inoperabilních maligních tumorů k testování chemorezistence, fenotypizaci, případně k dalším in vitro prováděným testováním. Použití mini-

invazivní odběrové metody v lokální anestezii znamená menší zatížení a lepší snášenlivost pro pacienta a eliminaci komplikací spojených s chirurgickým operačním odběrem. Získání výrazně většího množství tkáně než při obvyklém perkutánním biotickém výkonu pak dává předpoklad dostatečné koncentrace maligních nádorových buněk ve vzorcích, které jsou určeny pro testování.

### Materiál a metodika

Pro provedení cílených odběrů z nádorů jsme zvolili standardní, středně velkou mamotomickou jehlu 11G a zavedení pod palpační (u povrchověji uložených nádorů) nebo UZ kontrolou (u hlouběji uložených tumorů).

Výkony jsme si rozdělili na dvě skupiny a stanovili si počet vzorků, které budeme odebírat :

a) odběry in vitro – u prvních výkonů standardně odběry do 10 vzorků, později standardně odběry od 16 do 20 vzorků z operačního resektátu

b) odběry in vivo – pokud možno odběr více než 10 vzorků, maximálně 20 vzorků z Tu pacienta v lokální anestezii, eventuálně při kombinaci algosedace a lokální anestezie pacienta Na počátku jsme zkoušeli odběry z resektátů tumorů, abychom si ověřili :

- možnosti polohování jehly k zachování vakua
- kvalitu odběrů (tj. dostatečnou velikost a dostatečný počet biotických vzorků)
- získali případně další informace k odběrům in vivo.

Biotické vzorky byly ihned po odběru z tumoru umístěny do speciálního roztoku a do 0,5 hodiny dopraveny pracovníkům na základnu experimentální onkologie, která je součástí MOÚ. Pro odběry in vivo jsme si stanovili další podmínky:

- nejmenší rozměry tumoru, který lze bezpečně biotipovat za použití mamotomu, jsme stanovili na 5cm v nejkratším průmětu
- solidnost tkáně - určena z hodnoty měřené denzity Tu při CT vyšetření - alespoň 50% (vyloučeny tumory, jejichž nekrotická část byla vyšší než 50% objemu tumoru)

### Výsledky

Během druhé poloviny roku 2004 a první poloviny roku 2005 bylo provedeno celkem 20 výkonů vakuové biopsie pro testování chemoterapeutik. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce (tab. 1).

Z přehledu je zřejmé, že vakuově odebírané vzorky tumorů

Tabulka č. 1

pacient	rok nar.	typ odběru	počet odběrů	datum odběru	Dg.	nasazeno	výsledek
LM	1938	in vitro	8 + 16 odběrů	24.5.2004	C49	DOX, DDP	rezistence na vše
HP	1986	ex vivo	12 odběrů	7.7.2004	C80	nenasazeno - malý počet buněk	
ŠJ	1981	in vitro	16 odběrů	22.7.2004	C49	nenasazeno - malý počet buněk	
PJ	1952	in vitro	16 odběrů	2.8.2004	C49	nenasazeno - malý počet buněk	
HS	1956	ex vivo	13 odběrů	30.11.2004	C64	nenasazeno - malý počet buněk	
PZ	1931	in vitro	16 odběrů	15.12.2004	C49	nenasazeno - malý počet buněk	
SM	1922	in vitro	20 odběrů	5.4.2005	C43	nenasazeno - malý počet buněk	
OL	1919	in vitro	10 odběrů	6.4.2005	C43	DTIC, DDP, BCNU	rezistence na vše
ND	1947	in vitro	10 odběrů	8.4.2005	C18	5-FU,OXA,IRI,TOM,DDP	buňky nepřežily dobu kultivace
HE	1939	in vitro	20 odběrů	13.4.2005	C48,C56	DOX	rezistence na vše
SM	1935	ex vivo	10 odběrů	15.4.2005	C50	nenasazeno - malý počet buněk	
PZ	1931	in vitro	16 odběrů	20.4.2005	C49	nenasazeno - malý počet buněk	
VJ	1950	in vitro	20 odběrů	28.4.2005	C50	DOX,TAX,5-FU,TXR,NVB, GMC,DDP,CBDCA	NAV - citl.
KM	1951	in vitro	20 odběrů	25.4.2005	C18	nenasazeno - malý počet buněk	
KT	1971	in vitro	18 odběrů	30.5.2005	C49	nenasazeno - malý počet buněk	
MM	1958	ex vivo	20 odběrů	31.5.2005	C43	DTIC	rezistence na vše
SM	1941	ex vivo	pokus - komplikace	14.6.2005		nenasazeno - bez vzorku	

většinou nestačí na pokrytí testování cytostatiky. Záleží samozřejmě především na velikosti tumoru (recidivy tumoru) procentu regresivních změn a hustotě maligních buněk v něm (celularita). Ta bývá v různých částech tumoru nestejná – zejména u sarkomů. Ani počty kolem 20 vakuovaných odběrů většinou nepřinesly dostatečný počet maligních buněk k testování.

Pro srovnání uvádíme v následující tabulce přehled testovaných vzorků tumorů z resektátů peroperačně odebíraných v období let 2001-2003 (tab. 2)

Je zřejmé, že výsledky z chirurgických resekcí jsou mnohem povzbudivější, neboť je zde podstatně větší šance na dostatek odebraného materiálu (dostatek maligních buněk) k testování. Největší citlivost – v průměru takřka 30% - jsme zaznamenali při testování tumorů ovaria, prsu a kupodivu i melanomu.

### Diskuse

Jelikož účinek cytostatik není přísně specifický pro nádorové buňky, ale působí více či méně toxicky i na normální buňky, jsou vedlejší účinky řady cytostatik limitujícím faktorem chemoterapie a ve svých důsledcích mohou vést i k závažnému poškození nemocného. Současná onkologická chemoterapie je založena převážně na empirických zkušenostech a generalizaci výsledků rozsáhlých klinických studií, aniž by respektovala individualitu nemocného a biologickou odlišnost každého nádoru. Je více než pravděpodobné, že respektování faktorů individuality a možnosti jejich posouzení může do značné míry optimalizovat výběr protinádorových farmak, jejich dávky, což ve svých důsledcích příznivě ovlivní terapeutický efekt a sníží riziko nežádoucích účinků. Jedním z přístupů individualizované chemoterapie je výběr cytostatik s maximální účinností pro daný nádor a současně eliminace těch, na něž je nádor vysoce rezistentní, na základě hodnocení chemosensitivit/chemorezistence nádorové populace v in vitro podmínkách.

Nejrozšířenější metodou testování in vitro chemosensitivit/chemorezistence je tetrazoliový test (MTT test) popsáný v roce 1983 (1). Rozlišení živých a mrtvých buněk je založeno na schopnosti živých buněk redukovat žlutou, rozpustnou tetrazoliovou sůl MTT (3-4,5-dimethylazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium) mitochondriálním enzymem sukcinát-dehydrogenázou na nerozpustný modrý formazan (2). Formazan je

**Citlivost/rezistence cytostatik v MTT testu  
02/2003 – 01/2005**

<b>Ca kolorektál.</b>				
	cytostatikum	počet testovaných	citlivost celkem	citlivost (%)
1	5-fluorouracil	78	14	18
2	oxaliplatin	54	5	9,3
3	irinotekan	58	12	20,7
4	tomudex	54	5	9,3
5	cisplatina	45	11	24,5
<b>Grawitz. TU ledviny</b>				
	cytostatikum	celkem vyšetřeno	citlivost ocelkem	citlivost (%)
1	5-fluorouracil	29	7	24,1
2	gemcitabin	27	4	14,8
3	vinblastin	24	6	25
4	karboplatina	23	1	4,3
<b>Ca ovaria</b>				
	cytostatikum	celkem vyšetřeno	citlivost celkem	citlivost (%)
1	paklitaxel	69	17	24,6
2	cisplatina	54	19	35,2
3	karboplatina	47	13	27,7
4	topotekan	47	27	57,4
5	gemcitabin	44	5	11,4
6	doxorubicin	45	8	17,7
<b>Melanom</b>				
	cytostatikum	celkem vyšetřeno	citlivost celkem	citlivost (%)
1	dakarbazin	30	8	26,7
2	cisplatina	28	12	42,9
3	karmustin	23	3	13
4	bleomycin	21	4	19
5	vinblastin	19	7	36,8
6	melfalan	15	3	20
7	vinkristin	10	5	50
<b>Ca prsu</b>				
	cytostatikum	celkem vyšetřeno	citlivost celkem	citlivost (%)
1	doxorubicin	35	10	28,6
2	paklitaxel	23	6	26,1
3	5-fluorouracil	21	6	28,6
4	docetaxel	15	3	20
5	navelbin	17	3	17,6
6	gemcitabin	8	1	12,5
7	cisplatina	11	4	36,4
8	karboplatina	12	4	33,3

**Tabulka č. 2**

pak rozpuštěn dimethyl sulfoxidem (DMSO), případně jiným organickým rozpouštědlem. Absorbance barevného produktu je měřena fotometricky při 570 nm a výsledky jsou srovnávány s hodnotami identických kontrolních kultur neovlivněných cytostatiky.

Metoda byla ve světě použita pro stanovení citlivosti nádorů žaludku, střeva, sleziny, prsu, jícnu a lymfomů na panel cytostatik MMC, 5-FU, ADM a DDP (3-5). Studie uvádějí 90% hodnotitelných nádorů, u nichž in vitro výsledky byly podkladem pro výběr cytostatik pro daného nemocného. Korelace s klinickým efektem byla okolo 83-86%. Za hlavní přednost testu in vitro je považována možnost poměrně přesně detekovat stupeň rezistence na některou ze zkoušených látek a následně vyřazení neúčinných terapeutik z léčebného protokolu. Podobně příznivé hodnocení MTT testu pro volbu účinných cytostatik uvádí další studie u kolorektálních karcinomů (6).

Na základě dosud publikovaných prací lze charakterizovat MTT test jako jednoduchou, rychlou a relativně standardní

metodiku pro predikci chemorezistence a v jistém přiblížení chemosenzitivitu nádorů v podmínkách in vitro. Jako každá metodika má však i MTT test některé limity jejichž příkladem je nemožnost rozlišit cytostatický od cytotoxického účinku a riziko ovlivnění výsledku přítomností vysokého procenta normálních buněk v kultuře. Problémem, který může ovlivnit spolehlivost výsledků je schopnost některých chemoterapeutik redukovat MTT. Tento faktor však může být eliminován vyšetřením kontrolním testem MTT bez buněk.

Test chemorezistence v MOÚ Brno V Laboratoři chemorezistence MOÚ Brno byl cytotoxický test zaváděn a optimalizován v průběhu roku 2003 za účelem klinického využití. Plně rutinní podoby nabyl od počátku letošního roku, kdy je hrazen ze zdravotního pojištění a kdy jsou vzorky zpětně verifikovány pomocí cytospinového barvení. Namísto klasického MTT je však používána reagentie WST-1 (Roche), kdy tento načervenalý solubilní (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disulfonát je redukován na rozpustný formazan (temně červenohnědý). Reakce probíhá opět na mitochondriální membráně živých buněk. Zabarvení formazanu se vyhodnocuje spektrofotometricky při vlnové délce 450 nm. Hodnota absorbance roztoku odpovídá množství živých buněk (čím tmavší barva a tedy vyšší absorbance, tím vyšší procento živých buněk).

Použití WST-1 metodu zjednodušuje a urychluje, celý reakční mechanismus probíhá pouze ve vodném prostředí (7). Cytotoxickým testem je vyšetřována široká škála solidních tumorů, zejména kolorekta, ovarií, mammy, ledvin, maligního melanomu a samozřejmě také sarkomu. Jeho

výskyt v porovnání s jinými není častý, ze 316 vzorků pacientů vyšetřovaných od počátku ledna do konce listopadu 2004 na sarkomy připadlo jen 15 z nich (4,7 %). Výťažnost buněk pro MTT test, kdy je potřeba aspoň 0,5 – 1 milionu buněk na testování rezistence vůči jednomu cytostatiku, byla poměrně nízká, test mohl být proveden jen u 8 vzorků (53,3 % oproti 85,4% pro všechny typy nádorů). V průměru byla nasazena 2 cytostatika ze sedmi, které testujeme dle terapeutických protokolů v tomto pořadí důležitosti:

- 1) doxorubicin (Adriamycin)
- 2) cisplatina
- 3) vepesid
- 4) docetaxel (Taxotere)
- 5) vinkristin
- 6) dakarbazin
- 7) vinblastin

Z našich výsledků je zřejmé, že vakuové odběry ve většině případů nestačí pokrýt potřebu počtu maligních buněk k testování chemorezistence. Odběry jsou přitom limitovány: velikostí



tumoru u resekátu, velikostí a strukturou tumoru, kdy odběr byl proveden ex vivo, dále jsou limitovány celularitou (t.j. hustotou maligních buněk v odebraném vzorku) a možnými komplikacemi (krvácení) u odběrů in vivo.

Daleko nejpodstatnější je však fakt, že možnost využití u sarkomů, kde jsme předpokládali největší zisk, se nepotvrdilo, neboť častou lipomatózou, myxomatózou či jinou měkkou složkou tumoru lze z tumorózní infiltrace za vakua nasávat obtížněji, neboť se často rozpadá na drť. Kromě toho velké sarkomy v sobě často obsahují i arey zcela benigní tkáňové složky, což nelze použitou zobrazovací metodou v tumoru rozlišit a odebrané vzorky pak obsahují jak buňky maligní tak k testování bezcenné buňky benigní.

Z práce vyplynula i další zjištění, např. to, že počet odebraných vzorků by musel přesáhnout v průměru 20 bioptických vakuových odběrů vakuovou jehlou 11G, aby byla šance na dostatek buněk k testování a to není zdaleka tak jednoduché, jak to na první pohled vypadá: kromě velikosti tumoru tu hraje roli i nutnost vytvoření vakua v Tu tkáni.

Pro reprezentativnější hodnocení nebyl k dispozici větší soubor, ale i na základě výše uvedených výsledků se perkutánní bioptický vakuovaný odběr spíše nejeví vhodný k vyšetřování chemorezistence pomocí MTT cytotoxického testu. Podstatně výtěžnější bylo testování při klasickém chirurgickém odběru většího vzorku tkáně – to však je již náplní jiného sdělení.

### Závěr

Vakuová biopsie zůstává metodou, jejímž primárním ziskem je rozšíření diagnostiky mléčné žlázy, kde má dnes své již standardní místo. Při použití přístroje k odběrům v ostatních topikách má velmi limitované použití, dané zejména velikostí jehly a tím možností bezpečného zavedení jen do větších nádorových infiltrací. Limitací je i použití u více vaskularizovaných tumorů, kdy větší krvácení z bioptovaného tumoru lze perkutánně obtížněji řešit.

**Sdělení je publikováno za podpory grantu IGA č. 8017-2/2004 : Využití vakuové biopsie k testování chemorezistence maligních nádorů**

### Literatura :

1. Bitmanová H, Skovajsová M: Roční zkušenosti s užíváním mamotomie s vakuovou asistencí za kontroly ultrazvukového zobrazení. *česká radiologie*, roč. 58, č.4, srpen/2004, str.200-202
2. Berridge MV et al.: The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays That Use Tetrazolium Salts, *Biochemica* 4: 15-19, 1996
3. Cox D, Bradley S, England D: The significance of mamotome core biopsy specimens without radiographically identifiable microcalcification and their influence on surgical management – a retrospective review with histological correlation. *Breast*, 2005, Aug 1
4. Denizot F and Lang R: Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability, *J Immunol Methods*. 89: 271-7, 1986.
5. Vargas HI, Agbunag RV et al. : State of srt of minimally invasive breast biopsy : principles and practice. *Breast Cancer*, 2000, 7(4), 370-9
6. Fischmann A, Pietsch-Breitfeld B, Muller-Schimpfle M et al.: Radiologic-histopathologic correlation of microcalcifications from 11g vacuum biopsy: analysis of 3196 core biopsies. *Rofo* 2004 Apr, 176(4): 538-43
7. Furukawa T, Kubota T, Suto A et al.: Clinical usefulness of chemosensitivity testing using the MTT assay, *J Surg Oncol*. 48: 188-93, 1991.
8. Heywang-Kobrunner SH, Schreer I, Decker T, Bocker W : Interdisciplinary consensus on the use and technique of vacuum-assisted stereotactic breast biopsy. *Eur J Radiol*. 2003 Sep, 47(3):232-6.

9. Hoorntje LE, Peeters PH, Mali WP, Borel Rinkes IH.: Vacuum-assisted breast biopsy: a critical review. *Eur J Cancer*. 2003 Aug, 39(12):1676-83.
10. Iwuagwu O, Drew P: Vacuum-assisted biopsy device-diagnostic and therapeutic applications in breast surgery. *Breast* 2004, Dec.13 (6): 483-7.
11. Kettritz U, Rotter K, Schreer I, Muraier M, Schulz-Wendtland R, Peter D Heywang-Kobrunner S.H.: Stereotactic vacuum-assisted breast biopsy in 2 874 pa patients:a ulticenter study. *Cancer*. 2004 Jan 15,100 (2):245-51.
12. Kettritz U, Morack G, Decker T: Stereotactic vacuum-assisted breast biopsies in 500 women with microcalcifications : radiological and pathological correlations. *Eur J Radiol*. 2005, Aug,55 (2),270-6
13. Mosmann T: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J Immunol Methods*. 65: 55-63, 1983.
14. Saikawa Y, Kubota T, Furukawa T et al.: Single-cell suspension assay with an MTT end point is useful for evaluating the optimal adjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer, *Jpn J Cancer Res*. 85: 762-5, 1994.
15. Suto A, Kubota T, Shimoyama Y, Ishibiki K and Abe O: MTT assay with reference to the clinical effect of chemotherapy, *J Surg Oncol*. 42: 28-32, 1989.
16. Yamaguchi H, Tanimura H, Nakamori M et al.: Clinical evaluation of chemosensitivity testing for patients with colorectal cancer using MTT assay, *Dis Colon Rectum*. 39: 416-22, 1996.

# CHIRURGICKÁ LÉČBA PLICNÍCH MALIGNIT.

## SURGICAL TREATMENT OF LUNG MALIGNANCIES.

HORVÁTH T.

CHIRURGICKÁ KLINIKA FN BRNO

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

### A. Poskytování péče

#### Instituce

Příslušnou péči poskytuje akreditované chirurgické pracoviště krajské, fakultní, nebo jiné nemocnice, která zaměstnává chirurga s dokončením vzděláním v oboru hrudní chirurgie, jehož personálním, organizačním a technickým zázemím jsou standardní lůžkové chirurgické oddělení a jednotka intenzivní péče, operační sály a anesteziologicko-resuscitační oddělení. Doporučený počet zákroků je nejméně 50 ročně.

### B. Definice onemocnění

#### Epidemiologie

Karcinom plic je v České republice na prvním místě mezi zhoubnými nádory u mužů a na prvním místě v příčinách úmrtí na zhoubné nádory. Incidence u mužů v r. 2000 představovala 92 / 100 000 obyvatel, u žen 26 / 100 000 obyvatel. Výskyt rakoviny plic u českých žen dramaticky stoupá. Mortalita onemocnění u obou pohlaví se blíží incidenci. Podílí se na tom charakter nemoci a pozdní diagnóza. S pozdě rozpoznanou nemocí přichází 90% českých pacientů. Prevence je nedostatečná.

#### Patofyziologie onemocnění

Karcinom plic má komplexní multifaktoriální etiologii: Kouření cigaret (i pasivní), znečištění ovzduší, nevhodné složení potravy, zánětlivá a fibrotická plicní onemocnění, profesionální expozice kancerogenním vlivům, emise radioaktivních látek z přirozených zdrojů, rodinné a genetické vlivy. Plicní nádor se vyvíjí řadou po sobě následujících molekulárně genetických alterací. Klasifikace WHO definuje tři separátní léze považované za preinvasivní stadium onemocnění. Jsou to: 1. dlaždicobuněčná dysplazie a carcinoma in situ 2. atypická adenomatózní hyperplazie 3. difuzní idiopatická hyperplazie neuroendokrinních buněk.

#### Klasifikace onemocnění

Karcinom plic se vyskytuje v řadě histologických typů v různém stupni diferenciaci. V zásadě se dělí na nemalobuněčný (NSCLC) představující cca  $\frac{3}{4}$  celkového množství plicních malignit a malobuněčný (SCLC).

#### NEMALOBUNĚČNÝ PLICNÍ KARCINOM

1. Dlaždicobuněčný (skvamózní, epidermoidní): papilární, z jasných buněk (Clear cell), z malých buněk, bazaloidní
2. Adenokarcinom acinární, papilární, bronchoalveolární, nehlenotvorný (Clara buňky, pneumocyty II typu), hlenotvorný (z pohárkových buněk), smíšený mucinózní a nemucinózní, solidní hlenotvorný adenokarcinom, adenokarcinom se smíšenými podtypy: dobře diferencovaný fetální, hlenotvorný (koloidní), hlenotvorný cystadenokarcinom, z jasných buněk a adenokarcinom Signetova prstence.
3. Velkobuněčný karcinom neuroendokrinní, kombinovaný

velkobuněčný neuroendokrinní, bazaloidní, karcinom podobný lymfoepiteliomu, z jasných buněk, velkobuněčný a rhabdoidním fenotypem

#### 4. Adenoskvamózní karcinom

5. Karcinomy s pleiomorfními, sarkomatoidními nebo sarkomatozními elementy, s větvenovitými nebo obrovskými buňkami, pleiomorfní, větvenobuněčný, obrovskobuněčný, karcinosarkom, plicní blastom.

#### 6. Karcinoidní nádory

Typický, atypický

#### 7. Karcinomy typu slinných žláz

mukoepidermoidní, adenoidně cystický, jiné.

#### 8. Neklasifikované nádory

#### Klinické stadium onemocnění

Na základě TNM klasifikace UICC, 6. vydání 2002, česká verze 2004, se nádorové onemocnění člení do příslušných klinických stadií. Optimální léčebný postup závisí na jejich přesném stanovení.

Okultní karcinom	Tx	N0	M0
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I A	T1	N0	M0
Stadium I B	T2	N0	M0
Stadium II A	T1	N1	M0
Stadium II B	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium III A	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1,2	M0
Stadium III B	jakékoliv T	N3	M0
	T4	jakékoliv N	M0
Stadium IV	jakékoliv T	jakékoliv N	M1

#### MALOBUNĚČNÝ PLICNÍ KARCINOM

Od skupiny nemalobuněčných plicních nádorů se liší biologickým chováním – jeho charakteristickou vlastností je rychlý růst s tendencí zakládat vzdálené metastázy, což je důvodem omezených možností chirurgické léčby. Onemocnění je obvykle citlivé na chemoterapii a radioterapii. Doba odpovědi na léčbu bývá často značně omezená.

#### C. Proces péče

##### 1. Indikace k chirurgické léčbě

Resekce plic je obecně doporučena ve všech případech I a II stadia nemoci, v určitých případech III.A stadia a ve specifických konstelacích III.B a IV. stadia onemocnění.

##### 2. Kontraindikace chirurgické léčby

Špatný celkový stav nemocného, závažná přidružená onemocnění plic, (FEV1 pod 40% příslušných hodnot), kardio-

vaskulárního aparátu, nebo jiných orgánových systémů, generalizace onemocnění.

Věk nad sedmdesát let není kontraindikací chirurgického řešení nádorů plic. Intervenci je potřeba zvlášť pečlivě zvážit.

### 3. Předoperační vyšetření

#### 3.1. Základní stagingová vyšetření:

- anamnéza, fyzikální vyšetření.
- sumační snímek hrudníku
- CT hrudníku
- bronchoskopie (BSC)
- histologické anebo cytologické vyšetření tkáně nádoru (per BSC, CT kontrolovanou transtorakální biopsií, VATS biopsií, mediastinoskopicky.
- USG nebo CT břicha
- laboratorní vyšetření : krevní obraz, krevní skupina, koagulace, biochemický screening, moč a sediment,
- sérové nádorové znaky (tumor markery) CEA, CYFRA 21.1, SCC, Ca72\_4, NSE, CgA.

#### 3.2. Doplnující vyšetření :

Cílené RTG vyšetření kostry a scintigrafie skeletu při suspekci na MTS do skeletu, CT nebo MRI mozku v ddg nádorového postižení CNS, celotělový PET scan k vyloučení klinicky němého metastazování.

Selhává-li pečlivě pátrání po ložisku radiograficky okultního plicního karcinomu klasickými metodami uplatní se v detekci autofluorescenční bronchoskopie .

#### 3.3. Interní a pneumologické vyšetření:

- EKG
- spirometrie
- fakultativní vyšetření: krevní plyny(Astrup), ECHO srdce, scintigrafie plic, mikrobiologie sputa, bronchodilatační, bronchoprovokační test
- klinické vyšetření a zhodnocení nálezů s vyjádřením k míře operačního rizika z interního a pneumologického hlediska

### 4. Příprava k operaci

- edukační pohovor s lékařem
- pacient zpravidla podepíše informovaný souhlas s operací
- zanechání kouření.
- dechová cvičení, kondiční rehabilitace.
- krevní rezerva 2 TU EM k resekci plic.
- premedikace
- předoperační příprava obecná – glycerin supp, celková koupel, vyholení operačního pole, bandáž dolních končetin.
- předoperační příprava speciální – příslušná případným přidruženým onemocněním.
- jednorazové (one shot) podání antibiotika 1 h před zahájením operace

### 5. Radikální operační výkony

#### 5.1. Všeobecná pravidla

Přístup anterolaterální, posterolaterální, axilární torakotomií, nebo sternotomií se používají podle lokalizace nálezu, chirurgického záměru a zvyklostí pracoviště. Rovněž tak uzavěr torakotomie jednotlivými stehy nebo pokračovacím stehem. Jemná operační technika a včasné ligace vaskulatury omezují nebezpečí hematogenního peroperačního rozsevu nádoru. Setrná operační technika přispívá zachování intaktní pseudokapsuly tumoru a brání potřísnění pleurální dutiny nádorovými buňkami. Pokud potřísnění nastane, vyplachujeme po vynětí tumoru z operačního pole polohrudník opakovaně hojným množstvím fyziologického roztoku. Nastane-li nejistota o dostatečném bezpečnostním lemu zdravé tkáně v resekované krajině, je indikováno peroperační histologické (kryopreparát) nebo cytologické vyšetření resekčních okrajů. Rutinně se provádí mikrobiologické vyšetření - výtěr z prořátého bronchu. Dáváme přednost podání autotransfuze před převodem

dárčovské krve. Mediastinální lymfadenektomie (MLA) zvyšuje dlouhodobé přežívání pacientů. Je-li indikován menší resekční výkon preferujeme segmentektomií před klínovitou resekci, je-li možná. K drenáži polohrudníku po parciálních resekcích je dle zvyklostí chirurga (nebo pracoviště) používáno jednoho nebo dvou drenů dostatečného kalibru. Je-li použit jeden drén musí polohrudník drénovat v dostatečném rozsahu jak proximálně, tak distálně. Lokální recidiva bez vzdálených projevů nemoci je indikací k reresekci.

K operacím pro SCLC: Pacienti s limitovanou periferní lézí T1 a T2 bez uzlinového postižení jsou indikováni k chirurgickému řešení, plicní resekci. Tato však není kurabilní. Adjuvantní systémová léčba je indikována u všech pacientů s resekovaným tumorem. Neoadjuvance zlepšení výsledků nevykazuje.

#### 5.2. Speciální pravidla

##### 5.2.1. Tx – Okultní karcinom plic

Po úspěšné detekci je dle lokalizace nálezu metodou volby plicní resekce: segmentektomie, lobektomie, anebo pneumonektomie, je-li z funkčního hlediska únosná. Fotodynamická léčba je druhou kurativní metodou volby. Její výhodou je šetření plicní tkáně.

##### 5.2.2. Stadium I (T1N0, T2N0)

Chirurgická resekce je kurativní léčbou. Zlatým standardem je lobektomie doplněná MLA ( teprve kompletní histologické vyšetření mizních uzlin definitivně potvrdí pN0 nemoc). Bronchoplastické operace typu „sleeve resection“ jsou indikovány u protruzních tumorů vyčnívajících z lobárního ústí do hlavního bronchu, zvláště u pacientů s omezenou ventilací. Segmentektomie doplněná mediastinální lymfadenektomií je indikována u periferních tumorů pacientů s omezenou ventilací. Klínovitou resekci lze použít v případech kontraindikací rozsáhlejšího operačního výkonu. Prostá klasická nebo videooasistovaná klínovitá resekce je indikována rovněž u periferních časných adenokarcinomů, typ A Noguchi (lokalizovaný bronchioloalveolární adenokarcinom – LBAC s růstem buněk alveolární výstelky s relativně chudým stromatem a typ B Noguchi (LBAC s ohnisky strukturálních kolapsů alveolů a ložiskovou fibrózou). Po resekci plic pro karcinom St. I není doporučena žádná adjuvance, pouze pečlivé sledování.

##### 5.2.3. Stadium II (T1-2N1, T3N0)

Procedurou volby je podle rozsahu onemocnění lobektomie doplněná event. bronchoplastikou a MLA, anebo pneumonektomie, nebo rozšířená pneumonektomie s MLA. Lokálně pokročilé nálezy řešíme analogicky příslušným zákrokem na plicí doplněným o resekci postižené oblasti hrudní stěny, bránice, perikardu nebo mediastinální pleury do zdravé tkáně. U Pancoastova tumoru je indikována předoperační radioterapie s následnou plicní resekci.

##### 5.2.4. Stadium III.A (T1N2, T2N2, T3N1-2)

Nemocní s předoperačně stanoveným N2 postižením jsou indikováni k neoadjuvantní chemoterapii s přešetřením po několika cyklech (3-4) léčby. Je-li odezva na léčbu příznivá a jsou-li zároveň všechny ostatní předpoklady pro úspěšné chirurgické řešení splněny, je indikována resekce plic, častěji realizovatelná jako pneumonektomie, nebo rozšířená pneumonektomie, než jako lobektomie. Výkony doplňuje MLA, jsou technicky náročné. Po operaci pokračuje systémová protinádorová chemoterapie doplněná o léčbu zářením. Pacienti s ipsilaterálním peroperačně anebo až postoperačně diagnostikovaným N2 onemocněním jsou po operaci indikováni k adjuvantní radioterapii a chemoterapii.

##### 5.2.5. Stadium III.B (speciálně T4N1-2)

Další samostatný nádorový uzel ve stejném laloku (synchronní duplicita) s postižením uzlin N1-2 představuje jedinou indikaci k plicní resekci v tomto stadiu onemocnění. Jinak je nemoc ve stadiu III.B biologicky zpravidla inoperabilní.

## 5.2.6. Stadium IV (M1)

### 5.2.6.1. Radikální řešení

a/ Solitární metastáza plicní (druhé ložisko) v plicí  
Jedna ze dvou lézí ve stejném laloku může být rovněž metastatickým depozitem druhého. Jsou-li odstranitelné, je zde indikace k příslušné plicní resekci s MLA.

b/ Vzdálené metastázy do jiných orgánů

**Solitární metastazování (MTS) do mozku, nadledviny, kosti, jater, kůže, nebo dalších orgánů:** jsou-li obě léze ( primární nádor i solitární MTS) kompletně resektabilní, je chirurgická léčba indikovaná, jsou-li její rizika nízká.

## 6. Paliativní výkony

a/ Maligní pleurální výpotek

### 6.1. Torakocentéza

Je diagnostický výkon. Jako léčebný zákrok používáme u nejtěžších stavů s očekávaným výrazně omezeným přežíváním.

#### 6.1.2. Klasická hrudní drenáž (1.spádová drenáž Bülow 2. aktivní sání)

Tlustý plastický drén Ch 24 a více zavádíme obvykle z axilárního přístupu na úrovni před konce 4. žebra, směřujeme jej dozadu. Jednorázová spádová evakuace pleurální efuze obvykle nemá přesáhnout 1000 ml, předchází se tím plicnímu edému z reexpanze parenchymu. Po pauze 30-60min následuje opět spádová frakcionovaná evakuace a 300 ml a 1 hod. Teprve po kompletní prvotní spádové evakuaci napojujeme drén na mírné (10-15cm H<sub>2</sub>O) aktivní sání.

Drenáž pokládáme za úspěšnou, dosáhne-li posléze množství aktivním sáním evakuovaného výpotku méně než 150 ml / 24 hodin dva po sobě následující dny. Není-li prostá evakuace výpotku úspěšná samostatně (méně než 20%) pokračujeme tak, že indikujeme pacienta k obliteraci pleurálního prostoru konzervativními metodami, jen zřídka k parietální pleurektomií - v řešení pleurální efuze je úspěšná v 100%, ale její perioperační morbidita kolísá kolem 25% větších komplikací a mortalita kolem 10%.

#### 6.1.3. Pleurodéza drénem

3.1. Procedura: 1/ úspěšná evakuace výpotku 2/ reexpanze plíce 3/výdej pod 150ml/24h na aktivním sání 4/ aplikace přípravku 5/ zaskřípnutí drénu na 3h 6/ aktivní sání 7/ při výdeji nad 150 ml fluidothoraxu /24h opakovat

#### 3.2. Používané přípravky:

3.2.1. Tetracyklin anebo doxycyklin (500-1000 mg) rozpuštěné v 100 ml fyziolog roztoku (FR) s 20 ml 1% mesocainu. POZOR! Pouze 15% případů reaguje na první podání, většina vyžaduje 3-4 aplikace. Opakovaná instilace přípravku je úspěšná zhruba u poloviny pacientů.

3.2.2. Bleomycin. Podání 60-120 U v 100 ml FR řeší zhruba 2/3 případů maligní pleurální efuze (MPE).

3.2.3. Talkáz. Instilace 5g talkové hmoty v 100 ml FR (talc slurry) je za předpokladu dobré reexpanze plíce a použití talku se správnou velikostí částic (nejméně 10  $\mu$ m) je metoda úspěšná v 90% . Nevzdat úsilí po prvním neúspěchu !

3.2.4. Corynebacterium parvum . Použití suspenze (1,5-3 ml U) sušené kultury v 100 ml FR lze uvažovat při neúspěchu předchozích metod ale ani CBP bez reexpanze plíce problém nevyřeší.

#### 6.1.4. VATS pleurodéza

VATS umožní zrušení případných kapes a adhezi v interpleurálním prostoru, čím je efekt plošné pudráže talkem potencován. Metoda je variantou volby u potřeby obliterace pleurální dutiny

#### 6.1.5. Permanentní drenáž hrudní

Tenký plastický pleuracan zavedený do pohrudniční dutiny punkční technikou, tunelizovaný a fixovaný ke kůži a napojený na sběrný plastický sáček s výpustí je alternativou paliace u neobliterovatelných kauz. Pleuracanem lze aplikovat bleomycin event. tetracyklin k přechodnému zmírnění produkce MPE.

#### 6.1.6. Pleuroabdominální shunt

Metoda má omezené speciální indikace.

## 6.2. Bronchiální obstrukce

Lobární nebo alární atelektáza jsou indikací k bronchoskopické rekanalizaci prosté(debridement), elektrokoagulační, případně léčbě laserem, anebo k fotodynamické léčbě.

## 6.3. Maligní perikardiální výpotek

Řešíme subxifoidální perikariocentézou, perkutánní perikariostomií (jíž lze opakovaně vpravit osrdečnickové dutiny s úmyslem skleroterapie tetracyklin nebo doxycyklin). Další možností chirurgické léčby je subxifoidální perikardiocentéza anebo fenestrace perikardu per VATS či z (mini) torakotomie, v indikovaných případech rovněž perikardektomie.

## 7. Pooperační péče

Pacient po resekci plic patří v prvních pooperačních dnech (2-3) na jednotku intenzivní péče, případně ARO dle závažnosti přidružených onemocnění. Na standardním chirurgickém oddělení pak stráví cca 3-4 dny (nebo přiměřeně více dnů podle klinické pooperační dynamiky, věku, a přidružených onemocnění, případně pooperačních komplikací) .

V zásadě platí, že dobře živý, kvalitně připravený, kompenzovaný, dostatečně poučený a pečlivě rehabilitovaný, ukázněný pacient se solidním zdravotnickým a sociálním zázemím po nekomplikované resekci plic bez pooperačních komplikací a bez přidružených nemocí je z chirurgie propuštěn podle své letory (a umění chirurga správně s ní nakládat) 7. až 10. pooperační den.

## 8. Pooperační komplikace

### Krvácení

Časné krvácení obvykle souvisí s operační technikou a kompromitací tkání vlastním nebo jiným onemocněním, případně s jeho předoperační léčbou. Pozdní krvácení bývá spojeno s recidivou nemoci nebo s infekcí.

### Dehiscence pahýlu bronchu

Časná dehiscence do 48h po operaci bývá v souvislosti s technikou operace případně je způsobena předoperační kompromitací tkáně, a to buď v souvztáznosti s léčbou anebo bez ní. Pozdní dehiscence, tři a více dnů po operaci, je nejčastěji spojena s infekcí.

### Dechová nedostatečnost

Navzdory šíři a hloubce dané problematiky obecně platí, že přístrojová ventilace a tracheostomie jsou indikovány ve chvíli, jakmile se začne o jejich indikaci uvažovat.

### Atelektáza

Klinicky a paraklinicky zřejmá atelektáza nebo dystelektáza parenchymu reziduální plíce je indikací k bronchoskopické intervenci, (nikoliv až pokles saturace O<sub>2</sub>).

### Infekce

#### Bronchopneumonie

Pečlivé klinické vizity, dokonalá rehabilitace s dostatečnou analgetizací spojeny se znalostí komunální hygienické situace předcházejí jak zbytečným infekčním komplikacím, tak zbytečnému terapeutickému podávání antibiotik. Je-li nástup bronchopneumonie nebo pleuritidy zřejmý, nebo trpí-li pacient přidruženým(i) onemocněním(i) vytvářejícím(i) předpoklady podání ATB zbytečně neodladujeme.

#### Hrudní empyém

Přichází častěji po komplikované pneumonektomii. Může komplikovat též lobektomii, nebo i menší výkon. Dehiscenci pahýlu doprovází téměř vždy.

## 9. Řešení komplikací

Profesionální zdatnost, zkušenosti, potřeba interdisciplinární souhry a osobní zainteresovanosti v linii hrudní chirurg, intenzivista, pneumolog, internista, rentgenolog - to je kvalitní pooperační péče a základní předpoklad úspěšného předcházení i řešení pooperačních komplikací.

### Krvácení

Časné krvácení je indikací k okamžité reoperaci. Pozdní krvácení bývá indikováno k paliativnímu řešení: chirurgic-



kou tamponádou, broncho-skopicky laserem, případně elektrokoagulací.

#### Dehiscence pahýlu bronchu

Časná dehiscence je absolutní indikace k akutní reoperaci. Pozdní dehiscenci tj. tu, která přichází tři a více dnů po operaci indikujeme reoperaci pro dehiscenci pahýlu zdrženlivě, bývá nejčastěji spojena s infekcí. Polohrudník drůujeme, podáváme antibiotika dle citlivosti, provádíme opatrné laváže šetrnými antiseptickými roztoky (ředěná betadine 1:10 anebo jednopromilový persteril) Při parciální dehiscenci lze zkusit její poleptání 20% roztokem argenitnitrátu (AgNO<sub>3</sub>) i opakovaně.

#### Dechová nedostatečnost

Navzdory šíři a hloubce dané problematiky obecně platí, že přístrojová ventilace a tracheostomie jsou indikovány ve chvíli, jakmile se začne o jejich indikaci uvažovat.

#### Atelektáza

Klinicky a paraklinicky zřejmá atelektáza nebo dystelektáza parenchymu reziduální plíce je indikací k bronchoskopické intervenci, (nikoliv pokles saturace O<sub>2</sub>).

#### Infekce

Pečlivé klinické vizity, dokonalá rehabilitace s dostatečnou analgetizací spojeny se znalostí komunální hygienické situace předcházejí jak zbytečným infekčním komplikacím, tak zbytečnému terapeutickému podávání antibiotik. Je-li nástup bronchopneumonie nebo pleuritidy zřejmý, nebo trpí-li pacient přidruženým(i) onemocněním(i) vytvářejícím(i) předpoklady podání ATB zbytečně neoddlujeme.

#### Hrudní empyém

Hrudní drenáž s aktivním sáním je zde podstatně důležitá, jinak hrozí nejenom rozpad pahýlu (není-li on příčinou infekce) ale i ohrožení pacienta na životě.

Srdeční infarkt, cévní mozková příhoda, tromboflebitidy, tromboembolická nemoc, infekce močových cest, dekompenzaci aterosklerózy nebo diabetes mellitus, pooperační neklid a zmatenost, appendicitis... a další řešíme dle obecných zásad intenzivní a standardní chirurgické péče.

### D. Výstupní kritéria péče

#### 1. Výsledky léčby

Perioperační morbidita

nepřesahuje v dobrých rukách 10% větších komplikací u stadia I a II.

U pokročilejších stadií onemocnění pak 20% .

Perioperační mortalita

(do 30 dnů) se drží u pneumonektomie spolehlivě pod 7% u lobektomie a menších resekčních výkonů pod 2%.

Pětileté přežití

Vyjádřeno v procentech se pohybuje u radikální operativy podle stadií onemocnění kolem: St I.A tj T1N0: 80%, St.IB tj T2N0: 60%, St II.tj T1-2,N1: 40%, St III.A tj T3N1 20%, T1-2,3N2 10% St III.B + St.IV / druhý tumor ve stejném laloku kopíruje nižší stadia onemocnění podle uzlinového postižení na hladinách o několik procent níže.

### 2. Dispenzarizace

patří do rukou zaníceného specialisty, který se k odpovědnosti za pacienta hlásí. Je nepodstatné, je-li to onkolog, pneumolog nebo hrudní chirurg. Vzájemná spolupráce a propojení oborů jsou stejně conditio sine qua non. Podstatné je respektování vytyčených zásad dispenzární péče:

Klinická kontrola 4x ročně s monitorací příslušných sérových nádorových značek, jednou ročně roční dispenzář paraklinický: laboratorní screening, spirometrie, RTG plic / CT plic, USG jater, scinti skeletu. V pátrání po metachronní duplicitě (2-4% ročně) v centrálních dýchacích cestách (autofluorescenční bronchoskopie.

Fakultativně se uplatní PET scan, případně další paraklinická vyšetření dle klinické dynamiky - sono nadledvin, CT eventuálně MRI mozku atp.

### E.

**Plicní rakovinu** v České republice lze léčit lépe a levněji, než to v současné době děláme. Dejme se do toho.

#### Použité zkratky

ARO	– anesteziologické resuscitační oddělení
ATB	– antibiotikum
BSC	– bronchoskopie
CA72_4	– nádorový antigen Ca72_4
CBP	– corynebacterium parvum
CEA	– karcinoembryonální antigen
CgA	– chromogranin A
CT	– computed tomography, počítačová tomografie
CYFRA21.1	– nádorový antigen CYFRA 211
ECHO	– Echokardiografie
LBAC	– lokalizovaný bronchioloalveolární adenokarcinom
MLA	– mediastinální lymfadenektomie
MPE	– maligní pleurální efuze (výpotek)
MTS	– metastáza
NSCLC	– non-small cell lung cancer, nemalobuněčný plicní karcinom
NSE	– neuron specifická enoláza
PET	– pozitronová emisní tomografie
SCC	– squamous cell cancer (antigen)
SCLC	– small cell lung cancer, malobuněčný plicní karcinom
St.	– stadium
TNM	– tumor, uzlina, metastáza
TU EM	– transfuzní jednotka erymasy
UICC	– International Union Against Cancer
USG	– ultrasonography, vyšetření ultrazvukem
VATS	– video assisted thoracic surgery, videoasistovaná hrudní chirurgie
WHO	– World Health Organisation, Světová zdravotnická organizace

#### Literatura

1. Antunes G, Neville E, Duffy J, Ali N: BTS guidelines for the management of malignant pleural effusions. Thorax 2003;58:29
2. Ferguson MK, Lehman AG. Sleeve lobectomy or pneumonectomy: optimal management strategy using decision analysis techniques Ann Thorac Surg 2003;76:1782
3. Chang MY, Sugarbaker DJ. Surgery for early stage non-small cell lung cancer. Semin Surg Oncol 2003;21:74
4. Keller SM, Adak S, Wagner H, Johnson DH. Mediastinal lymph node dissection improves survival in patients with stages II and IIIA non-small cell lung cancer. Eastern Cooperative Oncology Group Ann Thorac Surg 2000;70:358
5. Miller DL, Rowland CM, Deschamps C. et al. Surgical treatment of non-small cell lung cancer 1cm or less in diameter. Ann Thorac Surg 2002; 73:1545.

6. Nonaka M, Kadokura M, Yamamoto S, et al. Tumor dimension and prognosis in surgically treated lung cancer: for intentional limited resection. Am J Clin Oncol 2003;26:499
7. Pearson GF: Non-small Cell Lung Cancer. Role of Surgery in Stages I-III. Chest 1999; 116:500S.
8. Pešek M, Kolek V, Kubík A, Marel M, Novák K, Pařko P, Schützner et al. Bronchogenní karcinom, 2002, Galén.
9. Travis WD, Colby TV, Corrin B, et al. Histological typing of lung and pleural tumours. WHO international histological classification of tumours, 3rd ed. Berlin, Springer (1999).
10. Watanabe Y, Murakami S, Oda M, et al. Surgical Management of Early Stage Central (Hilar) and Peripheral Nonsmall Cell Lung Carcinoma, Cancer, 2000; 89: 2438

## IRINOTECAN/CETUXIMAB - SALVAGE CHEMOBIOTERAPIE METASTATICKÉHO KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU

### IRINOTECAN/CETUXIMAB – SALVAGE CHEMOBIOThERAPY IN METASTATIC COLORECTAL CANCER

KOCÁKOVÁ I., KOCÁK I., ŠPELDA S., PACAL M., ŘEHÁK Z.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

**Souhrn:** Kolorektální karcinom je jedním z nejčastějších nádorových onemocnění v České republice. Léčba klinického stádia IV je paliativní, základní léčebnou modalitou je systémová chemoterapie zahrnující fluorouracil a leukovorin, irinotecan a oxaliplatinu. U nádorových buněk kolorektálního karcinomu je často zvýšeně exprimován receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR). Výsledky prvních klinických studií s cetuximabem u metastatického onemocnění jasně prokázaly významnou aktivitu této anti-EGFR monoklonální protilátky u pacientů rezistentních k současně dostupným cytotoxickým látkám. V následující kazuistice prezentujeme významnou protinádorovou účinnost irinotecanu v kombinaci s cetuximabem u pacienta s metastatickým chemorezistentním onemocněním.

**Klíčová slova:** kolorektální karcinom, irinotecan, cetuximab

**Summary:** Colorectal carcinoma is one of the most common malignant diseases in Czech republic. Treatment of stage IV disease is palliative, the main treatment modality is chemotherapy with fluorouracil and leucovorin, irinotecan and oxaliplatin. The over – expression of the epidermal growth factor receptor (EGFR) has been often found in the malignant cells of colorectal cancer. The results of the first series of clinical trials with cetuximab in metastatic colorectal cancer clearly demonstrate a significant activity of this anti-EGFR monoclonal antibody in a setting of patients that are resistant to the currently available active cytotoxic agents. In the following case report we present the significant antitumour activity of irinotecan in combination with cetuximab in patient with metastatic chemoresistent disease.

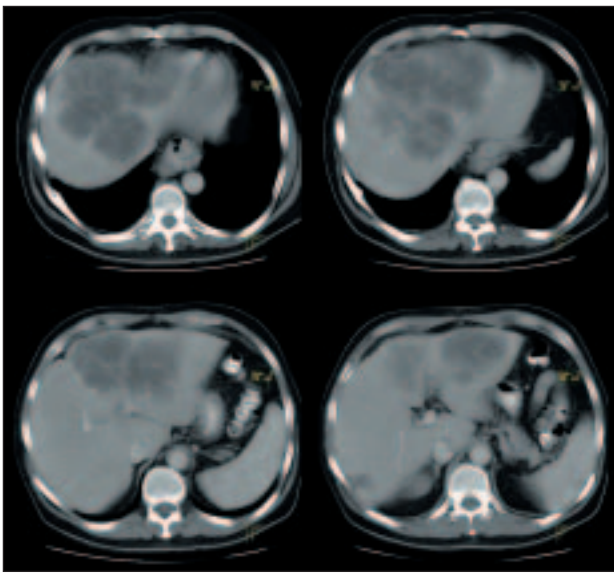
**Key words :** colorectal carcinoma, irinotecan, cetuximab

#### Úvod

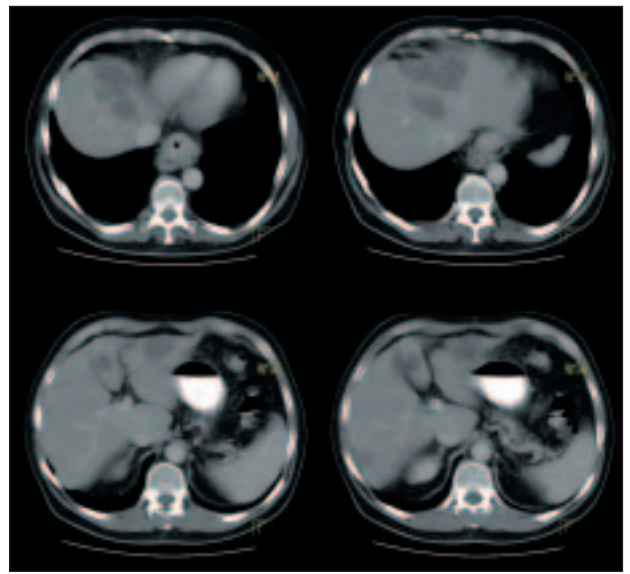
Kolorektální karcinom (KRK) je jedním z nejčastějších nádorových onemocnění v České republice s roční incidencí přesahující 7000 osob. Téměř u poloviny pacientů se v průběhu onemocnění objeví metastázy. Hlavním léčebným cílem u pacientů s metastatickým onemocněním je prodloužení přežití a zlepšení kvality života. Léčba spočívá v kombinaci různých přístupů, k nimž patří chirurgie, radioterapie a zejména systémová chemoterapie. Téměř pět desetiletí se v léčbě kolorektálního karcinomu v indikaci paliativní chemoterapie používá antimetabolit 5-fluorouracil (5-FU) modulovaný leukovorinem (LV) v bolusovém nebo kontinuálním podání. Rozsáhlý výzkum nových cytotoxických látek se v průběhu poslední dekády promítl v rozšíření spektra cytostatik o irinotecan, oxaliplatinu, kapecitabin a raltitrexed. Sekvenční kombinovaná chemoterapie s 5-fluorouracilem, irinotecanem a oxaliplatinou představuje v současnosti zlatý standard terapie metastatického onemocnění. Medián přežití nemocných přesahuje 20 měsíců. Příčinou omezené účinnosti, a u některých pacientů i závažných nežádoucích účinků, jsou biologické vlastnosti nádoru a genetické změny specifických regulačních genů, které kódují enzymy účastníci se katabolického nebo anabolického metabolismu cytotoxických látek. Dále neselektivita cytostatik a postupný rozvoj rezistence nádorových buněk na terapii. V současnosti pohlížíme na nádor jako na „onemocnění klíčových regulačních drah“. Především se jedná o dráhy zahr-



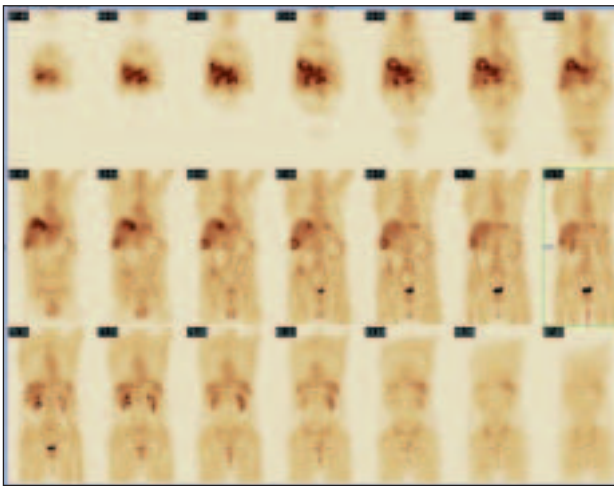
Obr.1: Akneiformní exantém stupně 3 při léčbě cetuximabem.



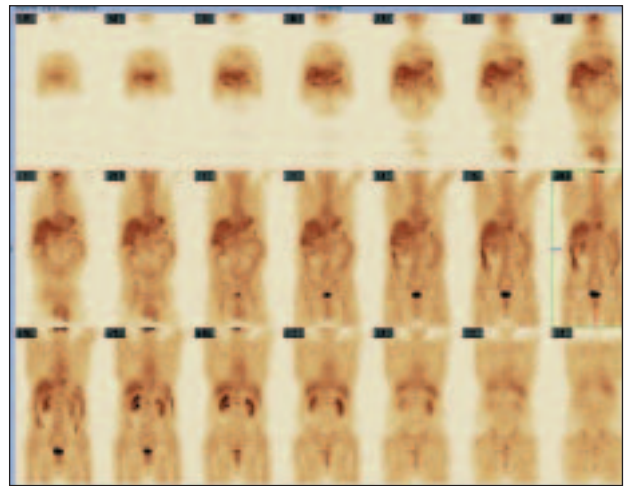
Obr. 2a: CT vyšetření jater před léčbou: Játra jsou prostoupena objemnými MTS infiltráty, které v S7,8,4,2,3 vytváří splývající ložiska na celkové ploše cca 164x143mm



Obr. 2b: CT vyšetření jater po 3 cyklech chemobiotherapie: Výrazná velikostní regrese metastatického postižení cca o 60%



Obr. 3a: PET trupu 18-FDG před léčbou: Jsou zobrazena mnohočetná ložiska zvýšené akumulace radiofarmaka v obou lalocích jater, částečně splývající, zabírající podstatnou část jaterního parenchymu. V ostatních částech trupu mimo místa obvykle vyšší akumulace radiofarmaka nejsou detekována žádná ložiska zvýšené metabolické aktivity



Obr. 3b: FDG PET scan po 3 cyklech chemobiotherapie: Ve srovnání s předěšlým vyšetřením došlo k výraznému zlepšení nálezů. Názna jen nepravidelných menších okrsků nepatrně vyšší kumulace radiofarmaka v horní části pravého jaterního laloku

nující komplexní regulace růstu, diferenciace a apoptózy. U 25 - 80% pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem byla prokázána zvýšená exprese tyrosinkinázového receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) označovaného též HER-1, erbB-1 (1-3). EGFR se skládá z extracelulární domény vázající ligand, transmembránového segmentu a intracelulární domény, se kterou je spojena tyrosinkinázová aktivita zodpovědná za přenos signálu. Vazbou přirozeně se vyskytujícího ligandu (epidermální růstový faktor, EGF nebo transformanční růstový faktor- $\alpha$ , TGF  $\alpha$ ) na receptor dochází k tvorbě homo a heterodimerických komplexů aktivujících tyrosinkinázu s následnou autofosforylací tyrosinu (4-5). Signální mechanismy zprostředkované EGFR se účastní řízení přežívání buněk, vývojového cyklu buňky, angiogeneze, pohybu buněk a buněčné invaze/metastazování. Cetuximab je vysoce specifická monoklonální chimerická IgG1 protilátka, která cíleně blokuje extracelulární část EGFR. Jeho afinita je přibližně 5 až 10 krát vyšší než u endogenních ligandů, EGF nebo TGF- $\alpha$ . Tato blokáda má za následek inhibici funkce receptoru (6-7). To dále indukuje internalizaci EGFR, která může vést k down-regulaci EGFR (8). Cetuximab také ovlivňuje cytoto-

xické imunitní efekterové buňky působící proti EGFR pozitivním nádorovým buňkám (protilátková buňkami zprostředkovaná cytotoxicita). Cetuximab ve zkouškách in vitro a in vivo u lidských nádorových buněk exprimujících EGFR vedl ke zvýšené expresi proteinu p 27 s následnou inhibicí buněčné proliferace a indukcí apoptózy ovlivněním poměru proteinů bax/bcl-2 (9). K dalším účinkům patří inhibice produkce faktorů angiogeneze nádorovými buňkami, snížení nádorové neovaskularizace a metastatického potenciálu (10-13). Cetuximab byl v kombinaci s irinotecanem hodnocen ve dvou klinických studiích. Celkem bylo zařazeno 356 pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem exprimujícím EGFR, u nichž selhala předchozí cytostatická terapie zahrnující irinotecan. Do studií byli indikováni pacienti s minimální hodnotou výkonostního stavu podle Karnofského 60%. Klinický benefit léčby byl zaznamenán u více než poloviny pacientů. Parciální remise onemocnění byla dokumentována u 23% nemocných a stabilizace onemocnění u 33% léčených (14-15). V České republice je v této indikaci cetuximab zaregistrován od 1. července tohoto roku pro léčbu pacientů s diseminovaným KRK po selhání předchozí chemoterapie zahrnující irinotecan.



## Popis případu

Padesátiletý muž podstoupil v prosinci 2003 na sektorovém chirurgickém pracovišti paliativní resekci sigmatu pro dobře diferencovaný adenokarcinom s prokázaným metastatickým postižením jater (Dukes D). Po 2 cyklech paliativní chemoterapie TOMOX (ralitrexed, oxaliplatin) byla v březnu 2004 ve FN Bohunice provedena radiofrekvenční termoablace dvou jaterních metastáz. Po 4 měsících byla dle zobrazovacích metod konstatována progresie v játrech a pacient byl mimoústavně léčen paliativní chemoterapií 2. linie režimem FOLFIRI (kontinuální 5-FU, LV a irinotecan). Léčba probíhala do října 2004. Bylo dosaženo jen minimální regrese jaterních metastáz. Od prosince 2004 byly aplikovány 3 cykly chemoterapie 3. linie kombinací XELOX (kapecitabin, oxaliplatin) pro hepatální progresi. Tato léčba nebyla efektivní. V dubnu 2005 pacient konzultoval další možnosti onkologické léčby v MOÚ Brno. Po selhání standardní cytostatické léčby byla pacientovi nabídnuta možnost léčby v rámci klinické studie s perorálním platinovým přípravkem LA-12. Přešetření po 2 cyklech ukázalo progresi jaterních metastáz a elevaci nádorových markerů. Vzhledem k tomu, že nebyl dostupný vzorek nádorové tkáně na vyšetření exprese EGFR, byla v srpnu 2005 provedena diagnostická laparotomie s excizí jaterní metastázy. Fenotypizace prokázala expresi EGFR +3. V srpnu 2005 byla zahájena chemoterapie v kombinaci irinotecan a cetuximab. V době zahájení léčby byl výkonostní stav pacienta dle Karnofského hodnocen jako 100% a byly přítomny normální hodnoty krevního obrazu a biochemického vyšetření.

Bylo použito následující léčebné schéma: Cetuximab v úvodní dávce 400 mg/m<sup>2</sup> tělesného povrchu intravenózně po dobu 120 minut. Maximální rychlost infúze nepřekročila 5 ml/min. Před zahájením první infúze byl pacient premedikován antihistaminikem. Tato premedikace byla podávána i při všech následných týdenních aplikacích, kdy byla dávka cetuximabu

snížena na 250 mg/m<sup>2</sup> a doba aplikace zkrácena na 60 minut. V průběhu podávání infúze a minimálně 1 hodinu po jejím ukončení byly pečlivě monitorovány vitální funkce. Irinotecan se podával za 1 hodinu po ukončení aplikace cetuximabu v dávce 350 mg/m<sup>2</sup> tělesného povrchu jedenkrát za 3 týdny. *Nežádoucí účinky léčby:*

Během léčby cetuximabem byla pozorována kožní toxicita ve formě akneiformní vyrážky predilekčně postihující obličej, krk a trup (obr. 1). Pro kožní toxicitu stupně 3 byla čtvrtá aplikace protilátky vynechána, čímž došlo ke zmírnění kožních příznaků na stupeň 2. Kožní projevy stupně 2 v dalším průběhu léčby přetrvávají, jsou asymptomatické a pacienta nelimitují. Nebyla zaznamenána žádná hematologická, gastrointestinální či jiná toxicita.

### Účinnost režimu:

V průběhu léčby byl zjištěn dramatický pokles nádorových markerů. Karcinoembryonální antigen poklesl z iniciální hodnoty 1101.0 ug/l v srpnu 2005 na hodnotu 39.1 ug/l v říjnu 2005, nádorový marker CA 19-9 se z hodnoty 793.8 kU/l znormalizoval na hodnotu 10.2 kU/l (referenční hodnota do 37.0 kU/l). Kontrolní CT vyšetření jater po 2 měsících terapie ukázalo více jak 60% zmenšení metastatického postižení jater (obr. 2a, 2b) a rovněž FDG PET scan detekoval výrazný efekt terapie (obr. 3a, 3b). V efektivní terapii je dále pokračováno.

### Závěr:

Objev biologické terapie založené na monoklonálních protilátkách představuje zásadní změnu ve vývoji protinádorové léčby. Cílená blokáda EGFR vysoce specifickou monoklonální protilátkou cetuximabem představuje účinnou a dobře tolerovatelnou alternativu pro léčbu metastatického chemorezistentního onemocnění. V této situaci dříve již neexistovala žádná účinná systémová léčba. Probíhající studie by měly pomoci objasnit další optimalizaci užití cetuximabu jako součást multimodální léčby kolorektálního karcinomu.

### Literatura:

1. Raymond E, Faivre S, Armand JP. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase as a target for anticancer therapy. *Drugs* 2000; 60 Suppl. 1: 15-23; discussion 41-2
2. Ciardiello F, Tortora G. Anti-epidermal growth factor receptor drugs in cancer therapy. *Expert Opin Investig Drugs* 2002 Jun; 11 (6): 755-68
3. Ciardiello F. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as anticancer agents. *Drugs* 2000; 60 Suppl. 1: 25-32; discussion 41-2
4. Baselga J. The EGFR as a target for anticancer therapy – focus on cetuximab. *Eur J Cancer* 2001 Sep; 37 Suppl. 4: S16-22
5. Kim ES, Khuri FR, Herbst RS. Epidermal growth factor receptor biology (IMC-C225). *Curr Opin Oncol* 2001 Nov; 13 (6): 506-13
6. Baselga J. The EGFR as a target for anticancer therapy – focus on cetuximab. *Eur J Cancer* 2001 Sep; 37 Suppl. 4: S16-22
7. Kim ES, Khuri FR, Herbst RS. Epidermal growth factor receptor biology (IMC-C225). *Curr Opin Oncol* 2001 Nov; 13 (6): 506-13
8. Kang X, Patel D, Shi J, et al. Anti-EGFR monoclonal antibody cetuximab binds the EGFR variant III receptor and internalizes phosphorylated receptor on the cell surface [abstract no. 498]. *Eur J Cancer* 2002 Nov; 38 Suppl. 7: S149
9. Huang SM, Bock JM, Harari PM. Epidermal growth receptor blockade with C225 modulates proliferation, apoptosis, and radiosensitivity in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Res* 1999 Apr; 59 (8): 1935-40
10. Ciardiello F, Damiano V, Bianco R, et al. Antitumour of combined bloc-

kade of epidermal growth factor receptor and protein kinase A. *J Natl Cancer Inst* 1996 Dec; 88 (23): 1770-6

11. Ciardiello F, Bianco R, Damiano V, et al. Antiangiogenic antitumor activity of anti-epidermal growth factor receptor C225 monoclonal antibody in combination with endothelial growth factor antisense oligonucleotide in human GEO colon cancer cells. *Clin Cancer Res* 2000 Sep; 6: 3739-47
12. Perrotte P, Matsumoto T, Inoue K, et al. Anti-epidermal growth factor receptor antibody C225 inhibits angiogenesis in human transitional cell carcinoma growing orthotopically in nude mice. *Clin Cancer Res* 1999 Feb; 5: 257-64
13. Matsumoto T, Perrotte P, Bar-Eli M, et al. Blockade of EGF-R (C225) signalling with anti-EGF-R monoclonal antibody (Mab) C225 inhibits matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) expression and invasion of human transitional cell carcinoma (TCC) in vitro and in vivo [abstract no. 565]. 89th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research; 1998 Mar 28-Apr 1; New Orleans
14. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab (C225) alone or in combination with irinotecan (CPT-11) in patients with epidermal growth factor receptor positive, irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer [abstract no. 1012]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003 May; 22: 252 plus oral presentation
15. Saltz L, Meropol NJ, Loehrer PJ, et al. Single agent IMC-C225 (Eribitux) has activity in CPT-11-refractory colorectal cancer (CRC) that expresses the epidermal growth factor receptor (EGFR) [abstract no. 504]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002 May; 21 (1): 127



## Jmenný

- Abouharb, A. 5/166  
 Adam, Z. 2/59, 3/80, 3/110, 5/172, 6/210  
 Adámková, L. 2/74  
 Babjuk, M. 5/184  
 Bačovský, J. 2/46  
 Bartlová, R. 1/15  
 Bartoňková, H. 1/30, 4/149, 6/222  
 Beneš, M. 4/145  
 Beška, F. 2/69  
 Bezdíčková, D. 3/98  
 Boudný, V. 2/74  
 Brychta, T. 4/145  
 Brychtová, S. 4/14,  
 Büchler, T. 2/55, 3/110  
 Buřilová, H. 1/2  
 Cibula, D. 5/184  
 Cínek, M. 3/98  
 Coufal, O. 1/10  
 Čermák, P. 4/138  
 Čížek, L. 2/69  
 De Rigo, J. 5/166  
 Doleželová, E. 3/110  
 Dudová, S. 3/80, 5/178  
 Dundr, P. 5/184  
 Dvořáčková, M. 3/80  
 Eckschlager, T. 5/159, 6/207  
 Fabian, P. 1/10, 3/110  
 Fait, V. 1/10, 1/15, 1/30, 3/77, 4/153  
 Fajkus, J. 3/80  
 Filipínský, P. 3/89  
 Filková, H. 2/59  
 Fiurášková, M. 4/145  
 Floretová, L. 3/98  
 Freitag, P. 5/184  
 Frkala, T. 1/23  
 Fuchs, O. 6/199  
 Gatěk, J. 3/77  
 Gürlich, R. 5/184  
 Hájek, R. 2/55, 2/59, 3/80, 3/110, 5/172,  
 5/178, 6/210  
 Hajtmanová, E. 5/166  
 Hakl, M. 2/51  
 Haluzík, M. 1/5  
 Hanák, L. 6/222  
 Hatina, J. 4/119, 4/126  
 Heinigová, J. 2/59, 3/80  
 Hermann, J. jr. 4/145  
 Horváth, T. 3/114, 6/226  
 Hozák, P. 3/93  
 Hrstka, R. 2/64  
 Hřib, R. 2/51  
 Hušák, V. 2/46  
 Chrenko, V. 1/15, 3/77, 4/153  
 Ilenčíková, D. 3/98  
 Jandík, P. 3/105, 3/107  
 Janíček, P. 1/19  
 Janout, V. 2/69  
 Jebavý, L. 4/138  
 Jelínek, P. 1/2  
 Joukalová, Z. 2/50  
 Kalábová, V. 2/59  
 Kamerlander, J. 1/33  
 Kamínek, M. 2/46  
 Kaplan, Z. 1/2, 1/10  
 Katolická, J. 3/89  
 Kleibl, Z. 3/98  
 Kleiblová, P. 3/98  
 Koblihová, H. 4/138  
 Kocák, I. 6/230  
 Kocáková, I. 6/230  
 Kohlová, T. 1/19  
 Kollárová, H. 2/69  
 Koranda, P. 2/46  
 Kostečka, A. 6/222  
 Kostková, L. 5/166  
 Koutná, J. 2/69  
 Kovařík, J. 1/23  
 Kovářová, L. 2/55, 2/59, 3/80  
 Krejčí, M. 2/59, 3/80, 3/110  
 Krutílková, V. 3/98  
 Křen, L. 3/110  
 Křivanová, A. 3/110  
 Křížová, J. 1/5  
 Kuglík, P. 2/59  
 Kunická, Z. 3/80  
 Lischke, R. 6/219  
 Lorenc, J. 2/69  
 Malík, R. 3/98  
 Mareš, P. 5/184  
 Martan, A. 5/184  
 Matouš, B. 3/98  
 Matoušek, J. 6/207  
 Mego, M. 3/84  
 Michálek, J. 2/55, 5/178  
 Miller, P. 2/64  
 Mlynček, M. 4/134  
 Moulis, M. 3/110  
 Mysliveček, M. 2/46  
 Myslivečková, N. 2/41  
 Nekula, J. 2/46  
 Nekulová, M. 1/23  
 Nenutil, R. 1/23, 1/30, 2/64  
 Neumanová, R. 1/19  
 Novák, F. 1/5  
 Novotný, J. 3/98, 5/188  
 Očadlíková, D. 2/55, 3/80  
 Odrážka, K. 1/19  
 Oltová, A. 2/59  
 Ondrák, M. 1/10, 1/19  
 Pafko, P. 6/219  
 Pála, M. 3/113  
 Pazdro, A. 1/5  
 Pazdrová, G. 1/5  
 Pecen, L. 1/23  
 Péč, M. 5/166  
 Penka, I. 1/10  
 Penka, M. 2/55, 2/59, 3/80  
 Pešková, M. 5/184  
 Petera, J. 1/19  
 Petráková, K. 1/23  
 Petruželka, L. 1/5, 3/98  
 Pohlreich, P. 3/98  
 Poučková, P. 6/207  
 Pour, L. 3/80, 3/110, 5/172, 6/210  
 Procházka, E. 1/19  
 Puchříková, 2/50  
 Rosina, J. 3/92  
 Rovný, A. 3/89  
 Růžičková, J. 1/15  
 Ryška, A. 3/102  
 Řehák, Z. 6/230  
 Sedláková, E. 4/145  
 Schneiderová, M. 1/30, 4/149, 4/152,  
 6/222  
 Schützner, J. 6/219  
 Skleničková, M. 3/80  
 Skovajsová, M. 1/30  
 Smejkal, M. 1/5  
 Smejkalová, J. 2/59, 3/80  
 Souček, P. 5/188  
 Soumarová, R. 1/15  
 Standara, M. 1/30, 4/149, 6/222  
 Stolz, A.J. 6/219  
 Straková, N. 2/41  
 Svárovský, J. 5/184  
 Ščudla, V. 2/46  
 Šefr, R. 1/10  
 Šiffnerová, H. 6/216  
 Šimíčková, M. 1/23  
 Šimonek, J. 6/219  
 Šlampa, P. 1/15, 5/195  
 Špalda, S. 6/230  
 Štaudová, E. 1/14  
 Štěrba, J. 2/64  
 Šusová, S. 5/188  
 Šustová, I. 6/216  
 Taltynov, O. 3/92  
 Tichá, H. 1/15  
 Tichý, M. jr. 4/145  
 Uharček, P. 4/134  
 Umlauf, J. 1/2  
 Ungár, L. 5/184  
 Valík, D. 2/64  
 Vidláková, P. 3/80  
 Vigášová, J. 3/80  
 Vicha, A. 5/159  
 Vítek, P. 3/92  
 Vlček, J. 4/138  
 Vodička, P. 5/188  
 Vojtěšek, B. 2/64  
 Vorlíček, J. 2/59  
 Vranová, V. 2/59  
 Vytřasová, M. 2/46  
 Vyzula, R. 1/2  
 Weissová, D. 3/80  
 Záborská, Z. 5/166  
 Zámečník, L. 5/166  
 Zemanová, M. 1/5  
 Zemková, M. 4/138  
 Žaloudík, J. 1/1, 1/10, 1/15, 1/19, 1/29,  
 2/55, 2/72, 2/75, 5/194, 6/222

## Věcný

- Akutní lymfoblastická leukémie 2/64  
Antibiotika 4/138  
Audit 5/195  
Biotransformační enzymy 5/188  
Bisfosfonáty 5/172  
Bolest 2/51  
Brachyterapie 1/15, 1/19, 5/166  
CD56 3/110  
Cetuximab 6/230  
Dendritické buňky 5/178  
DOBI 5/149  
Docetaxel 3/89  
Duktální karcinom prsu in situ 3/105  
Ependymom 3/102  
Exenterace pánve 5/184  
Fentanyl 2/51  
Gliom 5/166  
Glutamin 1/2  
HER-2/neu 1/23  
Herceptin 1/23  
Histiocytóza z Langerhansových buněk 4/134  
CHEK2 3/98  
Chemobioterapie 6/230  
Chemoradioterapie 1/27, 3/92, 3/113  
Ibadronát 6/210  
Imunomagnetická separace 2/59  
Informační centrum 2/50  
Intenzivní péče 1/2  
Interferon gamma 2/55  
Irinotecan 6/230  
Karcinogeneze 2/41  
Karcinom čípku děložního 5/184  
Karcinom jícnu 1/5  
Karcinom plic 2/69  
Karcinom prostaty 2/72, 3/89  
Karcinom prsu 1/15, 1/23, 1/30, 3/77, 3/98, 4/149, 4/152  
Karcinom žaludku 1/29  
Knihovny 1/14  
Koloréktální karcinom 1/10, 1/29, 5/188, 6/219, 6/230  
Kostní metastázy 5/172  
Kouření 2/69  
Laser 3/115  
Maligní plazmocytom 3/110  
Melanom 4/145  
Metastatický nádor ledvin 6/216  
Methotrexat 2/64  
Mnohočetný myelom 2/46, 2/55, 2/59, 3/80, 3/110  
Molekulární biologie 3/84, 4/145, 5/159  
Nádorová imunologie 4/119, 4/126  
Nádorové vakcíny 5/178  
Nádory hlavy a krku 1/27, 3/113  
Neoadjuvantní chemoterapie 3/77  
Neuroblastom 5/159  
Onkoprevence 5/194  
Orgánové transplantace 5/194  
Označování nehmavných lezí 1/30  
p53 signální geny 2/64  
Podpůrná péče 1/33  
PPARs 2/41  
Prognostické faktory 3/80, 6/216, 6/219  
Psychologická podpora 3/107  
Resekce metastáz 6/216  
Resekce plic 6/216, 6/226  
Rezistence na antibiotika 4/138  
Ribonukleázy 6/207  
Sarkomy měkkých tkání 1/19  
Sentinelová biopsie 1/10, 3/77  
Specimen radiography 4/149  
Tc-MIBI scintigrafie 2/46  
Telomeráza 3/80  
Terminativní tumory 3/84  
Tetovací barva 1/30  
Transformační růstový faktor 6/199  
Ubikvitin-proteasomový systém 6/1199  
Vakuová biopsie 6/222  
Vino 2/72  
Vulva 4/134

## Taxotere® v přímém porovnání s paclitaxelem signifikantně zvyšuje přežití žen s pokročilým karcinomem prsu

Výsledky „head-to-head“ studie srovnávající dvě z nejčastěji používaných cytostatik u karcinomu prsu, publikované v časopise „The Journal of Clinical Oncology“

**Paříž - 18. srpen, 2005** – Skupina Sanofi-aventis dnes oznámila, že časopis *Journal of Clinical Oncology* publikoval výsledky III. fáze klinických zkoušek, které demonstrují, že terapie injekčním koncentrátem TAXOTERE® (Docetaxel) signifikantně prodlužuje celkové přežití a medián doby do progresu choroby ve srovnání s paclitaxelem u žen s pokročilým karcinomem prsu, jejichž choroba progredovala po předchozí terapii na bázi antracyklinů. Studie prokázala statisticky signifikantní medián celkového přežití 15,4 měsíců pro TAXOTERE® versus 12,7 měsíců pro paclitaxel (HR 1,41, 95%, CI 1.15 na 1.73,  $p=0.03$ )<sup>1</sup> TAXOTERE® a paclitaxel jsou léky ze třídy známé jako taxany, které se běžně používají v terapii žen s pokročilým karcinomem prsu.<sup>2</sup>)

Tato studie randomizovala 449 pacientek s lokálně pokročilým nebo metastatickým karcinomem prsu po předchozím selhání režimu obsahujícího antracykliny v 53 amerických a kanadských onkologických centrech. Pacientky dostávaly buď TAXOTERE® (100 mg/m<sup>2</sup>, 1-hodinová intravenózní infuze každých 21 dnů) nebo paclitaxel (175 mg/m<sup>2</sup>, 3hodinová intravenózní infuze každých 21 dnů) -každý lék byl podán v dávkování a načasování tak, jak byl schválen EMEA a FDA (Správu pro potraviny a léky). Tyto klinické zkoušky prokázaly, že ve všech pacientkách, které byly randomizovány a dostávaly buď TAXOTERE® nebo paclitaxel, právě TAXOTERE® signifikantně prodloužil medián doby do progresu, ve srovnání s paclitaxelem (5.7 měsíců versus 3.6 měsíců,  $p<0.0001$ ). Mezi pacientkami, které byly vyhodnocovány pro odpověď (zmenšení tumoru), měly ty, které dostávaly TAXOTERE® signifikantně lepší parametry odpovědi (37.4 % versus 26.4 %,  $p=0.02$ ) a signifikantně delší medián trvání odpovědi (7.5 měsíců versus 4.6 měsíců,  $p=0.01$ ) než pacientky, které dostávaly paclitaxel. Pokud byla odpověď hodnocena na základě Intent to treat (primární cíl), pak byla celková míra odpovědi vyšší pro TAXOTERE® (32.0 % versus 25.0 %,  $p=0.10$ , ns) než pro paclitaxel. Nicméně tento rozdíl nebyl tolik signifikantní.

„Jde o první klinickou studii, která přímo srovnává tyto hodně používané léky, taxany. Preklinické a laboratorní důkazy ukazují, že TAXOTERE® a paclitaxel jsou odlišné taxany“, říká MUDr. Stephen E. Jones, lékařský ředitel amerického onkologického výzkumu, a ředitel výzkumu rakoviny prsu v Baylor-Sammonsové onkologické centru v Dallasu, Texas. „Výsledky této studie „head-to-head“ dodávají onkologům klinické důkazy o těchto rozdílech. Dříve jsme v léčbě nemocných žen s pokročilým karcinomem prsu tak úspěšni nebyli. Prokazatelné zlepšení přežití jsme pozorovali jen zřídka.“

Pacientky, zařazené do studie, pokračovaly v užívání výzkumného léku tak dlouho, pokud odpovídaly na léčbu. Skupina pacientek s TAXOTERE® obdržela průměrně šest cyklů, ve srovnání s pacientkami, léčenými paclitaxelem, které obdržely průměrně čtyři cykly. Použití G-CSF (=granulocytárního kolonie stimulačního faktoru), růstového faktoru kostní dřevě, který se podává ke snížení febrilní neutropenie u pacientů na myelosupresivní chemoterapii, bylo povoleno pouze po iniciální epizodě leukopenie nebo neutropenie 4.stupně (nízký počet bílých krvinek) trvající déle než 7 dní, a nebo tehdy, pokud byla tato spojena s horečkou. Nežádoucí účinky, uváděné ve studii, byly shodné s těmi, které byly dříve pozorovány ve studiích s TAXOTERE® a nelíšily se příliš od těch, které se běžně pozorují v rutinní klinické praxi.<sup>1</sup>) Incidence hematologických a nehematologických vedlejších příhod, spojených s léčbou, byla u TAXOTERE® vyšší než u pac-

litaxelu, nicméně ve skóre kvality života nebyly mezi oběma skupinami v průběhu času velké rozdíly.<sup>1</sup>)

### Další výsledky studie a protokol

Randomizovaná, kontrolovaná, multicentrická III.fáze klinických zkoušek zahrnovala 449 žen z 53 onkologických ústavů ve Spojených Státech a v Kanadě. 225 žen s věkovým průměrem 56 let dostávalo TAXOTERE®, zatímco 224 pacientek s průměrným věkem 54, dostávalo paclitaxel. Primárním cílem studie bylo vyhodnocení objektivní odpovědi a tolerance. Sekundárním cílem studie bylo vyhodnocení celkového přežití, délku trvání odpovědi, dobu bez progresu tumoru (doba bez růstu nádoru) a posouzení celkové kvality života. Kvalita životního skóre byla mezi oběma terapeutickými skupinami v průběhu doby podobná navzdory zvýšené incidenci toxicity 3/4 stupně, včetně neutropenie (poklesu počtu bílých krvinek, které napomáhají boji proti infekci) (93,3% versus 54.5%  $p<0.001$ ), infekce (9.9% versus 1.8%,  $p<0.001$ ), průjmů (5.4% versus 0.5%,  $p<0.001$ ) a edémů (retence tekutin) (6.8% versus 0.5%,  $p<0.001$ ) u žen, které dostávaly TAXOTERE®. Kvalita života se stanovovala funkčním posouzením onkologické terapie (FACT), a systémem pro měření karcinomu prsu, FACT-B. Byl navržen dotazník k posouzení kvality všech stránek života, včetně emoční, funkční, fyzické a sociální stránky života pacientek. Ženy vyplňovaly dotazník před zahájením terapie, po 4. cyklu terapie a na konci terapie.

„Studie potvrdila, že TAXOTERE® je efektivní látkou pro terapii pokročilého karcinomu prsu“, říká Dr. Stephen E. Jones. „Údaje z této studie napovídají, že nyní držíme v rukou léčbu, která může být schopna přinést prospěch řadě žen s pokročilým karcinomem prsu“.

### Karcinom prsu (Carcinoma mammae)

Karcinom prsu je nejčastěji diagnostikovanou rakovinou u žen. Je druhou vedoucí příčinou smrti na rakovinu u žen po rakovině plic, a od roku 1990 predominantně vzrůstá u žen nad 50 let a více. Je prvotní příčinou úmrtnosti na rakovinu u žen ve věku od 40 do 59 let.

**Každoročně se po celém světě diagnostikuje více než jeden milion nových případů karcinomu prsu, a na tuto chorobu každoročně umírá více než 400 000 žen! Riziko, že se u ženy během života vyvine rakovina prsu, činí přibližně 13%! V Evropské Unii se každým rokem diagnostikuje více než 191.000 nových případů karcinomu prsu, a více než 60.000 z nich umírá! Ve Spojených Státech bylo tento rok už diagnostikováno více než 215.000 nových případů karcinomu prsu, a předpokládá se, že 40.000 z nich zemře. Včasným screeningem a diagnózou, a včasným nasazením účinné terapie můžeme dnes pacientkám nabídnout podstatně lepší šance na přežití!**

TAXOTERE® je dnes již běžným, schváleným a osvědčeným preparátem, používaným pro terapii pacientů s lokálně pokročilým nebo metastatickým karcinomem prsu po selhání předchozí chemoterapie a je také schválen v kombinaci s doxorubicinem a cyklofosfamidem (režim TAC) pro adjuvantní postchirurgickou terapii pacientů s operabilním karcinomem prsu a postiženými uzlinami.

### Indikace TAXOTERE®:

TAXOTERE® byl schválen a navržen pro terapii :

- 1) pacientů s neresektabilním lokálně pokročilým nebo metastatickým nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC) v kombinaci s cis-platinou,
- 2) pacientů, kteří neobdrželi předchozí chemoterapii,
- 3) pacientů s neresektabilním, lokálně pokročilým nebo metastatickým NSCLC po selhání předchozí chemoterapie na bázi cis-platiny. Kromě toho schválila Americká správa pro potraviny a léky TAXOTERE® pro použití
- 4) v kombinaci TAXOTERE® + prednizon v terapii mužů s androgen-independentním (hormonálně refrakterním) metastatickým karcinomem prostaty.

**Zelený P.**

## ZÁPIS Z JEDNÁNÍ VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI KONANÉHO DNE 11. 10. 2005 VE ZLÍNĚ.

*Přítomni:* Vorlíček, Abrahámová, Cwiertka, Eckschlager, Fínek, Konopásek, Petruželka, Stáhalová, Stankušová, Vyzula, Žaloudík  
*Omluveni:* Aschermannová, Jelínková, Petera, Příbylová, Rob  
*Hosté:* Prof. Duda - předseda Sekce onkochirurgie ČOS,  
Dr. Zajíc (Radioterapie Holešov), Dr. Třásoň (Onkologie Kromě-  
říž), Dr. Doležal (VZP Zlín)  
Dr. Lux (krajský zdravotní rada Zlínského kraje), ing. Calábek (ředi-  
tel Baťovy krajské nemocnice),  
Dr. Kohoutek (primář onkologického centra Baťovy krajské nemocnice)

1. V úvodu jednání výboru ČOS pozdravili ředitel nemocnice ing. Calábek a krajský zdravotní rada Zlínského kraje dr. Lux. S koncepcí onkologické péče ve Zlínském kraji, kterou má garantovat Komplexní onkologická skupina (KOS) Zlínského kraje, seznámil přítomné dr. Kohoutek, primář onkologického centra Baťovy krajské nemocnice ve Zlíně. Jeho informací pak doplnil dr. Zajíc za holešovskou radioterapii, dr. Třásoň z onkologického pracoviště v Kroměříži a také dr. Doležal z VZP Zlín. KOS bude koordinovat onkologické centrum Baťovy krajské nemocnice ve Zlíně, a to v úzké spolupráci s radioterapií v Holešově, kde je instalován LINAC, a ve spolupráci s onkologickými pracovišti v ostatních okresech kraje. Vedení Zlínského kraje se živě zajímá o další rozvoj onkologické péče a kapacit pro radioterapii. Zlínský kraj již před dvěma lety jmenoval v základních oborech krajské konzultanty a jejich poradní týmy, což se ukázalo jako velmi prospěšné při strukturování sítě zdravotnických zařízení. Prof. Žaloudík upozornil, že onkologii by prospělo také konstituování ordinářů pro onkologii v chirurgických oborech. Následně proběhla obecnější diskuse zúčastněných o racionální struktuře interní onkologické, onkochirurgické a radioterapeutické péče v ČR.

2. Doc. Vyzula informoval o jednání o stavu onkologické péče, organizovaného europoslanci, jehož se zúčastnil v Bruselu 15.9.2005. Podobného jednání o stavu onkologické péče v ČR, SR a Polsku, které organizovali britští experti z Imperial College v Londýně 30.9.2005 se zúčastnili členové výboru Petruželka, Rob, Vyzula a Žaloudík.

3. Prof. Žaloudík informoval o dalším využívání SVOD. Epidemiologická je veřejně k dispozici na [www.cba.muni/svod](http://www.cba.muni/svod). Ve spolupráci s hematoology dochází k úpravě hematoologických diagnóz ve SVOD, neboť sběr dat u těchto diagnóz nebyl v NOR po celá desetiletí dořešen specifickou hlášenkou a relevantní jsou tedy zřejmě jen údaje o incidenci a mortalitě hematoologických diagnóz. Naléhavé je dále organizační uchopení NOR/SVOD ve výstupech do zahraničí, a to také v přípravě na Eurocare IV. Nelze opakovat situaci, která vznikla při předávání dat v roce 2002 bez autorizace ČOS do Eurocare III. NOR je v zahraničí od té doby prezentován zkráceně a chybně je uváděno, že ČR nemá celoplošný registr. Není jasné, kdo za předávání dat bez odborné autorizace, včetně komentářů, nese odpovědnost (ÚZIS?). Dr. Stankušová upozornila na skutečnost, že i v současnosti vycházejí údaje ÚZIS o onkologické péči vydávané mimo NOR, které nejsou relevantní. Výbor ČOS došel k jednomyslnému závěru, že trvá na tom, že veškerá onkologická data vydávaná a komentovaná navenek musejí být autorizována ČOS, za zajištění tohoto požadavku u ÚZIS odpovídá předsedkyně NOR doc. Abrahámová.

4. Byla schválena 26-ti členná Rada odborných garantů SVOD ve složení:  
Abrahámová (Rada NOR a ČOS), Aschermannová (ČOS), Bourek (CKZ SZÚ), Březovský (MZd), Cwiertka (ČOS), Dušek (CBA MU), Fínek (ČOS), Holoubek (Recetox), Indrák (ČHS), Juříčková (ÚZIS),

Kubásek (SVOD-web portál), Langhammer (ÚZIS), Matýšek (ČSÚ), Mihál (PS ČOS), Mužík (CBA MU), Novák (Rada NOR), Pecen (statistik), Petera (SROBF), Petruželka (ČOS), Rolenc (ČSÚ), Starý (PS ČOS), Šmelhaus (PS ČOS), Štěrba (PS ČOS), Vorlíček (ČOS), Vyzula (ČOS a MOÚ), Žaloudík (ČOS a MOÚ)

5. O činnosti Sekce onkochirurgie (SOCH) referoval její předseda prof. Duda. SOCH má v současné době 65 registrovaných členů. V roce 2005 vyšel společným úsilím onkochirurgů překlad německé monografie Onkologická chirurgie v nakladatelství Grada. Prof. Duda věnoval jeden výtisk této knihy předsedovi ČOS prof. Vorlíčkovi pro potřeby výboru ČOS.

Onkochirurgická odborná setkání jsou nyní pravidelně každoročně organizována v rámci BOD. Jsou pořádána i další specializovaná setkání onkochirurgů jako například v říjnu 2005 při konferenci miniinvazivní chirurgie v Ostravě. Onkochirurgická problematika byla také na programu mezinárodního kongresu IASG v Praze v září 2005, jehož prezidentem byl prof. Ryska, vědecký sekretář SOCH.

Onkochirurgové cítí naléhavou potřebu více spolupracovat s onkology především na úseku vzdělávání, při spoluúčasti na vzdělávacích kurzech i při zkouškách onkologů. Při plánované novelizaci Zákona 95/2004 je třeba prosadit ustanovení funkční nadstavbové specializace v onkologii pro řadu chirurgických oborů. Onkochirurgové pak přirozeně musejí při těchto specializačních zkouškách participovat jako školitelé i examinátoři.

6. Výbor ČOS byl seznámen s finální verzí formuláře Deklarace KOC/KOS s žádostí o garanci ČOS, která bude rozeslána členům ČOS, vyvěšena na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz) a zveřejněna cestou Medical Tribune a Zdravotnických novin. Uzávěrka bude 30.11.2005. Garantované KOC/KOS se stanou základem struktury sítě onkologické péče o nemocné se solidními zhoubnými nádory. Formulář je uveden v příloze.

7. Doc. Vyzula a prof. Žaloudík za Organizační výbor BOD v MOÚ seznámili členy výboru s návrhem témat pro XXX. BOD, které se budou konat 11.-13.5.2006. Schválená verze témat je uvedena v příloze.

8. Doc. Abrahámová informovala, že elektronická hlášenka zhoubného novotvaru byla ještě upravena podle připomínek a s její pilotní realizací se počítá na pracovištích, která projevila zájem o počátku r. 2006. Jde o FN Olomouc, FN Brno, FTN Praha a MOÚ Brno. Do konce roku má být připravena metodika pro aplikaci elektronické verze hlášenky.

9. Prof. Vorlíček informoval, že na podporu Národního onkologického programu, vyslovenou veřejně při tiskové konferenci prezidentem ČR Václavem Klausem při setkání se zástupci výboru ČOS Vorlíčkem, Abrahámovou a Vyzulou dne 29. 9. 2005 bylo zaznamenáno asi 360 ohlasů v médiích.

10. Výbor ČOS převzal jako každoročně zástítu nad konferencí klubu mladých onkologů plánovanou na 16.-18.6.2006 do Hotelu Medlov na Fryšavě.

11. Výbor ČOS vyslovil souhlas s přijetím nových členů: Mikulcová (Brno), Směkalová (Nové Město na Moravě), Weiner (Jindřichův Hradec), Rovný (Brno), Filipenský (Brno), Bajčíková (Brno)

12. Prof. Eckschlager vznesl připomínku k redakci Klinické onkologie - autorům by měla být posílána potvrzení přijetí článku redakcí a poté zaslána také vyjádření recenzentů. Výbor ČOS s tímto názorem souhlasí.

Přílohy:

1. Formulář Deklarace KOC/KOS – žádost o garanci ČOS, (viz. str. 209),
2. Témata XXX. BOD 2006. (viz. str. 218)