

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ
IČO 444359

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

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

Sekretář redakce:
ing. Zdeněk Bouša

Grafická a technická úprava:
Bohuslav Havlíček

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

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

Expedici na základě roční objednávky
vyřizuje redakce

Ministerstvo kultury ČR
MK ČR 5158
ISSN 0862-495 X

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

INDEXED IN EXCERPTA MEDICA

ČASOPIS ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI
A SLOVENSKEJ ONKOLOGICKEJ SPOLOČNOSTI

THE JOURNAL OF THE CZECH AND SLOVAK
ONCOLOGICAL SOCIETIES

VEDOUcí REDAKTOR: REJTHAR ALEŠ

ZÁSTUPCE VEDOUcíHO
REDAKTORA: KOZA IVAN
VÝKONNÝ REDAKTOR: FAIT VUK

REDAKTOŘI:

MAYER JIŘÍ
ČOUPEK PETR
HÁJEK ROMAN
KOCÁK IVO
VALÍK DALIBOR
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

Přehled	
Klener P. Protinádorová chemoterapie pro 21.století	243
Původní práce	
Rotterová P., Nenutil R., Hanzelková Z., Helánová Š., Křen L., Chovanec J., Rotter L. Expres p16INK4a v dysplazích a nádorech děložního čípku	249
Hnilica K., Hnilicová H., Křížová E., Arenberger P. Negativní životní události a karcinom kůže	253
Dubská L., Sheard M. A. Apoptóza zprostředkovaná death receptory“ úloha FASL a TRAIL při smrti maligních buněk	257
Kocáková I., Vyzula R., Špelda S., Demlová R., Kocák I., Karásek P., Vetchá H., Kiss I. Chemoterapie raltitrexed a oxaliplatin ve druhé linii léčby metastatického kolorektálního karcinomu předléčeného kombinací fluorouracil/leukovorin ± irinotekan	265
Kazuistika	
Veselý K., Krpenský A., Jedlička V. Solitární fibrózní tumor plic	272
Sdělení	
Novotný J., Kleibl Z., Sýkora V., Zimovjanová M., Petruželka L. Projekt „DPD online“: možnosti predikce toxicity 5-fluorouracilu a jeho derivátů	276
Informace	
Geryk E., Holub J., Žáček V. Epidemiologická charakteristika zhoubného novotvaru prsu žen	256
- Brněnské onkologické dny v roce 2004	248
Rejtrík - jmenný a věcný ročníku časopisu č. 16	279
Onkologické společnosti	280

CONTENTS

Reviews	
Klener P. Anticancer chemotherapy for the 21ST century	243
Original publications	
Rotterová P., Nenutil R., Hanzelková Z., Helánová Š., Křen L., Chovanec J., Rotter L. The expression of P16INK4a in cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma	249
Hnilica K., Hnilicová H., Křížová E., Arenberger P. Negative life events and carcinoma of the skin	253
Dubská L., Sheard M. A. Death receptors-mediated apoptosis: role of FasL and Trail in cancer killing	257
Kocáková I., Vyzula R., Špelda S., Demlová R., Kocák I., Karásek P., Vetchá H., Kiss I. Raltitrexed and oxaliplatin as second line treatment of metastatic colorectal cancer pretreated with combined regimen fluorouracil/leucovorin ± irinotecan	265
Case Report	
Veselý K., Krpenský A., Jedlička V. Solitary fibrous tumor of the lung	272
Communication	
Novotný J., Kleibl Z., Sýkora V., Zimovjanová M., Petruželka L. Project „DPD online“: The possibility of toxicity prediction of 5-fluorouracil and its derivatives	276
Notification	
Geryk E., Holub J., Žáček V. Epidemiological description of women breast cancer	256
- Oncological Days in Brno in 2004	248
Register - nominal and factual journal of volume 16	279
Oncological association	280

PROTINÁDOROVÁ CHEMOTERAPIE PRO 21. STOLETÍ

ANTICANCER CHEMOTHERAPY FOR THE 21ST CENTURY

KLENER P.

1. INTERNÍ KLINIKA I.LF UK A ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVŇNÍ TRANSFÚZE, PRAHA

Souhrn: Přehled některých perspektivních metod pro léčbu nádorových onemocnění cílených na průběh signální transdukce. Pozornost je věnována zejména inhibitorům tyrozin kináz, modulátorům posttranslačních pochodů, induktorům apoptózy a antiangiogenním přípravkům. Jsou uvedeny možnosti jejich klinického využití.

Klíčová slova: molekulárně cílená terapie, inhibitory tyrozin kináz, induktory apoptózy, antiangiogenní přípravky

Summary: Review of some perspective methods for the treatment of cancer, targeted on signal transduction and other intracellular events. The author mentions particularly tyrosine kinase inhibitors, modulators of post-translational modification of proteins, inducers of apoptosis and antiangiogenic agents. Possible clinical applications are also presented.

Key words: molecular-targeted therapy, tyrosin kinase inhibitors, inducers of apoptosis, antiangiogenic compounds

Protinádorová chemoterapie se považuje od poloviny 60. let minulého století za jednu ze základních metod léčby nádorových onemocnění. Ačkoliv její zavedení zásadně změnilo neutěšenou prognózu mnoha nádorových onemocnění, přínos chemoterapie u některých nádorů s vysokou incidencí, jako je např. bronchogenní karcinom je značně problematický. Navíc je tato metoda provázána četnými nežádoucími účinky. Dále se ukázalo, že přes každoročně nově zaváděná cytostatika, jsou v podstatě možnosti dalšího posílení účinnosti chemoterapie prakticky vyčerpány (12). To vše vedlo ke značnému skepticizmu pro budoucí uplatnění této metody v onkologii. Předpovídalo se dokonce, že chemoterapie „nepřežije“ rok 2000. Navzdory těmto názorům se dnes ukazuje, že chemoterapie i ve své klasické podobě zůstane nejméně v prvním desetiletí nového tisíciletí naprosto nepostradatelnou součástí protinádorové léčby, i když se rysují nové léčebné možnosti. Pokroky molekulární biologie, genetiky a imunologie umožnily v posledním desetiletí poodhalit mechanismy, kterými dochází k transformaci normálních buněk a byly poněkud korigovány představy o patofyziologii nádorového procesu. Ukázalo se, že nadměrná proliferace není jediným atributem nádorové populace, ale že stejně významné jsou i další faktory jako je normální diferenciacie a normální intenzita apoptózy (2). Tyto poznatky otevřely nové cíle pro terapeutické zásahy (9,10,18,29).

V tomto krátkém sdělení není možné ani ve stručnosti podat přehled všech perspektivních léčebných metod uvedených na obrázku. Omezím se pouze na modalitu, kterou by bylo možno s jistotou rezervou označit jako „intracelulární chemoetapii“, tj. použití různých látek, často nízkomolekulárních sloučenin, k ovlivnění nitrobuněčných pochodů a pochodů umožňujících invazi, metastazování a angiogenezi.

Nitrobuněčné pochody jsou značně složité a na velmi zjednodušeném schématu na obr. 1 vidíme, že podnět ke spuštění kaskády nitrobuněčných pochodů přichází v podobě růstového faktoru, který po vazbě na specifický receptor zahájí řetězec dalších změn, jež vyústí v abnormální transkripci, inhibici apoptózy a ve stimulaci proliferace, angiogeneze a metastazování.

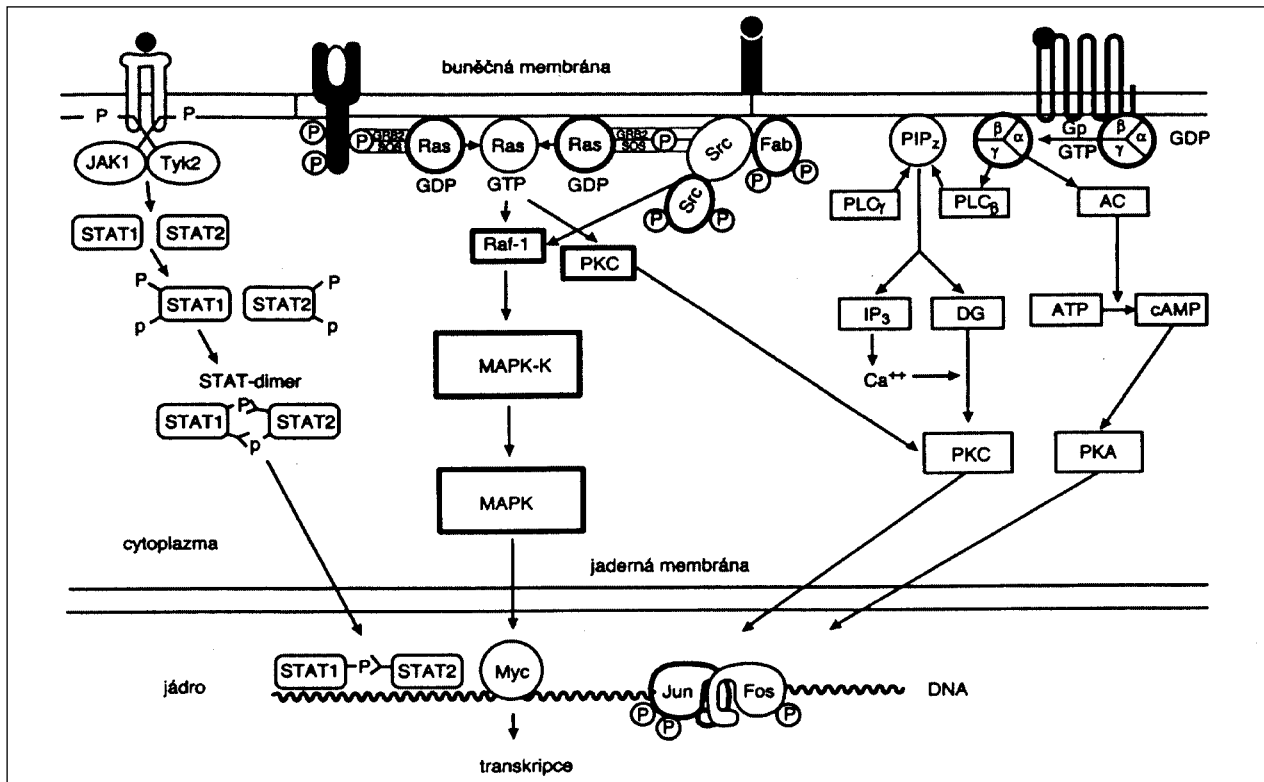
Výzkum terapeutických cílů se tedy zaměřuje na jednotlivé etapy zmíněných nitrobuněčných pochodů (tab. 1). Tučně zvýrazněné cíle se v současné době jeví jako nejvýznamnější a již koncem roku 2001 bylo připraveno více než 300 látek zaměřených na tyto cíle, z nichž u třetiny bylo již zahájeno klinické zkoušení a 15 z nich se dostalo dokonce do 3. etapy klinických zkoušek a jsou k dispozici jako obchodní přípravky.

K inhibici růstových faktorů a k *inhibici receptorů pro růstové faktory* se využívá především imunologických mechanismů resp. monoklonálních protilátek. Generické názvy jsou tvořeny koncovkou mab. Tab. 2 ukazuje přehled testovaných nebo již v klinické praxi používaných protilátek. Inhibici růstových faktorů působí chemoterapeutikum suramin a z monoklonálních protilátek bevacizumab, což je protilátka proti VEGF. Zkouší se u různých nádorů, zejména u karcinomu prsu rezistentního na hormonální léčbu, u adenokarcinomu ledviny, u nádorů prostaty. V ČR se již na řadě pracovišť používá trastuzumab (Herceptin), protilátka proti receptoru HER-2. neu, účinná v léčbě karcinomu prsu. V zahraničí probíhají studie II. a III. fáze klinického zkoušení s cetuximabem, protilátkou proti receptoru pro EGF, u NSCLC a některých dalších epitelálních nádorů. Jen pro informaci uvádím ještě další monoklonální protilátky, které nejsou orientovány proti receptorům, ale proti jiným strukturám. U hematologických malignit je to celá škála protilátek buď chimérických nebo humanizovaných, samotných nebo s navázaným radionuklidem či cytotoxickou látkou. U solidních nádorů se zkouší oregovomab pro léčbu ovariálních karcinomů, edrecolomab u kolorektálních karcinomů.

Velmi intenzivně studovanou oblastí je **inhibice signálního přenosu**. Zde se nabízí větší počet možností zásahu v celém průběhu transdukční kaskády (tab. 3). Nejvíce zkušeností doložených výsledky klinických studií je s *inhibitory receptorových tyrozin kináz*. Ty mohou účinkovat dvojitým mechanismem. Buď blokují aktivaci (fosforylaci) proteinkináz jako např. biflavonoidy (kvercentin, genistein, erbstatin, tyrfostiny), účinnější je však inaktivace (defosforylace), kterou působí různé nízkomolekulární sloučeniny. Generické názvy inhibitorů nesou koncovku nib. V ČR se již klinicky používá imatinib (Glivec)- STI-

Obr. 1.: Zjednodušené schéma transdukční kaskády.

Po navázání růstového faktoru na membránový receptor se podle druhu receptoru aktivuje několik možných cest signálního přenosu. Konečné produkty (proteiny STAT, MPK=mitogen activated proteinkináza, PKC = proteinkináza C nebo PKA = proteinkináza A) indukují transkripční pochody.



571, derivát 2-fenylamidopyridinu. Inhibuje bcr-abl tyrosinkinázu a účinně potlačuje proliferaci buněk exprimujících bcr-abl. Bcr-abl tyrosinkináza váže ATP a přenáší fosfát na tyrozinové zbytky různých substrátů, což působí excesivní proliferaci myeloidních prekursorů. Imatinib vazbu ATP blokuje a tím

i fosforylaci a aktivitu kináz potřebných pro proliferaci. Stal se účinným lékem CML, novou indikací jsou gastrointestinální stromální tumory. Na některých pracovištích v ČR se zkouší gefitinib (Iressa), který blokuje receptorové tyrosinkinázy EGFR. Blokáda intracelulární domény receptoru zastaví aktivaci sig-

Tab. 1: Různé možnosti cílené protinádorové léčby.

1. Inhibice růstových faktorů
2. Inhibice receptorů pro růstové faktory
3. Inhibice signálního přenosu
4. Inhibice telomerázy
5. Inhibice regulačních proteinů buněčného cyklu
6. Inhibice transkripce
7. Inhibice proteasomu
8. Indukce apoptózy
9. Inhibice angiogeneze
10. Inhibice metastazování

Tab. 2: Inhibice receptorů pro růstové faktory.

Gener. název	obchodní přípravek	cílová struktura	použití
trastuzumab	Herceptin	HER-2-neu	karcinom prsu
cetuximab	Erbix	EGFr	NSCLC, ORL
bevacizumab	Avastin	VEGF	různé nádory
rituximab	Mabthera	CD-20	NHL
ibritumombab	Zevalin	(⁹⁰ Yt) CD-20	NHL
tositumomab	Bexxar (¹³¹ I)	CD 20	NHL
epratuzumab		CD-22 human.	NHL
apolizumab		HLA-DR	NHL
alemtuzumab	MabCampath	CD-52	CLL
gemtuzumab	Mylotarg	CD 33	AML
oregovomab	Ovarex	CA-125	Ca ovaria
edrecolomab	Panorex		kolorektum

Tab. 3: Inhibice signálního přenosu a inhibice proteasomu.

Generický název	obchodní přípravek	indikace
Inhibice tyrosinkináz		
imatinib	Glivec	CML, GIST
gefitinib	Iressa	NSCLC, ORL
erlotinib	Tarceva	NSCLC
semanaxib	(SU-5416)	
Inhibice přenosu zprostředkovaného ras proteiny (inhibitory farnesyltransferázy)		
onafarnib	Sarasar	NSCLC.
tipifarnib	Zarnestra	AML
ISIS 2503		
lovastatin		
Inhibice proteinkinázy A		
GEM-231	Hybridon	
Inhibice proteinkinázy C		
staurosporin		
bryostatín		
ISIS 3521	Afinitac (antisense)	
Inhibice MAP kinázy		
depsi-peptid	inhibuje histidin deacetylázu	
trichostatin		
trapoxin		
Inhibice proteinkinázy m-TOR		
rapamycin		
CCI- 799		
Inhibice proteasomu		
bortezomib	Velcade	mnohočetný myelom, NHL

Tab. 4: Induktory apoptózy.

Generický název	obchodní přípravek	zkoušené indikace
TRAIL		
oblimersen	Genasense	NHL, NSCLC, prostata, CLL
arsentrioxid	Trisenox, Amitriol	APL, myelom, MDS
thapsigarin		
exisulind	Aptosyn	
apomin		
SAHA (suberoyl hydroxamid acid)		
salicin		
silandefil	Viagra	

nalizační kaskády bez ohledu na způsob aktivace receptoru. Gefitinib jeví účinnost zejména u NSCL a nádorů ORL oblasti, ale i u jiných epiteliálních nádorů. Expres EGFR je totiž vysoká u různých dalších nádorů. Selektivním inhibítorem EGFR je též erlotinib, jehož indikace jsou analogické. Zkouší se u nádorů pankreatu, u gliomů, karcinomu prsu a u nádorů ORL oblasti. Zdá se, že velmi výhodná je kombinaci s klasickými chemoterapeutiky, zejména s taxany, popřípadě s radioterapií (5). Semaxanib je inhibitor receptorových kináz VEGF a bude o něm ještě zmínka. Všechny zmíněné inhibitory tyrosinkináz jsou nízkomolekulární sloučeniny.

Významné postavení v signálním přenosu mají proteiny ras, které mají zásadní význam pro mitogenní stimulaci. Bylo prokázáno, že mutace onkogenu ras se uplatňuje v patogenezi většího počtu nádorů. Ras kaskáda aktivuje nukleární onkogeny (fos, jun aj.) regulujících buněčnou proliferaci. Aktivace ras závisí na lipidaci (farnesylyci nebo geranylgeranylaci) tohoto proteinu, která je zprostředkována enzymaticky farnesylyltransferázou. Její inhibice zablokuje funkci ras proteinu a tím i hlavní transdukční kaskádu. Proto se hledaly nejučinnější přípravky působící inhibiči farnesylyltransferázy. Bylo zkoušeno téměř 20 inhibitorů, z nichž nejučinnější se zdají již komerčně dostupné inhibitory. Je to onafarnib a tipifarnib. Jejich účinnost potence současné léčba docetaxelem nebo gemcitabinem. Mezi nespecifické ras-inhibitory patří lovastatin (mevinolin) používaný k léčbě hypercholesterolemie. Je experimentálně doloženo, že lovastatin inhibuje ras-transformovanou buňku karcinomu prostaty a glioblastomu in vitro. K průkazu cytotoxického účinku by však bylo zapotřebí minimálně 15 x vyšších dávek, než jaké se používají k léčbě hypercholesterolemie. Takové dávky jsou však nad hranici tolerance.

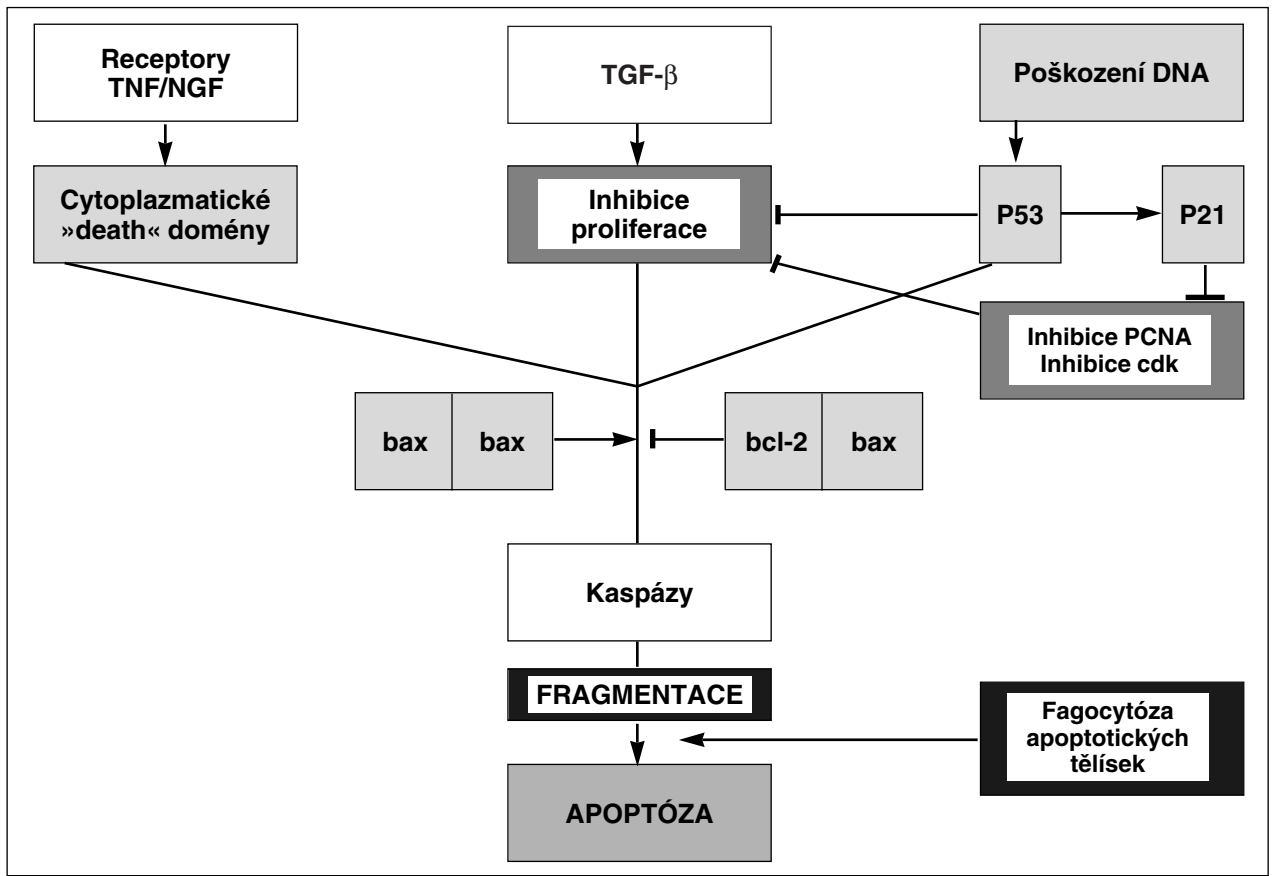
V preklinickém i klinickém zkoušení jsou ještě další inhibitory signálního přenosu, jako jsou inhibitory proteinkinázy A (8-chloro c-AMP), proteinkinázy C (lysofosfolipidy), MAP kinázy a zejména inhibitory proteinkinázy m-TOR (mammalian target of rapamycin). M-TOR je proteinkináza podílející se na transkripčních a translačních pochodech. Její inhibice omezuje proliferativní aktivitu. Zkoušenou látkou je rapamycin nebo jeho syntetický derivát CCI-799. Povzbudivé výsledky s inhibitory proteinkináz přiměly některé farmaceutické firmy k jejich komerční výrobě, jak je patrné z uvedených obchodních názvů. Zkušenosti jsou však dosud omezené. Stejně omezené jsou i zkušenosti s inhibitory telomerázy, s inhibitory transkripce a regulačních proteinů buněčného cyklu. Průchod buněčným cyklem závisí na vzájemných interakcích většího počtu signálních molekul, resp. na rovnováze mezi pozitivními a negativními regulátory cyklu. Je evidentní, že mnohostranné jsou i možnosti modulace tohoto procesu. Zájem se soustřeďuje zejména na inhibitory CDK (cyklindependentních kináz). Do této kategorie patří u nás studovaná purinová analoga olomoucín, bohemín a roskovitín. Inhibitory regulačních proteinů buněčného cyklu jsou zatím v preklinickém testování. Naproti tomu v klinické praxi se již začínají uplatňovat inhibitory proteasomu. Proteasom je makromolekulární proteázový komplex obsažený ve všech eukaryotických buňkách. Hraje klíčovou roli v degradaci intracelulárních regulačních

proteinů, které řídí buněčný cyklus, v aktivaci transkripčních faktorů a v inhibici lokomoce buněk. Je nutný pro aktivaci NF-kB o němž bude ještě zmínka, degraduje proteiny p53, p21 a p27. Inhibice proteasomu brzdí růst, metastazování a angiogenezi. Zatím jediným v klinické praxi používaným inhibítorem je bortezomib-Velcade (PS 341, boronic acid dipeptid), účinný v léčbě mnohočetného myelomu a indolentních NHL. Podává se v dávce 1,5 mg/m² iv. Působí down-regulaci adhezivních molekul, snižuje sekreci cytokinů a má též proapoptotické účinky. Dobře se toleruje, z nežádoucích účinků se popisu je trombocytopenie a mírná neurotoxicita a rash.

Značná pozornost je věnována **induktorům apoptózy**. Jak již jsem se zmínil, na rozdíl od dřívějších představ, že růst nádoru je dán především intenzitou proliferace, je dnes zřejmé, že neméně významný podíl má ztráta schopnosti programové smrti buňky tj. apoptózy. Apoptóza je proces při kterém buňka z důvodu „vyššího zájmu“ spáchá na příslušný signál sebevraždu. Signály indukující apoptózu mohou být exogenní nebo endogenní. Mezi exogenní signály patří např. glukokortikoidy, a některé cytokiny (TGF beta) a zejména rodina cytokinů TNF a ligand receptoru fas. Receptory těchto signálních molekul nesou ve své cytoplasmatické části tzv. smrtící domény („death domain“). Dalšího přenosu signálu se pak účastní proteiny sdružené s touto doménou. Hlavním endogenním signálem je alterace proteinu p53, která bývá vyvolána poškozením DNA. Protein p53 indukuje expresi proteinu p21, inhibujícího cyklin dependentní kinázy. Mechanismus indukce apoptózy spočívá v sekvenci reakcí, které jsou znázorněna na obr. 2. Všechny apoptotické signály se spojí v jednu signální dráhu jejímž klíčovým bodem je tzv. bax-bcl reostat. Proteiny rodiny bax apoptózu podporují, proteiny rodiny bcl-2 apoptózu tlumí. Vysoká koncentrace bcl-2 apoptózu zablokuje, jak je tomu např. u lymfoproliferačních onemocnění. Vlastními efektoři jsou pak aktivované proteázy z rodiny ICE (interleukin 1-beta converting enzym) nazývané kaspázy. Kaspázy postupně štěpí enzymy nutné pro reparaci DNA a aktivují endonukleázy, jež se účastní štěpení DNA. Při znalosti mechanismu apoptózy je zřejmé, že se lze terapeuticky zaměřit zejména na tři cílové struktury. Aktivaci receptorů nesoucích smrtící domény (rodina receptorů TNF a fas), na omezení účinků bcl-2 proteinu a na aktivaci kaspáz (tab. 4). Do první kategorie patří TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand). Byl připraven rekombinantní technikou a jeho proapoptotický účinek se týká převážně nádorových buněk, nikoliv buněk normálních. Selektivita účinku se vysvětluje přítomností specifických receptorů (decoy receptors) na normálních buňkách, které TRAIL vychytají. K inhibici proteinu bcl-2 se využívá genového inženýrství. Byl připraven protisměrný oligodeoxynukleotid proti bcl mRNA – oblimersen (Genasense). Výrazně snižuje koncentraci bcl-v nádorech. Výhodná je jeho kombinace s taxany nebo s dakarbazinem. Studie III. fáze probíhají u myelomu, CLL, melanomu a NSCLC. Aktivace kaspáz nastává nepřímo prostřednictvím TRAILu, nebo účinkem cytochromů (především cytochromu c. V experimentu působí aktivaci kaspáz řada látek, např. PUFA (polyunsaturated fatty acids). Některé induktory apoptózy mají komplexní, nebo dosud nepřesně určené mechanismy účinku. Patří

Tab. 5: Mechanismus účinku arsentrioxidu.

indukuje apoptózu	
aktivuje kaspázy	zvýšuje intracelulární koncentraci RONS
	působí uvolnění cytochromu c
zvýšuje expresi bax-proteinu	omezuje účinnost bcl-2
inhibuje NF-kB	snižuje výdej adhezivních molekul
	omezuje sekreci IL-6
	poškozuje cytoskeletální proteiny
má antiproliferační účinky	zvýšuje expresi inhibitorů cdk (p21, p27)
má antiangiogenní účinky	inhibuje VEGF



mezi ně např. arsentrioxid. Mechanismy jeho účinku shrnuje tab. 5. Apoptózu podporuje hned několika mechanismy. Je to aktivace kaspáz k níž dochází metabolickou aktivací glutathion transferázy a glutathion peroxidázy, které detoxikují volné kyslíkové radikály, tzv. RONS. Výsledkem je vznik H_2O_2 , což vede k uvolnění cytochromu z mitochondrií a k aktivaci kaspáz. Dále zvyšuje expresi bax, inhibuje NF- κ B. NF- κ B je antiapoptotický transkripční faktor indukující expresi regulátorů buněčného cyklu a genů imunitní odpovědi i expresi adhezních molekul. Vysoká aktivita tohoto faktoru byla zjištěna u buněk karcinomu prsu, kolorekta, ovaria, u některých leukémií a lymfomů. Jeho inhibice zvyšuje senzitivitu k chemoterapii a k radioterapii. Proapoptotický účinek některých nesteroidních antirevmatik např. derivátu sulindaku exsulisindu (Aptosyn), resveratrolu a flavonoidů se přikládá inhibici NF κ B těmito látkami. Kromě toho má arsentrioxid diferenciační účinky, antiproliferační účinky se vysvětlují zvýšenou expresí inhibitorů cdk (p21 a p27). Konečně snižuje též expresi VEGF a má tedy rovněž antiangiogenní účinky. Hlavní indikací je akutní promyelocytární leukémie, kde se uplatňuje převážně jeho diferenciační účinek. Příznivé výsledky jsou referovány při léčbě mnohočetného myelomu (zejména v kombinaci s thalidomidem), zkouší se u MDS. Mezi induktory apoptózy patří též antagonisté pohlavních hormonů (antiestrogeny, antiandrogeny, antiprogestiny) a agonisté retinoidů a deltanoidů. Také interferon alfa může indukci exprese Fas a FasL podporovat apoptózu. Kromě zmíněných induktorů apoptózy bylo zjištěno, že i některá cytostatika (např. paklitaxel) fosforylují bcl-2 protein a tím omezují jeho antiapoptotický účinek. Zajímavé může být zjištění, že kanabinoidy, používané sporadicky jako antiemetika, způsobují in vitro apoptótu transformovaných buněk nervové tkáně, zejména buněk maligního gliomu. Tento účinek se zdá selektivní, u netransformovaných buněk apoptózu neindukují. Poslední oblastí o které se dnes zmíním je **inhibice angiogene-**

neze. Jen ve stručnosti připomenu, že novotvorba cév má zásadní význam pro růst nádoru, neboť jen ložisko do velikosti 1–2 mm³ může být vyživováno a zásobeno kyslíkem prostou difúzí. Pro další růst nádor nutně potřebuje přísun kyslíku cévami, jejichž novotvorbu označujeme jako angiogenezi. Angiogeneze je vícestupňový proces, který bývá označován jako angiogenní kaskáda, jež má 3 etapy. Po disoluci bazální membrány nastává proliferace a migrace endotelií a poslední etapou je morfogeneze nové cévy. Celý proces je regulován souborem humorálních působků, z nichž některé angiogenezi podporují, jiné tlumí. Za fyziologických okolností jsou v rovnováze. Ztráta rovnováhy mezi stimulatory a inhibitory se projeví poruchou, jejíž charakter závisí na tom, která ze skupin regulátorů nabyla vrchu. Angiogenní a antiangiogenní faktory jsou shrnuty v tab. 6, nejvýznamnější z nich je VEGF, resp. rodina VEGF. Z antiangiogenních působků se považuje za nejvýznamnější trombospondin, který je pod kontrolou supreso-

Tab. 6: Přehled angiogenních a antiangiogenních faktorů.

Angiogenní f.	Antiangiogenní f.
rodina VEGF	trombospondin
FGF	angiostatin
HGF	endostatin
matrixmetaloproteázy	TGF-beta
stromelyzin	PF-4
kolagenázy	inerferona alfa a beta
gelatinázy	inhibitory proteolýzy
angiopoetiny	TIMPs
angiopoetin-1	PAI (plasminogen activator)
angiogenin	
PDGF	
integriny	

Tab. 7: Různé metody k potlačení angiogeneze.

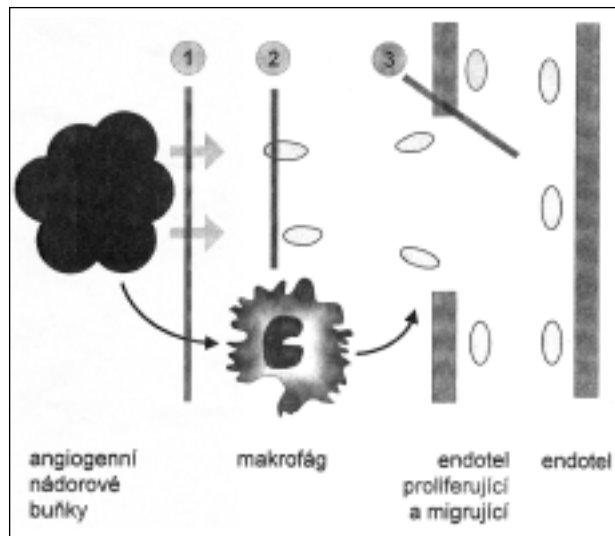
<p>Blokáda angiogenních faktorů</p> <p>suramin</p> <p>protilátky proti VEGF (bevacizumab)</p> <p>protilátky proti receptoru pro VEGF</p> <p>inhibitory proteinkináz receptoru pro VEGF (semaxanib, SU6668, ZD4190)</p>
<p>Aplikace přirozených antagonistů</p> <p>ABT-510 (trombospondin mimetic peptid)</p> <p>neovastat</p> <p>angiostatin</p> <p>endostatin</p> <p>rekombinantní PF4</p>
<p>Inhibice endoteliální proliferace</p> <p>fumagilin</p> <p>AGM-1470</p> <p>interferony alfa a beta</p> <p>thalidomid</p> <p>linomid</p>
<p>Stabilizátory bazální membrány</p> <p>prinomastat</p> <p>marimastat</p> <p>batimastat</p>

rového genu p53 a při jeho alteraci časté u nádorových onemocnění ztrácí svoji funkci. K omezení angiogeneze existuje tedy několik cest (obr.3). Buď (1) potlačit angiogenní faktory, nebo podpořit faktory antiangiogenní, (2) inhibovat endoteliální proliferaci, nebo (3) potlačit syntézu enzymů s degradačním účinkem na bazální membránu.

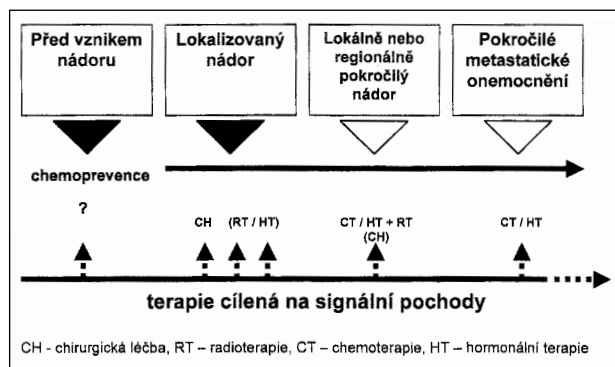
K inhibici angiogenních faktorů lze použít několik způsobů, které jsou shrnuty v tab. 7. Monoklonálními protilátkami lze přímo neutralizovat angiogenní VEGF, nebo jeho receptor. Účinnější se zdá inhibice receptorových kináz receptoru VEGF (semaxanib, SU 6668, ZD 4190). Blokádu angiogeneze působí i přirození antagonisté angiogeneze jako je trombospondin, angiostatin, endostatin, nebo rekombinantní destičkový faktor 4. Mezi inhibitory endoteliální proliferace patří interferony, kterých se s úspěchem používá k léčbě hemanangiomů. Extrakt z houby aspergillus fumigatus- fumagilin se v praxi neuplatní pro značnou toxicitu. Zato jeho syntetický derivát AGM 147 (angiogenesis modulator) byl s úspěchem použit u Kaposiho sarkomu. Zajímavou látkou je thalidomid. Jeho antiangiogenní účinky byly nepochybně příčinou malformací plodu, které způsobilo jeho podávání těhotným ženám. První klinické studie ukázaly příznivý účinek u karcinomu prostaty. Používá se též v léčbě hematologických malignit (u mnohočetného myelomu, u MDS), kde se využívá i některých dalších vlastností přípravku (inhibice TNF alfa). Stabilizace bazální membrány znesnadňuje invazi endotelii a proto může mít význam inhibice enzymů, které tuto membránu rozrušují. Tyto enzymy se souhrnně nazývají matrixmetalloproteázy (kolagenóza, matrixlyzin, stromelyzin). Inhibici těchto enzymů působí TIMPS, z přirozených inhibitorů se zkouší neovastat, purifikovaný extrakt ze žraločích chrupavek. Ačkoliv jeho hlavním účinkem je inhibice proteolytických enzymů (zejména MM2, MMP-9 a MMP 12) lze jej považovat za multifunkční antiangiogenní přípravek, neboť současně blokuje vazbu angiogenních faktorů na receptory. Nevýhodou přirozených inhibitorů je jejich relativně krátký poločas. Byla však připravena řada syntetických inhibitorů jako je marimastat, batimastat nebo prinomas-

Obr. 3: Možnosti inhibice angiogeneze.

(1) inhibice angiogenních faktorů, (2) inhibice endoteliální proliferace, (3) stabilizace bazální membrány- inhibice migrace endotelii.



Obr. 4: Možné uplatnění „cílené terapie“ v komplexní protinádorové léčbě. CH = chirurgická léčba, RT = radioterapie, CT = chemoterapie, HT = hormonální terapie.



tat. Jde o nízkomolekulární sloučeniny vázající zinek, nutný k aktivaci metaloproteáz. Definitivní místo uplatnění nových léčebných postupů se teprve hledá, je možné, že se uplatní ve všech fázích nádorového růstu, jak ukazuje obr. 4. Jestliže jsem v úvodu hovořil o neoprávněném skepticizmu v názorech na chemoterapii musím v závěru určitou míru skepticizmu připustit a to v představě, že zmíněné nové postupy najdou okamžitě uplatnění v klinické praxi a převratným způsobem změní naše léčebné možnosti. Svědčí pro to výsledky klinických studií, které u některých ze zmíněných léčebných způsobů nevyzněly přesvědčivě, i když experimenty naprosto jednoznačně prokázaly vynikající protinádorovou účinnost. Podobná zklamání se ovšem prožívala i při klinickém hodnocení některých klasických cytostatik a přesto se mezi nimi našly látky mimořádně účinné. To mě dovoluje končit optimisticky s nadějí, že z celé široké škály nových léčiv se mnohé stanou významným přínosem a přinesou větší nadějí na úspěšnou léčbu.

Podpořeno výzkumným záměrem MSM 111100004.

Literatura

1. Adams J.: Proteasome inhibition in cancer: development of PS-341. Semin.Oncol.2001, 28, 613-619
 2. Amit S.,Ben-Neriah Y.: NF-kB activation in cancer. Semin.Cancer biol. 2003, 13, 15.28.

3. Anderson KC.: Arsenic trioxide in multiple myeloma: Rationale and future directions. The Cancer Jomal 2002, 8, 12-24.
 4. Baldwin AS, Series introduction: The transcription factor NF-kB and human disease. J.Clin.Invest 2001, 107, 3-6.
 5. Brigitte BY,Bristow RG,Kim J. et al.: Combined-modality treatment of

- solid tumors using raditherapy and molecular targeted agents. J.Clin.Oncol. 2003, 21, 2760-2776.
6. Blagosklonny M.V.: Apoptosis, proliferation, differentiation: in search of the order. Semin.Cancer Biol. 2003, 13, 97-105
 7. Cohen GM: Caspases: the executions of apoptosis. Biochem J. 1997, 326, 1-16.
 8. Coultas L.,Strasset A.: The role of bcl-2 protein family in cancer. Semin.Cancer Biol. 2003, 13, 115-123
 9. Dalton WS. Cellular determinants of drug response provide new targets for cancer therapy. Curr.Opin.Oncol. 2000, 12, 54+542.
 10. Eckhardt SG, Eisenhauer E.,Parulekar WR.et al.: Developmental therapeutics: Successes and failures of clinical trial designs of targeted compounds. ASCO 2002, Educational book, 209-219.
 11. Folkman J.: Angiogenesis-dependent diseases. Semin.Oncol. 2001, 28, 536-542.
 12. Garret MD,Workman P.: Discovering novel chemotherapeutic drugs for the third millenium. Eur.J.Cancer 1999,3510-3530.
 13. Gillessen S.,Groettrup M,Cerny T: The proteasome, a new target for cancer therapy. Onkologie 2002, 25, 534-539.
 14. Grossbard MI (Ed): Monoclonal antibody-based therapy of cancer. Mercel Dekker, New York 1999.
 15. Grunvald V, Hidalgo M.: The epidermal growth factor receptor: A new target for anticancer therapy. Corr.Probl.Cancer 2002, 26,109-2164.
 16. Grunwald V.,Hidalgo M.: Development of the epidermal growth factor receptor inhibitor OSI-744. Semin.Oncol. 30, 3 (Suppl.6, 23-31.
 17. Hajdúch M,Muichálek J, Papajík T.et al.: Monoklonální protilátky v onkologii..Medifórum Praha 2000
 18. Herbst RS, Kim ES: Novel therapeutic options for non-small cell lung cancer. ASCO 2003-Educational book, 654-671.
 19. Hidalgo M,Rowinsky E.: The rapamycin-sensitive pathway as a target for cancer therapy. Onxcogene 2000, 19, 6680-6686.
 20. Karp JE,Kaufmann SH,Adjei A et al.: Current status of clinical trials of farnesyltransferase inhibitors. Curr.Opin.Oncol. 2001, 23, 470-476.
 21. Klener P.: Angiogeneze a nádorová onemocnění. Remedia, 2002, 12, 2-8.
 22. Leonard DM: Ras farnesyltransferase: A new therapeutic target. J.Med.Chem. 1997, 40, 2971-2990.
 23. Lin A, Karin M.: NF-kB in cancer: a marked target. Semin.Cancer Biol. 2003, 13, 107-114.
 24. Lundberg AS, Weinberg RA: Control of the cell cycle and apoptosis. Eur.J.Cancer 1999, 35, 531-539.
 25. Mendelsohn J,Baselga J.: Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer. J.Clin.Oncol. 2003, 21m 2787-2799.
 26. Miller WH, Schipper HM, Lee JS et al.: Mechanisms of action of arsenic trioxide. Cancer Res. 2002, 62, 3893-3903.
 27. Richardson PG, Barlogie B.,Berenson J.et al.: A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. N.Engl.J.Med. 2003, 348, 2609-2617.
 28. Rosen L.: Antiangiogenic strategies and agents in clinical trials. Oncologist 2000, 5, Suppl.1) 20-27.
 29. Rowinsky EK.: Challenges of developing therapeutics that target signal transduction in patients with gynecologic and other malignancies. J.Clin.Oncol. 2003, 21 (Suppl.15) 175-186-
 30. Sheridan JP,Masters SA,Pitti RM et al.: Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. Science 1997, 227, 818-821.
 31. Schmelzle T.,Hall M.: M-TOR, a central controller of cell growth. Cell 2000,103, 253-262.
 32. Soignet SL,Frankel SROV.,Doure D. et al.: United States multicenter study of arsenic trioxide in relapsed acute promyelocytic leukemia. J.Clin.Oncol. 2001, 19, 3852-3860.
 33. Stetler-Stevenson WG,Yu EA: Proteases in invasion: matrix metalloproteinases. Semin.Cancer Biol. 2001, 11, 143-152.
 34. Thomas DA,Kantarjian M.: Current role of thalidomide in cancer treatment. Curr.Opin.Oncol. 2000,12, 564-573.
 35. Wakeling AE: Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. Curr.Opin.Pharmacol. 2002, 2, 382-387.

informace

OZNÁMENÍ O KONÁNÍ BRNĚNSKÝCH ONKOLOGICKÝCH DNŮ V ROCE 2004

26.–28. května 2004

XXVIII. BRNĚNSKÉ ONKOLOGICKÉ DNY
XVIII. KONFERENCE PRO SESTRY A LABORANTY

Hlavní témata:

Diagnosticko-léčebné algoritmy a protokoly
Ošetrovatelská péče při podpurné léčbě

Středa 26. 5. 2004

- Diagnostická a prediktivní onkologie
- NOR pohledem lékařů z praxe
- Kurz v uroonkologii
- Stav programů onkoprevence v ČR
- Spolupráce chirurgů a histopatologů

Čtvrtek 27. 5. 2004

- Diagnosticko-léčebné algoritmy a protokoly – výsledky, kvalita, cena
- Kurz onkogynekologie
- Nádory v seniu: specifika onkogerontologie
- Novinky v onkoterapii

Pátek 28. 5. 2003

- Novinky v onkoterapii
- Kurz v invazivní radiologii nádorů

Čtvrtek a pátek 27. – 28. 5. 2004

- Konference pro sestry a laboranty
- Ošetrovatelská péče při podpurné léčbě
- Únava, anemie, výživa

Abstrakta

Obsažný abstrakt, plný text přednášky nebo posterů do rozsahu pěti stran manuskriptu (formát A4, 30 řádků, řádkování 1,5, velikost písma 11), bude součástí Edukačního sborníku BOD 2004 jako ucelené publikace s ISBN. Graf, tabulky a ilustrace, které budou posílány elektronickou poštou na disketě nebo e-mailem, je potřeba zaslat odděleně a uložit v samostatných souborech. Text lze zaslat na disketě nebo na e-mail: cechmanova@mou.cz, ve WORD 97, nejpозději do 15. března 2004.

Pro přehlednost, prosíme, následující strukturu textu:

- název práce, autorský kolektiv, pracoviště
- vlastní sdělení s výstižným závěrem

Místo konání: Hotel Voroněž, Křižkovského 47, Brno

Sekretariát organizačního výboru:

Eva Čechmanová
tel.: 543 132 450
fax.: 543 132 455
e-mail: cechmanova@mou.cz

Adresa:

Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno

Více informací najdete na webových stránkách: www.mou.cz

EXPRESSE P16INK4A V DYSPLÁZIÍCH A NÁDORECH DĚLOŽNÍHO ČÍPKU

THE EXPRESSION OF P16INK4A IN CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA AND INVASIVE CARCINOMA

ROTTEROVÁ P.¹, NENUTIL R.¹, HANZELKOVÁ Z.¹, HELÁNOVÁ Š.², KŘEN L.¹, CHOVANEC J.³, ROTTER L.³

¹ PATOLOGICKO-ANATOMICKÝ ÚSTAV, FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO

² ZÁKLADNA EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE, MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

³ GYNEKOLOGICKO-PORODNICKÁ KLINIKA, FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO

Souhrn.: *Východisko:* Za fyziologických okolností je produkt antionkogenu p16INK4a inhibítozem cyklin dependentních kináz a reguluje buněčný cyklus na přechodu z G0 do G1 fáze. Protein Rb, produkt retinoblastomového genu, v aktivní formě inhibuje transkripci p16. V dyspláziích a karcinomech děložního čípku papilomaviry transformují epitel mimo jiné inaktivací pRb onkoproteinem E7. V důsledku blokády funkce pRb se neefektivně zvedá hladina p16. *Soubor nemocných a metodika:* Vzhledem k zajímavosti této problematiky a jejímu potenciálu pro screening cervikálních prekanceróz, jsme imunohistologicky vyšetřili 56 biotických vzorků (konizáty, hysterektomie), z toho 10 CIN I-II, 30 CIN III, 8 spinocelulárních karcinomů, 2 adenokarcinomy hrdla a 6 případů s reaktivními změnami epitelu. Pomocí imunoblottingu jsme vyšetřili expresi p16 v buněčných liniích se známou funkcí Rb. *Výsledky:* Difúzní a kompletní pozitivita p16 byla prokázána ve všech CIN III a spinocelulárních karcinomech. CIN I-II byly částečně pozitivní v 7 případech a v adenokarcinomech byla exprese prokázána v 1 ze dvou případů. V buněčných liniích byl p16 prokázán pouze v buňkách s poruchou funkce Rb (HeLa a HS913T). *Závěr:* Naše studie potvrdila zvýšenou expresi p16INK4a u progredientních prekanceróz a karcinomů děložního čípku. Detekce p16 pravděpodobně nalezneme uplatnění v biotické diagnostice při stanovení okrajů konizátu a diferenciální diagnóze CIN oproti reaktivním atypii. Je perspektivní i v onkocytologické diagnostice pro diferenciální diagnózu lézí ASCUŠ, případně i automatizovaný screening nebo kontroly kvality.

Klíčová slova: cervix, dysplázie, karcinom, HPV, pRb, p16

Abstract: Background: The antioncogene p16INK4a inhibits cyclin-dependent kinases and represents a feedback regulation of the cell cycle. Protein Rb, the product of the retinoblastoma antioncogene, in its active form inhibits transcription of p16. In dysplasias and carcinomas of the uterine cervix the papillomaviruses transform the epithelium by inactivation of the pRb by oncoprotein E7, among others. Due to pRb inactivity the level of p16 protein in cells is increased. *Patients and Methods:* An immunohistochemical analysis of 56 cases of formalin-fixed, paraffin embedded samples of the uterine cervix (included cone biopsies and hysterectomies) was performed. The database included 10 cases of CIN I-II, 30 cases of CIN III, 8 invasive squamous cell carcinomas, 2 cases of endocervical adenocarcinoma and 6 cases of reactive epithelial changes. The immunoblotting of p16 was performed in cell lines with known function of Rb. *Results:* Diffuse and intensive positivity was found in all cases of CIN III and squamous cell carcinomas. Cases of the CIN I-II were partially positive in 7 cases and positivity was found in one adenocarcinoma. In cell lines, the p16 expression was restricted to cells with impaired Rb (HeLa and HS913T). *Conclusion:* Our study confirmed increased expression of p16INK4a in high-grade precancerous lesions and in carcinomas of the uterine cervix. The detection of p16 seems to be valuable tool in the surgical pathology of the uterine cervix: possible evaluation of the surgical margins, the differential diagnosis regarding reactive atypia, and it is also perspective in oncocytologic diagnosis regarding differential diagnosis of the ASCUS, or possibly can be used in automated screening or quality assessment.

Key words: uterine cervix, dysplasia, carcinoma, HPV, pRb, p16

Úvod

Problematice dysplázií a karcinomu děložního čípku je již od dob Papanicolaou věnována velká pozornost v gynekologické onkologii. Přesto, že díky jejich lokalizaci je možná účinná prevence výskytu invazivních nádorů, zůstávají stále velkým zdravotnickým problémem. Pomocí vysoce senzitivních metod detekce se zjistilo, že drtivá většina těchto lézí je kauzálně sdružena s přítomností papilomavirové (HPV) infekce (1). Přes nadějně výsledky v oblasti imunizace proti HPV (2), která by se mohla v budoucnosti stát účinnou primární prevencí, zůstává zatím depistáž cervikálních prekanceróz s odběrem onkologické cytologie a vyhodnocením dle klasifikačního systému Bethesda (3) nadále zlatým standardem v této oblasti.

Vyhodnocení onkologické cytologie je poměrně pracné a screening jako celek je zatížen i nezanedbatelným procentem falešně negativních i pozitivních výsledků. Proto by byla žádoucí komplementární vysoce senzitivní, specifická a spolehlivá metoda k včasné detekci progredientních prekanceróz. Nabí-

zející se průkaz papilomavirové DNA, je však zatížen falešně pozitivními výsledky (4) a obtížností zavedení do rutinního screeningu i vzhledem k vysoké ceně. Určitým metodickým pokrokem je zavedení tzv. tekutých cytologických vzorků (liquid based smears). Jedná se o odběr materiálu z děložního čípku kartáčkem do tekutého média se směsí alkoholů, ve kterém se po určité době buňky fixují a jsou centrifugovány na sklíčka. Výhodou tohoto postupu mimo jiné je, že k rutinnímu vyhodnocení se použije pouze část vzorku a u zbytku je možné další zpracování (např. imunocytochemické metody). Díky tomu připadá v úvahu diagnostické využití proteinových markerů. Proteiny sdružené s proliferací (Ki67, Mcm5, Cdc6) se však neosvědčily vzhledem k nízké specificitě, protože se vyskytují ve všech proliferujících buňkách (5) a rozdíl v jejich expresi mezi normálním epitelem a prekancerózou je pouze kvantitativní. Nadějnější výsledky poskytuje stanovení proteinu p16, funkčně svázaného s regulací buněčného cyklu prostřednictvím proteinu Rb.

Retinoblastomový (Rb) gen je klasický antionkogen, jeho mutace je typicky spojena s výskytem retinoblastomu a části osteosarkomů. Jeho produkt, protein Rb (pRb), je jaderný fosfoprotein, který se dle stadia buněčného cyklu se nachází v různých fosforylovaných formách. V G0 fázi je Rb protein převážně v nefosforylované formě a působí jako supresor buněčného dělení vazbou dalších proteinů, zejména transkripčního faktoru E2F. Stimulací buněk růstovými faktory je pRb inaktivován řadou fosforylací a tyto buňky pak mohou přejít z G1 do S fáze. (6).

p16 (p16INK4a) je popisován jako antionkogen, který je inaktivován mutacemi, delecí nebo hypermetylací u celé řady malignit (např. melanom, karcinom močového měchýře a další) (6). Jeho produkt účinkuje jako inhibitor cyklin dependentních kináz, zejména cyklin dependentní kinázy 4 (CDK 4). p16 odbourává komplex cyklin D/CDK4 které inaktivují pRb fosforylací. Naopak aktivní forma pRb inhibuje transkripci p16. Funkcí systému pRb/p16 je tedy regulace buněčného cyklu na přechodu z G1 do S fáze se zpětnou vazbou.

HPV (lidské papilomaviry) jsou značně rozšířené a výrazně epitelotropní DNA viry. Hrají zásadní roli v patogenezi většiny nádorů děložního čípku a jejich prekurzorových lézí. Po integraci virové DNA do genomu hostitelské buňky dochází k interakci virových onkoproteinů E6 a E7 vysoce rizikových HPV typů s produkty onkosupresorických genů (p53, p105Rb) a jejich funkční inaktivaci. E7 zde jednak uvolňuje transkripční faktor E2F z vazby na pRb, jednak zrychluje degradaci pRb a příbuzných proteinů (7). Již v roce 1995 byla zaznamenána (8), tehdy nevysvětlitelná nízká hladina komplexů cyklin D/CDK4 v buňkách s mutovaným nebo viry inaktivovaným Rb. Důvodem je později zjištěná vysoká exprese inhibitoru cyklin-dependentních kináz p16 (5) v buňkách s inaktivací Rb, a to zejména v HPV transformovaném epitelu, včetně dysplázií děložního čípku (9). Nefunkční pRb v těchto lezích umožňuje nekontrolovatelnou proliferaci a nepotlačuje ani transkripci p16. V cervikálních prekancerózách a nádorech způsobených HPV se tedy nejedná o mutaci nebo inaktivaci p16, ale naopak zjišťujeme jeho zvýšenou expresi s vysokou hladinou proteinu. Ten sice snižuje hladinu komplexů cyklin D/CDK4 ale funkčně se díky inaktivaci pRb neuplatní.

Vzhledem k zajímavosti této problematiky a jejímu potenciálu pro screening a diagnostiku cervikálních prekanceróz, jsme v této práci ověřovali expresi p16 na vlastním materiálu z biopsií hlídla děložního a na buněčných liniích.

Materiál a metody

Tkáňové kultury, elektroforéza v polyakrylamidovém gelu a imunobloting.

Buňky nádorových linií HeLa, A431, HS913T, MCF7 a BT474 byly kultivovány v modifikovaném Dulbecco mediu (DMEM) obsahujícím 10% FBS (fetální hovězí sérum), glutamin a antibiotika penicilin a streptomycin, při teplotě 37 °C s 5% obsahem CO₂. 80% konfluentní buňky byly 3x opláchnuty na 4 °C vychlazeným PBS a sklizeny seškrabáním do PBS, centrifugovány 7 minut při 1200 rpm. Buněčný sediment byl lyzován v lyzačním roztoku NET. (150 mM NaCl, 1% NP-40 (nonidet = ethylfenylPEG), 50 mM Tris-HCl (pH 8,0), 50 mM NaF, 5 mM EDTA (pH 8,0), před použitím přidány inhibitory proteáz: PMSF do výsledné koncentrace 2mM, směs inhibitorů proteáz Sigma P8340 (AEBSF 104 mM, Aprotinin 0,08mM, Leupeptin 2,1 mM, Bestatin 3,6 mM, PepstatinA 1,5 mM, E-64 1,4 mM) v poměru 1:100. Proteinová koncentrace byla stanovena metodou BioRad (Bio Rad, USA). Vzorky byly ředěny ve 2x koncentrovaném Laemmli vzorkovém roztoku pro elektroforetickou analýzu do výsledné koncentrace 100µg.

Proteiny byly separovány SDS-polyakrylamidovou gelovou elektroforézou (SDS-PAGE) v 15% gelu a přeneseny na nitrocelulózovou membránu (s využitím Bio-Rad Mini Trans-Blot Electrophoretic Transfer Cell) po dobu dvou hodin při

4 °C a 150 mA v blotovacím roztoku (25 mM Tris, 190 mM glycin a 20% metanol). Nitrocelulózová membrána s přenesenými proteiny byla blokována po dobu dvou hodin v blokovacím roztoku 5% mléka a 0.1% Tween 20 v PBS. Primární protilátky byly nanášeny na tuto membránu v koncentraci 1 µg na 1 ml blokovacího roztoku a inkubovány při 4 °C přes noc. Membrána byla po inkubaci s primární protilátkou promyta třikrát 10 minut v roztoku PBS obsahujícím 0.1% Tween 20. Po promytí byla nanášena sekundární protilátka (králíčí protilátka proti myším imunoglobulinům konjugovaná s křefenovou peroxidázou, DAKO, Denmark), ředěná 1:1000 v blokovacím roztoku. Sekundární protilátka byla inkubována při pokojové teplotě po dobu dvou hodin. Peroxidázová aktivita byla vizualizována pomocí ECL kitu (Amersham, UK).

Tkáňové vzorky a imunohistologie:

56 bioptických vzorků z konizátů a hysterektomií. Z toho 10 CIN I-II, 30 CIN III, 8 spinocelulárních karcinomů, 2 adenokarcinomy hlídla a 6 bez dysplastické léze. Materiál byl fixován v 10% formalínu, tkáňové bloky byly zpracovány standardní histologickou technikou a zality do parafínu. Rutinně připravené vzorky v parafinových blocích byly nakrájeny na tloušťku 5µm a zachyceny na elektrostaticky upravená skla (Superfrost Plus, Menzel), řezy odparafinovány v xylenu a rehydratovány. Endogenní peroxidázová aktivita byla blokována po dobu 15 minut 3% roztokem H₂O₂ v PBS (fyziolgický roztok pufovaný fosfátem na pH 7,2). Odmaskování antigenního epitopu bylo provedeno zahříváním skel s řezy po dobu 40 minut při 94 °C v 1mM pufru EDTA-tetrasodná sůl EDTA, pH 8,0. Po promytí v PBS (3x5 minut) byly z důvodu zablokování nespecifické vazebné aktivity řezy převrstveny na dobu 15 minut roztokem 5% nízkotučného mléka v PBS. Komerční monoklonální protilátka proti p16 NCL-P16-432 (Novocastra), ředěná 1:50 v DAKO antibody diluent byla aplikována na řezy při teplotě 40C přes noc. Po trojím promytí v PBS byla nanášena anti-myší sekundární protilátka značená biotinem a následně ABC reagentie (Vector Elite ABC kit, Vector) dle návodu výrobce. Peroxidázová aktivita byla vizualizována kitem DAB+ (DAKO). Po promytí v destilované vodě byly řezy dobarveny Gillovým hematoxylinem, dehydratovány, projasněny a zamontovány pro mikroskopické zhodnocení.

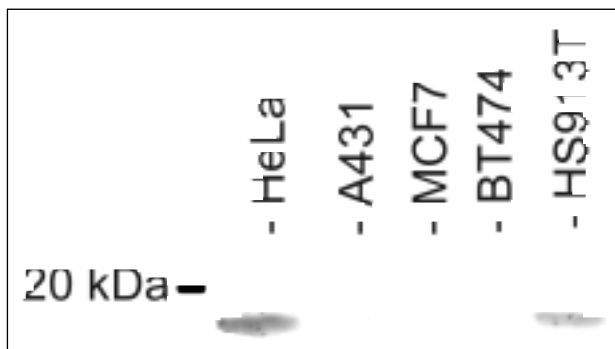
Výsledky

Imunobloting na buněčných liniích (Obr. 1) ukázal přítomnost proteinu p16 (molekulová hmotnost 16-18 kDa) v buňkách HeLa (linie odvozená z cervikálního karcinomu s přítomností HPV) a v buňkách HS913T (osteosarkom s mutací Rb) a potvrdil specifitu použité protilátky proti studovanému proteinu. Na rozdíl od buněk HeLa a HS913T, linie odvozené z HPV negativního spinocelulárního karcinomu vulvy (A431), a mamárního karcinomu (MCF7 a BT474) nevykazovaly dle našeho předpokladu specifickou interakci s proteinem p16, který v daném buněčném systému není exprimován. Imunohistologicky (Tab. 1) byla difúzní a kompletní exprese proteinu p16 prokázána ve všech třiceti CIN III (Obr. 2, Obr. 3) a osmi spinocelulárních karcinomech (Obr. 4). CIN I-II byly částečně pozitivní v 7 případech (Obr. 5) a v adenokarcinomech byla exprese prokázána v jednom ze dvou případů (Obr. 6). V nepostíženém ekto- i endocervixu, včetně reaktivních změn (hyperplazie rezervních buněk, dlaždicová metaplazie), protein p16 nebyl prokázán.

Diskuse

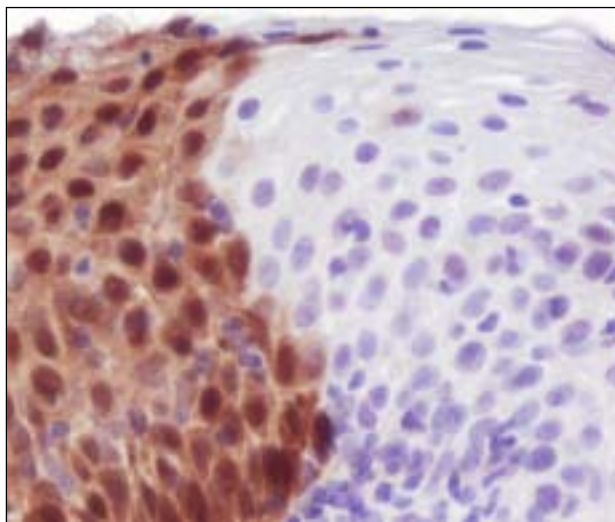
I přes úspěchy běžných screeningových programů vyvstávají otázky týkající se spolehlivosti konvenční cytologie a histologie čípku děložního. To zdůrazňuje potřebu zdokonalení screeningových metod a hledání použitelných markerů sdružených s progredientními prekancerózami jako doplňku ke kolposkopii a onkologické cytologii a histologii. Tyto postupy by měly

Obr. 1: Imunobloting p16 na lyzátech z buněčných linií.



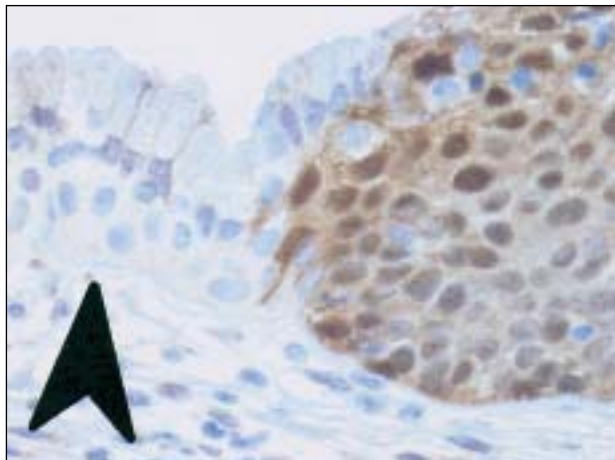
Pozitivita s protilátkou proti p16 v oblasti kolem 18kDa byla zřejmá v buňkách HeLa (inaktivace pRb papilomavirem) a HS913T (mutace Rb). Ostatní testované linie jsou p16 negativní.

Obr. 2: Imunohistologie p16 v CIN III.



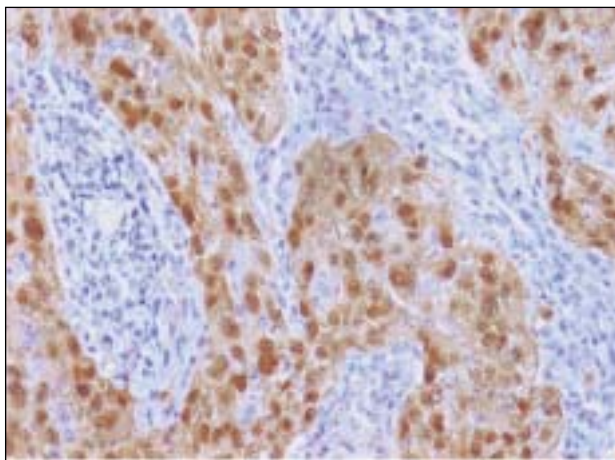
Atypický epitel CIN III (vlevo) je silně pozitivní ve všech buňkách, zatímco původní dlaždicový epitel (vpravo) je negativní.

Obr. 3: Imunohistologie p16 v CIN III.



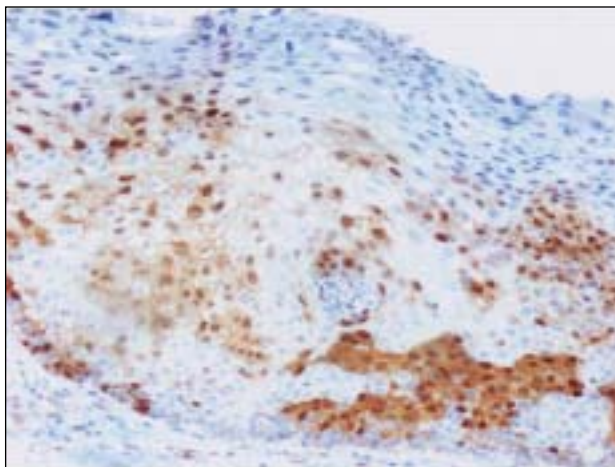
Atypický epitel CIN III (vpravo) je pozitivní, zatímco cylindrický epitel endocervixu (vlevo) je negativní, včetně hyperplastických rezervních buněk (šipka).

Obr. 4: Imunohistologie p16 ve spinocelulárním karcinomu čípku.



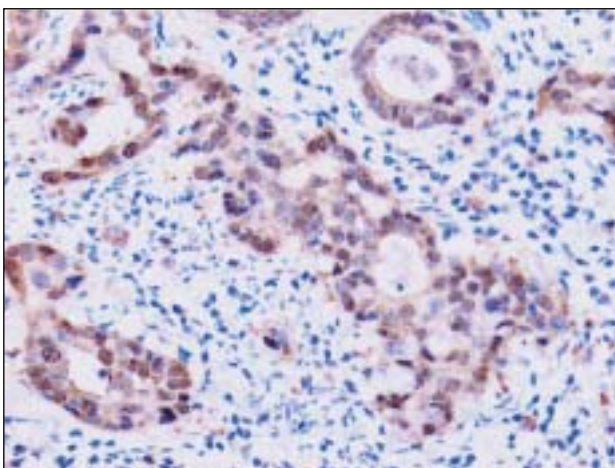
Nádorové buňky jsou silně pozitivní, stroma negativní.

Obr. 5: Imunohistologie p16 v CIN II/HPV.



Pozitivita p16 v atypickém epitelu je pouze ložisková.

Obr. 6: Imunohistologie p16 v adenokarcinomu hrdla.



Nádorové buňky jsou silně pozitivní, stroma negativní.

Tab. 1: Expres p16 v dyspláziích, nádorech a normálních tkáních děložního čípku.

Tkáň	P 16 pozitivní	P 16 negativní
Ektocervix	0	6
Endocervix	0	6
Hyperplazie rezervních buněk	0	2
Metaplastický epitel	0	4
CIN I-II	10	3
CIN III	30	0
Spinocelulární karcinom	8	0
Adenokarcinom	1	1

redukovat falešně pozitivní i negativní výsledky, v celkovém důsledku pak eliminovat nepotřebné kontroly a zákroky, snížit stresování pacientek i lékařů, případně přinést i finanční úspory ve screeningových programech.

Naše studie potvrdila slibnost využití zvýšené exprese proteinu p16 k tomuto účelu. Ve všech normálních cervikálních tkáních (vyšetřeny epiteliální, metaplastické, endocervikální reaktivní a zánětlivé okrsky) nebyla zjištěna reakce s monoklonální protilátkou proti proteinu p16. Naopak všechny případy CIN III a invazivní karcinomy čípku byly kromě jednoho adeno-

karcinomu silně p16 pozitivní. Výsledky imunoblotingu na buněčných liniích rovněž výrazně podporují hypotézu že p16 je zvýšeně exprimován v buňkách postrádajících funkční anti-onkogen Rb. V analogických studiích (9, 10) bylo prokázáno, že je dobře proveditelná i imunocytochemie proteinu p16 na tenkých nátěrech, a že všechny HPV pozitivní případy jsou i p16 pozitivní, včetně dysplazií cylindrického epitelu hrdla. Pro aplikaci stanovení proteinu p16 v histopatologické diagnostice připadá v úvahu diferenciální diagnostika vystupňovaných reaktivních změn epitelu oproti CIN II-III a vyšetření okrajů konizátů. V oblasti onkologické cytologie se nabízí imunocytochemická aplikace na rezervním materiálu z tekutých cytologických vzorků v diferenciální diagnostice náleží atypii nejistého významu, ke kontrole kvality screeningu a případně i k jeho automatizaci. Toto použití je však v českých podmínkách zatím problematické vzhledem k tomu, že současná úhrada onkologické cytologie zdravotními pojišťovnami nemůže pokrýt technologický přechod na „liquid based smears“. Teoreticky si lze představit dokonce i nahrazení klasické onkologické cytologie semikvantitativním stanovením proteinu p16 na imunoanalytickém principu (ELISA, případně proužkový test). Naše další práce bude zaměřena na prověření možností těchto aplikací.

Poděkování: Práce byla financována z výzkumného záměru MZ ČR č. 06526970501.

Literatura

1. Stoler MH.: Human papillomavirus biology and cervical neoplasia: implications for diagnostic criteria and testing. Arch Pathol Lab Med 2003; 127 (8): 935-9.
2. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Barr E, Alvarez FB, Chiacchierini LM, Jansen KU: Proof of Principle Study Investigators: A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. N Engl J Med 2002; 347(21): 1645-51.
3. Stoler MH.: New Bethesda terminology and evidence – based management guidelines for cervical cytology findings. JAMA 2002; 287(16): 2140-1.
4. Hubbard RA.: Human papillomavirus testing methods. Arch Pathol Lab Med 2003; 127 (8): 940-5.
5. Klaes R., Friedrich T., Spitkovsky D., Ridder R., Rudy W., Petry U., Dallenbach-Hellweg G., Schmidt D. and Von Knebel Doeberitz M.: Overexpression of p16INK4a as specific marker for dysplastic and neoplastic cells of the cervix uteri. Int. J Cancer 2001; 92(2): 276-284.
6. Rejthar A., Vojtěšek B.: Obecná patologie nádorového růstu. Grada Publishing 2002.
7. Helt AM., Galloway DA.: Mechanisms by which DNA tumor virus oncoproteins target the RB family of pocket proteins. Carcinogenesis 2003; 24 (2): 159-69.
8. Bates S., Parry D., Bonetta L., Vousden K., Dickson C. and Peters G.: Absence of cyclin D/Cdk complexes in cells lacking functional retinoblastoma protein. Oncogene 1994; 9(6): 1633-1640.
9. Murphy N., Ring M., Killalea A.G., Uhlmann V., O'Donovan M., Mulcahy F., Turner M., McGuinness E., Griffin M., Martin C., Sheils O., O'Leary J.J.: p16 INK4a as a marker for cervical dyskaryosis: CIN and cGIN in cervical biopsies and ThinPrep smears. J.Clin. Pathol. 2003; 56(1): 56-63.
10. Bibbo M, Klump WJ, DeCecco J, Kovatich AJ.: Procedure for immunocytochemical detection of P16INK4A antigen in thin-layer, liquid-based specimens. Acta Cytol 2002; 46(1): 25-29.

NEGATIVNÍ ŽIVOTNÍ UDÁLOSTI A KARCINOM KŮŽE

NEGATIVE LIFE EVENTS AND CARCINOMA OF THE SKIN

HNILICA K.¹, HNILICOVÁ H.², KRÍŽOVÁ E.³, ARENBERGER P.⁴

¹ FILOSOFICKÁ FAKULTA UK V PRAZE

² 1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UK V PRAZE

³ 3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UK V PRAZE

⁴ DERMATOVENEROLOGICKÁ KLINIKA UK V PRAZE

Souhrn: Cíl práce: V práci klademe otázku, zda zvyšují negativní životní události pravděpodobnost výskytu melanomu kůže. **Soubor pacientů a metody:** Realizovali jsme šetření, jehož se zúčastnilo 38 pacientů s melanomy kůže. Ke každému z nich jsme přiřadili dva kontrolní zdravé jedince stejného pohlaví, věku a vzdělání. K měření negativních životních událostí jsme užili modifikovanou verzi dotazníku životních událostí (Social Readjustment Rating Scale – SRRS). **Výsledky:** Logistická regresní analýza vedla k identifikaci tří statisticky významných rizikových faktorů, jimiž jsou: (1) úmrtí někoho, kdo měl v životě jedince důležitou roli, (2) intorvertovanost a (3) interakce pohlaví a intorvertovanosti, kdy introvertované ženy jsou více náchylné na onemocnění než ženy extrovertované. Současně se ukázalo, že celkově prožili pacienti s melanomy v období posledních pěti let o něco více negativních životních událostí než kontrolní jedinci; rozdíl mezi skupinami však nedosáhl hladiny významnosti.

Klíčová slova: melanom, životní události, introvertovanost, logistická regresní analýza.

Summary: Objectives: In this work, we asked the question whether negative life events increase the probability of the incidence of melanoma of the skin. **Sample and methods:** We conducted a survey with the participation of 38 patients with melanoma of the skin, to each of whom we assigned two healthy control individuals of the same gender, age and education level. For the measurement of negative life events, we used a modified version of the life events questionnaire (Social Readjustment Rating Scale – SRRS). **Results:** Logistical regression analysis led to the identification of three statistically significant risk factors, which are: (1) the death of someone, who played an important role in the life of the individual, (2) introversion and (3) the interaction between gender and introversion, where it was discovered that introvert females are more susceptible to the disease than extrovert females. At the same time, it was found that overall patients with melanoma experienced a somewhat greater number of negative life events in the past five years than the control individuals. However, the differences between the groups were not significant.

Key words: melanoma, life events, introversion, logistical regression analysis

ÚVOD

Negativní životní události, jakými jsou například úmrtí životního partnera, rodiče nebo dítěte, rozvod, propuštění ze zaměstnání, soudní pře atp., mají záporné důsledky na fyzické i psychické zdraví (Cohen, Tyrrell a Smith, 1991; Holmes et al., 1950; Chen et al., 1995; Matos-Santos et al., 2001; Paykel et al., 1969)¹. Jejich působení je zpravidla vysvětlováno teorií stresu: negativní události vedou ke stresu, k jehož důsledkům patří snížení obranyschopnosti organismu (Cohen, Tyrrell, Smith, 1991), urychlení průběhu některých patologických jevů (Chen et al., 1995) a spuštění některých autoimunitních reakcí (Matos-Santos et al., 2001).

V této práci se věnujeme otázce, zda je možno ve stresujících životních událostech spatřovat spolupříčinu nádorového onemocnění kůže – melanomu. Jde o otázku důležitou nejen prakticky, ale i teoreticky, neboť se u melanomů zdůrazňují spíše vlivy genetické a kongenitální; z environmentálních faktorů je věnována pozornost takřka výlučně slunečnímu záření (Lang, 2002). V souvislosti s karcinomy však nejde o otázku novou, neboť se již delší dobu dávají různé druhy karcinomů do vztahu se stresujícími životními událostmi (Chen et al., 1995), případně s těmi osobnostními vlastnostmi, jež mají důležitou roli při vyrovnávání se (coping) se stresem (Eysenck, 1991). Podobně jsou objevovány souvislosti mezi životními událost-

mi a některými dermatologickými problémy nekarzinogenní povahy (Papadopoulos et al., 1998).

Ve výzkumné sondě, o níž informujeme v následujícím textu, jsme zjišťovali frekvenci a charakter záporných životních událostí, s nimiž se za posledních pět let setkali pacienti s melanomy. Při srovnání těchto údajů s údaji, jež jsme získali od srovnatelné kontrolní skupiny zdravých jedinců, byly zjištěny některé důležité rozdíly.

METODA

VZOREK

Během let 2000 a 2001 proběhlo v ČR šetření, jehož se zúčastnilo cca 1200 respondentů. Většina z nich byla vybrána náhodně ze zdravé populace, menší část představují astmatictí pacienti a pacienti s melanomy. Jedním z hlavních cílů vytvoření rozsáhlého vzorku zdravé populace byla možnost vytvoření podsouborů, které by byly pacientům z daných diagnostických skupin co nejpodobnější, tedy podsouborů kontrolních jedinců.

Vzorek obecné populace (kontrolní) sestává z celkem 1080 respondentů z Prahy a nejbližšího okolí². Respondenti jsou ve věkovém rozpětí od 16 do 86 let (M = 39,1; SD = 16,4).

Z celku 106 oslovených pacientů (53 mužů a 53 žen) s melanomy odpovědělo celkem 38 (36%), z toho 17 mužů a 21 žena. Deset obálek se vrátilo nedoručených nebo pacient zemřel.

¹ Práce na výzkumu a při přípravě tohoto článku byla financována z výzkumného záměru CEZ: J13/98: 111100007 „Cíle medicíny a kvalita života“ (MUDr. J. Payne, odpovědný řešitel).

² Výzkum realizovala agentura IRBIS s.r.o.

Ke každému pacientovi jsme přiřadili ze vzorku obecné populace vždy dva kontrolní jedince; pouze v jednom případě jsme se museli spokojit s jedním kontrolním jedincem. Kritériem pro přiřazení kontrolních jedinců bylo pohlaví, věk a vzdělání. Celkem tak vzorek sestává ze 113 respondentů – z 38 pacientů s melanomy a 75 kontrolních jedinců. Údaje o počtech a věku respondentů v těchto dvou skupinách uvádí tabulka. Je z ní patrné, že jsou oba vzorky věkově velmi vyrovnané a že muži jsou v průměru o cca 6 až 7 let starší než ženy.

		pohlaví					
		muž			žena		
		N	M	SD	N	M	SD
skupina	melanom	17	63,4	17,5	21	56,6	14,2
	kontrola	33	62,8	17,7	42	56,7	14,1

Poznámka: N – počet respondentů; M – aritmetický průměr; SD – standardní odchylka.

DOTAZNÍK

Ve výzkumu byl užit poměrně rozsáhlý (dvacetistránkový) a náročný dotazník.

Ke zjišťování **životních událostí** jsme použili škálu, která je zčásti odvozena od často používané škály sociální readjustace (Social Readjustment Rating Scale – SRRS; Holmes a Rahe, 1967; Scully, Tosi a Banning, 2000). Námí upravená škála byla navíc doplněna o některé specifické položky, charakterizující období společenské změny v 90. letech u nás (např. restituce, ztráty z podnikání, oběť násilí). Úkolem respondentů bylo udat životní události, které je potkaly během posledních pěti, případně deseti let. V dotazníku je uvedeno celkem šestnáct různých událostí, z nichž některé jsou spíše záporné (úmrtí někoho blízkého), jiné spíše kladné (zlepšení majetkové situace) či neutrální (uzavření sňatku, změna bydliště, změna zaměstnání). Tento seznam měli možnost respondenti doplnit o další události; tuto možnost většinou nevyužili.

Kromě životních událostí jsme pro kontrolu zjišťovali rovněž **demografické údaje** (vzdělání, ekonomické postavení a rodinný stav), údaje o **životním stylu** (kouření cigaret a pití alkoholu) a rovněž některé **osobnostní vlastnosti** (extroverzi, emoční labilitu aj.). Extroverzi, která se ukázala být v dalších analýzách jedinou relevantní osobnostní vlastností, jsme zjišťovali pomocí tří deskriptorů (společenský, hovorný a tajnůstkářský), jež jsme sloučili. Použili jsme sedmibodovou škálu – čím vyšší hodnota, tím vyšší míra extroverze.

POSTUP

Zdraví respondenti byli kontaktováni prostřednictvím tazatelské sítě. Dotazníky vyplňovali zpravidla v domácím prostředí a vraceli je – v zájmu uchování anonymity – v zalepené v obálce. Za účast ve výzkumu jim byla vyplácena odměna 200 Kč.

Pacientům s melanomy byl zaslán dotazník podle adresáře s průvodním dopisem přednosty, ve kterém byl vysvětlen cíl výzkumu a dobrovolnost spolupráce. Za vrácení vyplněného dotazníku jim byla rovněž vyplácena odměna 200 Kč. Postup i dotazník byl schválen etikou komisí I. LF UK v Praze.

VÝSLEDKY

DEMOGRAFICKÉ CHARAKTERISTIKY, ŽIVOTNÍ STYL A OSOBNOST

Protože **vzdělání** bylo jedním z kritérií přiřazování kontrolních respondentů k pacientům s melanomy, nelišily se od sebe tyto dvě skupiny statisticky významně ($\chi^2_{(5)} = 8,82$; n.s.). Ve vzorku převažují respondenti, kteří dosáhli minimálně úplné středoškolské vzdělání (s maturitou) – 68,4% (melanomy) a 73,3% (kontrolní jedinci).

Ekonomické postavení. Většinu respondentů představovali starobní důchodci (melanomy – 50,0%, kontrola – 50,7%)

a zaměstnanci ve státním (15,8% a 16,4%) a nestátním sektoru (18,4% a 23,3%); pacienti s melanomy se od kontrolních jedinců v ekonomickém postavení statisticky významně nelišili ($\chi^2_{(7)} = 4,57$; n.s.).

Rodinný stav. Většina respondentů byla ženatých či vdaných (melanomy – 75,0%, kontrola – 64,0%). Ovdovělých (8,3% a 17,33%), rozvedených (11,1% a 10,7%) a svobodných (5,6% a 8,0%) bylo výrazně méně. Jak je vidět, bylo ve vzorku kontrolních respondentů o něco více vdovců a vdov než ve vzorku pacientů s karcinomy. Celkově se však od sebe tyto vzorky v rodinném stavu neliší ($\chi^2_{(3)} = 2,00$; n.s.).

Kouření cigaret. 55,3% pacientů s melanomy a 44,6% kontrolních jedinců udalo, že nikdy nekouřili, 28,9% pacientů a 25,7% kontrolních jedinců udalo, že dříve kouřili, ale dnes již ne, a 15,8% pacientů a 29,8% kontrolních jedinců udalo, že kouří. Statisticky významně se od sebe tyto dvě skupiny neliší ($\chi^2_{(2)} = 2,64$; n.s.).

Pití alkoholu. Na otázku: „Jak často pijete alkohol?“ s nabídkou odpovědí od „nikdy – velmi zřídka – příležitostně – několikrát v týdnu – denně“ odpověděly respondenti z obou skupin velmi podobně, takže se ani ve frekvenci pití alkoholu od sebe tyto dvě skupiny statisticky významně nelišily (Kolmogorovův-Smirnovův test $K_S_D = 0,08$; n.s.).

Extroverze. Pacienti s melanomy byli o něco více introvertovaní (méně společenská a hovorná a více tajnůstkářští) než kontrolní jedinci. Rozdíl mezi oběma skupinami byl statisticky významný ($t_{(110)} = 1,993$; $p < 0,05$). V ostatních osobnostních rysech se od sebe tyto dvě skupiny nelišily.

SOUVISLOSTI MEZI CHARAKTEREM NEGATIVNÍCH ŽIVOTNÍCH UDÁLOSTÍ A MELANOMY

V následujících analýzách jsme se zaměřili pouze na negativní životní události. Z nich jsme pak dále vybrali ty, jež byly udány dostatečným počtem respondentů – kritériem nám byl celkový počet alespoň deseti respondentů. Tyto životní události, jež postihly respondenty v období posledních pěti let, uvádíme – spolu s relativní frekvencí jejich výskytu – v následující tabulce.

	SKUPINA	
	melanom	kontrola
Utrpěl/a jsem velkou finanční ztrátou	7,9%	10,7%
Měl/a jsem velkou půjčku nebo hypotéku	5,3%	4,0%
Někdo blízký trpěl dlouhodobě vážnou nemocí	28,9%	29,3%
Někdo důležitý v mém životě mě opustil	21,1%	9,3%
Někdo důležitý v mém životě zemřel	50,0%	30,7%
Odešel/odešla jsem do důchodu	18,4%	14,7%
Stal/a jsem se obětí trestného činu (včetně okradení)	23,7%	16,0%

Jak je z tabulky patrné, liší se pacienti s melanomy od kontrolní skupiny ve frekvenci výskytu některých z těchto negativních událostí. Patří mezi ně především tyto:

- někdo důležitý v jejich životě je opustil,
- někdo důležitý v jejich životě zemřel a
- stali se obětmi trestných činů.

Ke statistické analýze vztahů mezi diagnózou a životními událostmi jsme užili logistickou regresní analýzu. Na stranu „nezávisle proměnných“ či prediktorů jsme kromě uvedených negativních životních událostí zahrnuli ještě extroverzi a interakci extroverze s pohlavím. Protože se v demografických charakteristikách ani v životním stylu od sebe pacienti a kontrolní jedinci nelišili, do analýz jsme tyto proměnné nezahrnuli. V následující tabulce uvádíme získané statistiky.

	B	S.E.	Wald	df	p	OR	95% hranice KI pro OR
finanční ztráta	-0,081	0,782	0,011	1	0,917	0,922	0,199 - 4,273
velká půjčka	-0,273	1,132	0,058	1	0,810	0,761	0,083 - 7,005
blízký - vážná nemoc	-0,793	0,574	1,909	1	0,167	0,453	0,147 - 1,394
někdo důležitý mě opustil	0,970	0,699	1,928	1	0,165	2,639	0,671 - 10,38
někdo důležitý zemřel	1,209	0,509	5,648	1	0,017	3,351	1,236 - 9,085
důchod	0,744	0,622	1,428	1	0,232	2,103	0,621 - 7,120
oběť trestného činu	0,634	0,567	1,250	1	0,263	1,886	0,620 - 5,731
extroverze	-0,965	0,337	8,196	1	0,004	0,381	0,197 - 0,738
extroverze * pohlaví	1,076	0,517	4,333	1	0,037	2,932	1,065 - 8,075
konstanta	3,405	1,580	4,641	1	0,031		

Poznámky: a) Omnibusový test statistické významnosti koeficientů ukazuje, že celkový model je signifikantně lepší než tzv. nulový model, tedy model, v němž je zahrnuta pouze konstanta ($\chi^2_{(10)} = 19,82$; $p < 0,04$). b) $-2LL = 122,29$, Nagelkerkovo pseudo- $R^2 = 0,23$.

Odhlédneme-li od statisticky nevýznamných prediktorů, lze napsat regresní rovnici:

$$\text{logit}(\text{melanom}) = 3,405 + 1,209(\text{někdo důležitý zemřel}) - 0,965(\text{extroverze}),$$

kde „někdo důležitý v mém životě zemřel“ je kódováno 0 = ne, 1 = ano; extroverze je měřena sedmibodovou škálou a melanom je škálován 0 = ne, 1 = ano.

Pravděpodobnost výskytu melanomu se statisticky signifikantně zvyšuje především u jedinců, jimž zemřel někdo, kdo měl v jejich životě důležitou roli. Tato událost výrazně zvyšuje pravděpodobnost výskytu melanomu (OR = 3,35). Extroverze vykazuje s diagnózou záporný vztah (B = -0,965): **čím jsou respondenti extrovertovanější, tím nižší je u nich pravděpodobnost výskytu melanomu** (OR = 0,38). Introvertovaný jedinec, jemuž během posledních pěti let zemřel někdo osobně důležitý, má podle této rovnice značně vyšší pravděpodobnost výskytu melanomu než extrovert, jehož tato ztráta nepostihla.

Současně byla zjištěna **signifikanční interakce extroverze s pohlavím**. K porozumění této interakce pohlaví s extroverzí nám pomůže následující tabulka. Škálu extroverze jsme v ní rozdělili na dvě poloviny podle mediánu. Pro snazší srozumitelnost jedince, kteří mají podprůměrné hodnoty na této škále, označujeme jako introverty, jedince s nadprůměrnými skóry jako extroverty.

		introvert	extravert
		%	%
muž	melanom	50,0 %	50,0 %
	kontrola	54,5 %	45,5 %
žena	melanom	57,1 %	42,9 %
	kontrola	35,7 %	64,3 %

Z tabulky je patrné, že mezi pacientkami s melanomy převládají ženy introvertované, zatímco v kontrolní skupině převládají ženy extrovertované: introvertované ženy tedy mají melanom častěji než ženy extrovertované. Oproti tomu mají introvertovaní muži melanom v principu stejně často jako muži extrovertovaní. **Zejména introvertovanost u žen se tedy jeví být dalším rizikovým faktorem.**

SOUVISLOSTI MEZI FREKVENCÍ NEGATIVNÍCH ŽIVOTNÍCH UDÁLOSTÍ A MELANOMY

Jak ukazuje následující tabulka, udávali pacienti s melanomy, že je během posledních pěti let postihlo v průměru o něco více

celkové množství záporných životních událostí	skupina			
	melanom		kontrola	
	f	%	f	%
žádná	13	34,2 %	25	33,3 %
1	10	26,3 %	28	37,3 %
2	9	23,7 %	17	22,7 %
3 a více	6	15,8 %	5	6,7 %

negativních životních událostí než respondenti v kontrolní skupině. Dvě a více životních událostí uvedlo celkem 39,5% respondentů s melanomy, zatímco pouze 29,4% zdravých respondentů. Rozdíly mezi skupinami však nejsou – díky malým počtům respondentů v obou skupinách – statisticky signifikantní.

DISKUSE A ZÁVĚR

Tato studie vedla k identifikaci tří rizikových faktorů, které zvyšují pravděpodobnost diagnózy melanomu kůže. Jsou jimi:

- (1) úmrtí někoho, kdo měl v životě jedince důležitou roli,
- (2) introvertovanost a
- (3) interakce pohlaví a introvertovanosti, kdy introvertované ženy jsou více náchylné na onemocnění než ženy extrovertované.

Současně se ukázalo, že pacienti s melanomy potkalo za posledních pět let o něco více negativních životních událostí než respondenty v kontrolní skupině.

Z hlediska prevence lze proto dospět k závěru, že by lidé s velkým počtem mateřských znamének a podezřelých pih, lidé s historií melanomů a ostatní, kteří jsou ohroženi tímto onemocněním, měli při kumulaci stresujících událostí a zejména po prožití silnějších traumatických událostí sledovat, zda u nich nedochází k podezřelým změnám, případně vyhledat lékaře a absolvovat screening. A protože nezávisle na frekvenci životních událostí jsou více ohroženi introvertovaní jedinci, a z nich pak zejména ženy, měli by tyto patrně sledovat svoji kůži pečlivěji a provádět prohlídky a absolvovat screening častěji. Také praktičtí lékaři, v jejichž dlouhodobé péči pacienti zpravidla jsou, by měli těmto psychologickým skutečnostem věnovat pozornost. Závěrem se věnujeme otázkám kauzality a zobecnitelnosti výsledků.

Protože z dat v dotazníku není možno stanovit časové pořadí jevů, tedy to, zda úmrtí někoho pro jedince důležitého předcházelo nebo následovalo diagnózu melanomu, nelze přesně určit kauzalitu. Z rozhovorů s pacienty, kteří s námi pokračovali ve spolupráci, je zřejmé, že pigmentový kožní problém (mateřské znaménko, pihu apod.) měli dlouhodobě. K léčbě dochází, jestliže nastane u sledovaného problému náhlá změna anebo když si tohoto kožního problému všimne některý z ošetřujících lékařů a rozhodne o operativním řešení. Teprve následně je prováděn histologický rozbor a na jeho základě stanovena diagnóza. Pacienti většinou slovo melanom v komunikaci nepoužívali, hovořili spíše o „pozitivním“ nebo „špatném“ výsledku. Souslednost stanovení diagnózy a úmrtí blízkého člověka nebylo možno následně ověřit, protože ne všichni, kdo tuto životní událost zmínili, uvedli svou zpětnou adresu. V dalším z výzkumů je nezbytné sledovat jasně časově ohraničené údaje.

S velikostí a složením vzorku pacientů souvisí problém zobecnitelnosti. Je otázkou, do jaké míry lze z našeho vzorku, v němž převládali starší a vzdělanější pacienti, zobecnit na celou populaci pacientů s melanomy. V tomto smyslu je náš výzkum pouze výzkumnou sondou, která naznačuje potenciálně perspektivní směry dalšího bádání.

Literatura

1. Cohen, S., Tyrrell, D. A. J., Smith, A. T.: Psychological stress and susceptibility to the common cold. *New England Journal of Medicine* 1991, 325, 606-612.
2. Eysenck, H. J.: Personality, stress, and disease: An interactionist perspective. *Psychological Inquiry* 1991, 2, 221-232.
3. Holmes, T. H., Goodell, H., Wolff, S., Wolff, H. G.: *The Nose: An Experimental Study of Reactions within the Nose in Human Subjects During Varying Life Experiences*. Springfield, IL: Charles C. Thomas 1950.
4. Holmes, T. H., Rahe, R. H.: The Social Re-adjustment Rating Scale. *Journal of Psychosomatic Research* 1967, 11, 213-218.
5. Chen, C. C., David, A. S., Nunnerley, H., Michell, M., Dawson, J. L., Berry, H., Dobbs, J., Fahy, T.: Adverse life events and breast cancer: A case-control study. *British Medical Journal* 1995, 311, 1527-1530.

6. Lang, P. G.: Current concepts in the management of patients with melanoma. *American Journal of Clinical Dermatology* 2002, 3, 401-426.
7. Matos-Santos, A., Nombro, E. L., E Costa, J. G., Nogueira, P. J., Macedo, A., Galvao-Teles, A., de Castro, J. J.: Relationship between the number and impact of stressful life events and the onset of Graves' disease and toxic nodular goitre. *Clinical Endocrinology* 2001, 55, 15-19.
8. Papadopoulos, L., Bor, R., Legg, C., Hawk, J. L. M.: Impact of life events on the onset of vitiligo in adults: Preliminary evidence for psychological dimension in aetiology. *Clinical and Experimental Dermatology* 1998, 23, 243-248.
9. Paykel, E. S., Myers, J. K., Dineen, M. N., Klerman, G. L., Lindenthal, J. J., Pepper, M.: Life events and depression. *Archives of General Psychiatry* 1969, 21, 753-760.
10. Scully, J. A., Tosi, H., Banning, K.: Life event checklists: Revisiting the Social Readjustment Rating Scale after 30 years. *Educational and Psychological Measurement* 2000, 60, 864-876.

informace

EPIDEMIOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA ZHOUBNĚHO NOVOTVARU PRSU ŽEN

EPIDEMIOLOGICAL DESCRIPTION OF WOMEN BREAST CANCER.

GERYK E¹, HOLUB J², ZÁČEK V.³

^{1,3} MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

² ÚSTAV ZDRAVOTNICKÝCH INFORMACÍ A STATISTIKY ČR, PRAHA

Historicky dlouhodobý a pochopitelný zájem o ženskou prsa od dob věstnické Venuše byl Hippokratem, Galénem a jejich pokračovateli zaměřen na proces zhoubného bujení. K po-stupnému rozšíření novodobějších poznatků přispělo založení „Spolku pro zkoumání a potírání rakoviny“ v roce 1905 při Spolku českých lékařů. Dnes víme, že o méně je ve srovnání s řadou jiných diagnóz tato malignita preventabilní, spojená s věkem a reprodukčními faktory, o to víc jsou údaje o její incidenci, mortalitě a prevalenci důvodem k podpoře samovyšetřování, mamárního skriningu a včasné návštěvy lékaře. Počet nových onemocnění a jejich výskyt v mladším věku má dopad na rostoucí objem nákladů jejich léčby, dispenzarizaci a kvalitu života.

Evidence nádorů v ČR během více než 50 let dosáhla zejména u nádorů prsu velmi dobré úrovně a z 2 milionů nahlášených malignit u obou pohlaví bylo přes 152 tisíc mamárních karcinomů. Za období evidence nádorů od roku 1977 (charakterizované klasifikací malignit podle kritérií IARC, trvajícím dohledáváním dat, verifikací topografie a morfologie), do roku 1999 (s recentními aktualizovanými přehledy) bylo u žen nahlášeno celkem 83.459 nádorů prsu, z toho 40 % případů v prvních 11 letech, 27 % v dalších 6 letech a 33 % v dalších 6 letech. Stádia I+II zahrnovala 54,6 %, stádia III+IV 31,6 % (13,8 % neurčených stádií). V průběhu uvedených 20 let se počet včasných stádií zvýšil o 9,4 %, pozdních snížil o 15,6 % a neurčených zvýšil o 6,2 % jako důsledek zlepšené edukace žen s časnější návštěvou lékaře, ale také jako důsledek zvýšeného dohledávání nekompletních údajů prvotního hlášení novotvarů.

Ikdyž lokalizace nádoru nemá přesvědčivý prognostický význam, upřesňuje pozornost při samovyšetření prsu a zaměření skriningu. Podle topografie 83.459 karcinomů byl postižen nejvíce horní zevní kvadrant, žláza nespecificky, centrální část prsu, horní vnitřní kvadrant, přesahující léze prsu, dolní zevní kvadrant, dolní vnitřní kvadrant, bradavka, axilární výběžek žlázy. Změny v topografii jsou patrné podle tří uvedených časových období.

Období	1977–1999 (23 let)	1977–1987 (11 let)	1988–1993 (6 let)	1994–1999 (6 let)
Nové případy	83.459 – 100,0 %	33.375 – 40,0 %	22.505 – 27,0 %	27.579 – 33,0 %
Stádium I+II	45.536 – 54,6 %	17.017 – 51,0 %	11.849 – 52,6 %	16.670 – 60,4 %
Stádium III+IV	26.405 – 31,6 %	12.628 – 37,8 %	7.664 – 34,1 %	6.113 – 22,2 %
Neurčená stádia	11.518 – 13,8 %	3.730 – 11,2 %	2.992 – 13,3 %	4.796 – 17,4 %
C50.4 HZK	32.407 – 38,8 %	11.948 – 35,8 %	9.595 – 42,6 %	10.864 – 39,4 %
C50.9 NS	16.192 – 19,4 %	6.889 – 20,6 %	2.368 – 10,5 %	6.935 – 25,2 %
C50.1 CČ	8.080 – 9,7 %	3.182 – 9,5 %	2.473 – 11,0 %	2.425 – 8,8 %
C50.2 HVK	7.350 – 8,8 %	3.053 – 9,2 %	2.241 – 10,0 %	2.056 – 7,5 %
C50.8 PLP	6.508 – 7,8 %	3.123 – 9,4 %	1.954 – 8,7 %	1.431 – 5,2 %
C50.5 DZK	5.770 – 6,9 %	2.379 – 7,1 %	1.696 – 7,5 %	1.695 – 6,2 %
C50.3 DVK	3.942 – 4,7 %	1.477 – 4,4 %	1.131 – 5,0 %	1.334 – 4,8 %
C50.0 BV	2.800 – 3,4 %	1.182 – 3,5 %	941 – 4,2 %	677 – 2,5 %
C50.6 AV	410 – 0,5 %	142 – 0,4 %	106 – 0,5 %	161 – 0,6 %

HZK – horní zevní kvadrant, NS – nespecifické postižení, CČ – centrální část; HVK – horní vnitřní kvadrant, PLP – přesahující léze prsu, DZK – dolní zevní kvadrant; DVK – dolní vnitřní kvadrant, BV – bradavka, AV – axilární výběžek

Zastoupení nádorů prsu ze všech malignit u žen v 17 % se výrazně nemění. Roční incidence v roce 1999 činila 5.013 onemocnění tj. téměř 95/100 000 žen s meziročním nárůstem 2,5 %.

Do 39 let se vyskytla 4 % onemocnění, 17 % mezi 40-49 roky, 21 % mezi 50-59 roky, 25 % mezi 60-69 roky, nad 70 let 33 % případů. Statisticky významně vyšší standardizovanou incidenci v letech 1977-1991 vykázaly ženy ve všech obvodech Prahy, v Plzni, Hradci Králové, Pardubicích, Brně a Ostravě. Vzhledem k tomu, že aktuálnější statistické zpracování geografické distribuce zatím chybí, lze uvedené oblasti považovat za optimální pro efektivní skrining včetně eliminace rizikových faktorů životního stylu.

Ve dvou studiích, srovnávajících standardizovanou incidenci 30 zemí za období 1988-1992 dosáhly nádory prsu u žen v ČR příznivějšího 11. a 13. pořadí. Ve srovnání s jinými nádory (konečníku, ledvin, slinivka, dělohy) není zřetelný rychlejší posun do mladších věkových skupin.

Počet léčených k 31.12. 2000 dosáhl v ČR 38.619 pacientek, což je nárůst

o 96,6 % proti roku 1989, kdy bylo léčeno 19.745 žen. V r. 2010 se předpokládá překročení počtu léčených 55 tisíc. Přímé náklady na jejich léčbu v roce 2000 byly odhadovány na 1,3 miliardy korun. Studie naznačují propojení rizika karcinomu prsu s dalšími nádorovými komorbiditami, zejména rodidel, kůže a zažívání. Znamená to potřebu dlouhodobější zvýšené dispenzarizace a bdělosti u přežívajících pacientek po chemo a radioterapii s pátráním po možné následně malignitě, indukované předchozí razantní léčbou.

Literatura

1. Klenner, P., kol.: Stručné dějiny české onkologické společnosti. Galén, Praha, 2000, 70 s.
2. Geryk, E. kol.: Prevalence zhoubných novotvarů v krajích a okresech ČR. NOR ČR, Brno, 2002, 25 s.
3. Kolcová, V., kol.: Zhoubné novotvary - ČR a vybrané státy. Galén, Praha, 1999, 57 s.
4. Dušek, L., kol.: Systém pro vizualizaci onkologických dat. UOC-CBA MU, Brno, 2003, 75 s.

APOPTÓZA ZPROSTŘEDKOVANÁ DEATH RECEPTORY: ÚLOHA FASL A TRAIL PŘI SMRTI MALIGNÍCH BUNĚK

DEATH RECEPTORS-MEDIATED APOPTOSIS: ROLE OF FASL AND TRAIL IN CANCER CELLS KILLING

DUBSKÁ L.^{1,2}, SHEARD M.A.^{1,3}

¹ MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO

² PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA MU BRNO

³ DIVISION OF HEMATOLOGY-ONCOLOGY, CHILDREN'S HOSPITAL LOS ANGELES

Souhrn: Určité ligand:receptorové interakce na povrchu buňky, včetně FasL:Fas a TRAIL:TRAIL-Rs, vedou k indukci programované buněčné smrti. Abnormality na různých úrovních těchto drah, např. ztráta receptoru Fas z povrchu buněk, delece nebo mutace genů kódujících receptory pro TRAIL, zvýšená exprese *decoy* receptorů či proteinu FLIP, inhibitoru aktivace kaspáz, byly zaznamenány u různých typů nádorů u člověka. Buněčná smrt procesem apoptózy navozená aktivací Fas a TRAIL-Rs je v některých případech doprovázena uvolněním pro-apoptotických molekul z mitochondrií/ER. Zvýšení či obnovení citlivosti (pre)neoplastických buněk k apoptóze indukované ligandy FasL a TRAIL přispívá k léčebnému účinku chemo- a radioterapie a hraje úlohu při imunoterapeutických léčebných postupech. Pokud se navíc zabrání toxicitě pro nemaligní buňky, může být likvidace nádorových buněk exogenními ligandy, především TRAIL, do budoucna novým přístupem k léčbě rakoviny.

Klíčová slova: Fas/CD95, TRAIL, apoptóza, nádorová onemocnění

Summary: Programmed cell death can be initiated upon ligand:receptor interactions at the cell surface, especially involving FasL:Fas and TRAIL:TRAIL-receptors. In various human cancers, abnormalities in the levels of these pathways have been identified in human cancer, including loss of Fas surface expression, deletion or mutation of TRAIL-Rs, and overexpression of decoy receptors or of the caspase activation inhibitor, FLIP. Apoptotic cell death triggered by ligation of Fas and TRAIL-Rs can in some cases be connected with release of pro-apoptotic molecules from mitochondria/ER. Enhancement or reactivation of sensitivity to FasL- and TRAIL-induced apoptosis in neoplastic cells contributes to chemo- and radiotherapy and play a role in immunotherapeutical strategies. Furthermore, if toxicity in normal cells can be circumvented, exogenous ligands, in particular TRAIL, promise to offer a new approach in cancer therapy.

Key words: Fas/CD95, TRAIL, apoptosis, cancer

Rovnováha mezi buněčným dělením a programovanou buněčnou smrtí (PCD) je nezbytná pro udržení tkáňové homeostázy. Jako PCD je označována buněčná smrt závislá na signálech nebo řízených aktivitách uvnitř umírající buňky. Nejstudovanější typem PCD je apoptóza definovaná původně morfologickými kritérii, jako jsou kondenzace chromatinu do kompaktních útvarů a rozpad buňky na fragmenty obalené cytoplazmatickou membránou (1). S přibývajícím informacemi o různých typech PCD bývá za apoptózu považována buněčná smrt, při které dochází k aktivaci kaspáz, což jsou enzymy z rodiny cysteinových proteáz schopné po své aktivaci z prekurzorů dezintegrovat buňku (2-5).

Klíčovou podmínkou pro nádorové bujení je neregulovaná proliferace bez kontroly počtu buněk PCD, nejčastěji právě apoptózou (6). Samotný charakter změn navozujících růst nádorové populace - zvýšená aktivita onkoproteinů, inaktivace nádorových supresorů - má obvykle za následek aktivaci kaspáz a následnou apoptózu. Pro kontinuální růst populace maligních buněk je tedy nutné spojit signály stimulující růst s redukcí smrtícího potenciálu zpravidla inaktivací pro-apoptotických proteinů (např. mutace nádorového supresoru p53, inaktivace proteinu Apaf-1) nebo zvýšenou aktivitou anti-apoptotických proteinů (např. aktivace Akt kinázové dráhy, zvýšená hladina *heat shock* proteinů či zvýšená exprese proteinu Bcl-2).

Represe apoptotického programu je také jedním z mechanismů úniku maligní buňky protinádorové imunitní bariéře tvořené cytotoxickými T-lymfocyty (CTLs) a *natural killer* (NK) buňkami. CTLs a NK buňky mohou aktivovat kaspá-

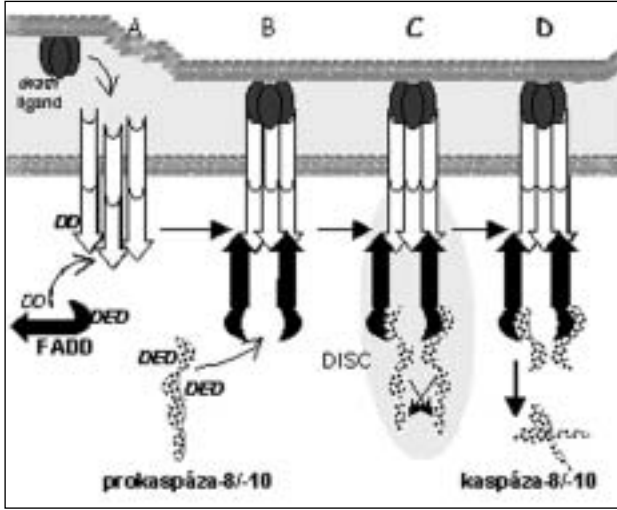
zy a tak indukovat buněčnou smrt exocytózou granzymu B nebo ligací *death* receptorů na povrchu cílových potenciálně nebezpečných buněk. Tyto specializované membránové receptory s jedinečnou schopností zprostředkovat likvidaci buňky patří do rodiny TNFR (*tumor necrosis factor receptor*) a jejich solubilní nebo membránově vázané ligandy do rodiny TNF.

Ligandy TNF a receptory TNFR se účastní především vývoje a funkce imunitního systému a buněk lymfoidního původu (7), např. TNF hraje zásadní roli při zánětlivé reakci, lymphotoxin je klíčovou molekulou pro vývoj periferních lymfoidních orgánů. Některé receptory TNFR, nazvané *death* receptory jmenovitě TNF-R1, CD95/Fas, DR3/TRAMP, DR5/TRAIL-R2, DR4/TRAIL-R1 a DR6, se vyznačují intracelulární *death* doménou (DD), jejíž prostřednictvím mohou více či méně efektivně aktivovat iniciační kaspázy a spustit apoptotický program (*obr. 1, 2*) V rámci onkologického výzkumu je pozornost zaměřena na *death* receptory CD95/Fas, DR5/TRAIL-R2 a DR4/TRAIL-R1 a to díky jejich úloze při imunitní reakci CTLs a NK-buněk proti potencionálně rakovinným buňkám a v případě DR5 a DR4 také díky selektivní toxicitě jejich ligandu TRAIL pro transformované buňky (19).

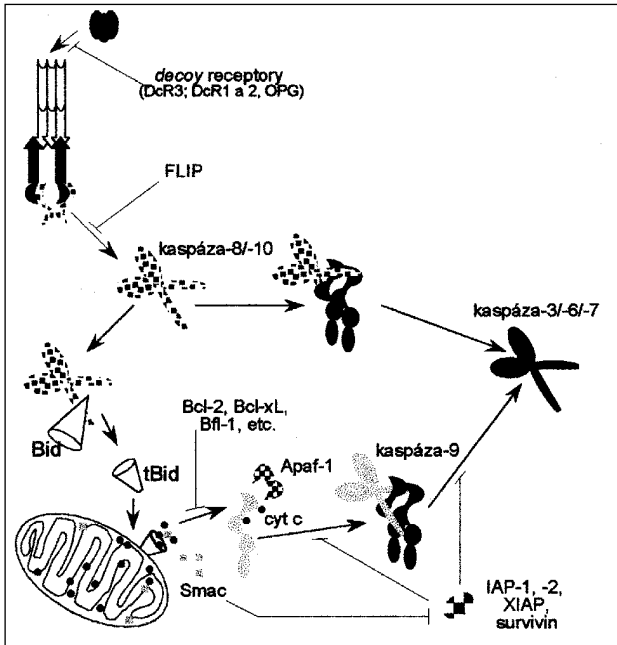
REGULACE APOPTÓZY ZPROSTŘEDKOVANÉ RECEPTORY CD95, DR5 A DR4.

Buněčná smrt zprostředkovaná *death* receptory je regulována na několika úrovních a inhibice apoptotické signalizace na některé z nich je častým způsobem obrany (pre)neoplastických buněk před protinádorovou imunitní bariérou.

Obr. 1. Aktivace death receptoru a iniciačních kaspáz. /A/ Trimerický death ligand indukuje oligomerizaci membránových molekul příslušného receptoru. Asociace receptorových molekul vede k homotypické interakci death domén (DD) receptoru s DD adaptorového proteinu FADD (8, 9). /B/ FADD interaguje prostřednictvím DED (*death effector domain*, 10) s prokaspázou-8/-10 /C/ za vzniku komplexu DISC (*Death Induced Signaling Complex*, 11), v němž dochází k autokatalýze kaspázových prekurzorů (12). /D/ Aktivní kaspáza-8/-10 se skládá ze dvou malých a dvou velkých podjednotek.



Obr. 2. Model regulace aktivace efektorových kaspáz po ligaci death receptoru. Iniciační kaspáza-8/-10 štěpením aktivuje efektorové kaspázy a/nebo štěpením proteinu Bid indukuje uvolnění pro-apoptotických molekul z mitochondriálního mezimembránového prostoru a z endoplazmatického retikula (ER) včetně cytochromu *c* (cyt *c*), který pak v cytozolu umožňuje interakci proteinu Apaf-1, ATP, prekurzorů kaspázy-9, aktivaci tohoto enzymu (13) a následně efektorových kaspáz. Mechanismus je regulován na mnoha úrovních. Interakce prokaspázy-8/-10 s death receptorem je inhibována proteinem FLIP (14). U některých typů buněk je apoptotický proces významně regulován mitochondriálním Bcl-2 homology (15). Aktivita či aktivace efektorových kaspáz (-3, -6, -7) je modulována negativně inhibitory IAP-1, -2, XIAP (16), Survivin (17); a pozitivně mitochondriálními proteiny Smac/DIABLO (18).



Funkčnost receptorů a jejich výskyt: Příklad mutací a nefunkčního p53

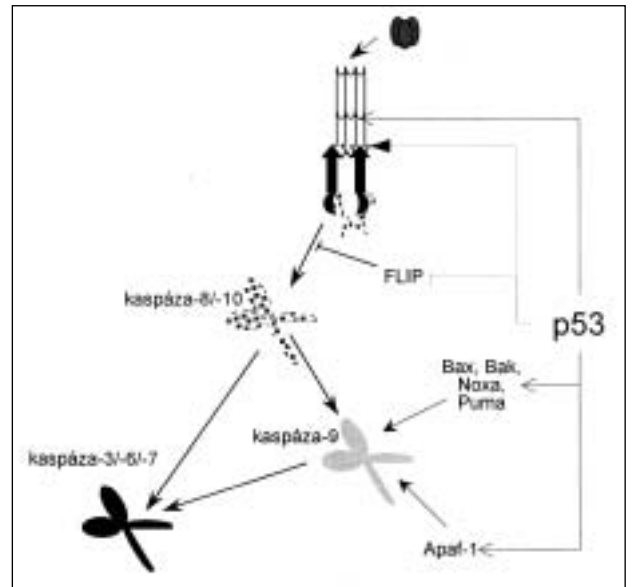
Absence funkčních death receptorů na povrchu buňky může být jednak důsledkem zárodečných nebo somatických mutací

v genech kódujících tyto receptory, případně díky snížené aktivitě jejich transkripčních faktorů, nebo na posttranslační úrovni důsledkem ztráty receptorů z povrchu buňky.

335 aminokyselin dlouhý receptor CD95/Fas je exprimován mnoha typy buněk, vyskytuje se především na povrchu thymocytů a aktivovaných T-lymfocytů a hojně také na membránách buněk jater, srdce a ledvin (20). Fenotypový projev deficiencie či mutace genu *fas* vyplývá především z úlohy tohoto receptoru při formování a funkci imunitního systému, tedy eliminaci autoreaktivních T- a B-lymfocytů během klonální selekce aktivovaných T-buněk na konci imunitní reakce (21). Nicméně kromě lymfadenopatie, splenomegalie, autoimunitních onemocnění (22-25) je zárodečná mutace v genu *fas* asociována se zvýšeným výskytem lymfoproliferativním malignit (23, 26). Somatické mutace tohoto genu byly poprvé popsány u lymfoidních nádorů (27-31) a později také u solidních nádorů např. karcinomu močového měchýře (32), nemalobuněčného plicního karcinomu (32, 33), maligního melanomu (34) a testikulárních nádorů (35). Jen u 30% nádorů s *fas* mutací byla zaznamenána ztráta heterozygoty (36) a klinický fenotyp se projevuje již při monoalelické mutaci genu *fas* (22, 25), což je dáno pravděpodobně tím, že je třeba interakce tří *wild type* molekul k vytvoření funkčního receptoru.

Apoptotické receptory ligandu TRAIL, tedy DR4 a DR5, mají výrazně podobnou sekvenční strukturu i lokalizaci exprese. Transkripty pro 445 aminokyselin dlouhý DR4 se nacházejí v mnoha tkáních především v srdci, ve slezině, v periferní krvi, v tenkém střevě a v brzlíku (37). Transkript pro 411 aminokyselin dlouhý receptor DR5 byl detekován v nejvyšších hladinách v srdci, játrech, plicích, ledvinách, periferní krvi, vaječnících, tenkém střevě a periferní krvi (38-40). Geny kódující receptory pro TRAIL se v lidském genomu nacházejí v oblasti 8p21-2 (38, 41, 42), jejíž delece je asociována s patogenezí některých nádorů (43-46) a jejich vyšší invazivitou (47). Translokace vedoucí k delecí částí genu pro DR4 byla detekována u nazofaryngeální nádorové buněčné linie (48), vyšší frekvence určitého polymorfismu genu pro DR4 je asociována s vývojem různých malignit (49, 50) a některé nádorové buněčné linie

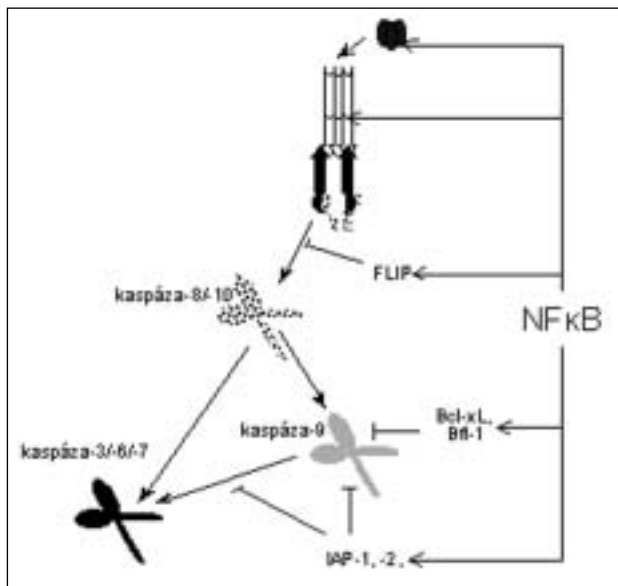
Obr. 3. Úloha nádorového supresoru p53 při regulaci apoptózy prostřednictvím death receptorů. Protein p53 je významným transaktivátorem receptorů CD95/Fas a DR5 (60, 61). Také přímo kontroluje expresi pro-apoptotických Bcl-2 homologů, Bax, Bak (62, 63), Noxa (64), Puma (65); a expresi proteinu Apaf-1 (66) klíčového pro aktivaci prokaspázy-9. Byla také popsána pro-apoptotická role p53 nezávislá na jeho transkripční aktivitě (zobrazeno čárkovane) spočívající v indukci translokace death receptorů na buněčnou membránu (67) nebo degradace inhibitory FLIP prostřednictvím ubiquitin-proteazomové dráhy (68).



neexprimují DR4 vůbec (51-53). Somatické mutace obou apoptotických receptorů ligandu TRAIL hrají roli v patogenezi ne-Hodgkinských lymfomů (54) a metastazujících prsních nádorů (55). Inaktivující mutace DR5 byla nalezena u nemalobuněčných plicních karcinomů (32, 56), nádorů trávicí soustavy (57) a nádorů hlavy a krku (58).

Na úrovni exprese může být příčinou redukce *death* receptorů maligní charakter buňky, např. hypermetylace v promotorové oblasti genu *fas* onkoproteinem H-Ras vede k inhibici exprese receptoru (59). Z hlediska neoplastické transformace je významným regulátorem exprese *death* receptorů nádorový supresor p53 (*obr. 3*), jehož konsenzus sekvence se nachází jak v genu kódujícím CD95/Fas tak DR5 (60, 61). V důsledku toho je ztráta transaktivční funkce proteinu p53 u většiny nádorů příčinou redukce CD95/Fas na povrchu transformovaných buněk (69), což bylo potvrzeno pomocí genetického modelu inaktivace p53 (213) spolu ze zásadní rolí funkce tohoto proteinu při up-regulaci povrchových receptorů po působení agens poškozující DNA (70-72). Úloha p53 při kontrole exprese receptoru DR4 zůstává zatím nejasná. Promotorové a transkripčně regulační oblasti nebyly zatím charakterizovány, přičemž většina studií prezentuje up-regulaci DR4 následkem genotoxického stresu bez ohledu na funkční status p53 (73-75). Nicméně práce s jinými modelovými systémy demonstrují expresi *DR4* v závislosti na aktivitě p53 (76, vlastní pozorování). Dále jsou *death* receptory transkripčně regulovány paradoxně převážně anti-apoptickým NFκB (*obr. 4*). Podle některých studií je NFκB zásadním mediátorem genotoxiny-indukované up-regulace DR4 a DR5 (73, 77, 78) a v některých případech i CD95/Fas (79, 80).

Obr. 4. Mechanismus protichůdné úlohy transkripčního faktoru NFκB při apoptóze zprostředkované *death* receptory. Anti-apoptická aktivita NFκB je spojena s transaktivací genů zodpovědných za přežití buňky jako jsou Bcl-2 homology Bcl-x₁ a Bfl-1/A-1 (150, 152, 153); inhibitory apoptózy IAP-1, IAP-2, (154, 155); nebo inhibitor aktivace kaspázy-8/-10, FLIP (156, 157). Na druhé straně je NFκB transkripčním faktorem DR4, DR5 (73, 77, 78), CD95/Fas (79); a FasL (158).



Přítomnost ligandů a jejich aktivita: Případ protiútoků nádorů

Ke spuštění *death* receptorové signalizace je nutná interakce receptoru s aktivujícím cytokinem zvaným *death* ligand (*obr. 1*). *Death* ligandy se primárně vyskytují jako membránově vázané proteiny, ale jsou ve větší či menší míře detekovány také jako solubilní proteiny v séru (81, 82). FasL je transkripčně regulován faktory NFκB, AP-1 a c-JUN (83) a je exprimován

velmi specificky pouze CTLs a NK-buňkami, a buňkami tkáňní chráněných před imunitní reakcí (*immune privileged sites*, 84-87). Expres FasL neoplastickými buňkami (88-91) je považována za jednu z forem úniku těchto buněk imunitnímu systému organismu - za tzv. protiútok nádorů (*tumor counterattack*), při němž maligní buňky aktivně likvidují CD95/Fas⁺ imunitní buňky infiltrující nádor (92-96) a tím přispívají k poškození tkáně a šíření nádoru (97, 98). Solubilní forma ligandu, sFasL, vzniká odštěpováním molekuly z povrchu buněk jedním z enzymů asociovaných s nádory, metaloproteinázou-7 (99, 100), a funkčně se pravděpodobně liší od membránově vázaného ligandu (101). sFasL spíše přispívá k narušení cytotoxického efektu FasL vázaného na membrány buněk imunitního systému tím, že se váže na receptor CD95/Fas na povrchu neoplastických buněk, aniž by byl schopen spustit apoptotický program (102, 103, 193). Jiné studie poukazují na toxicitu sFasL pro T-lymfocyty vedoucí k oslabení protinádorové imunitní bariéry (104-106) a jeho zvýšená hladina v séru byla detekována u lymfocytární leukemie a určitého typu lymfomů (82).

Relativně málo je známo o transkripční regulaci ligandu TRAIL, nicméně přibývající data ukazují na zvýšenou expresi tohoto ligandu po vystavení buněk různým cytokinům. U různých buněčných typů jsou oba typy interferonů, tedy INF- α / β a IFN- γ , schopny up-regulovat hladinu povrchového ligandu TRAIL u periferních T-buněk (107), monocytů a dendritických buněk (108, 109) a stejný výsledek byl pozorován po vystavení určitého subsetu NK-buněk IL-2, interferonům a IL-15 (107). Data vycházející z myšského *in vivo* modelu naznačují fyziologickou úlohu ligandu TRAIL při vrozené imunitní reakci spojené s interferony a NK-buňkami (110), včetně suprese nádorového bujení (111, 112).

Decoy receptory: Případ odlákání pozornosti

Buňky mohou na extracelulární úrovni redukovat buněčnou smrt odlákáním pozornosti (angl. *decoy*) od *death* receptorů exprese tzv. *decoy* receptorů interagujících s příslušnými ligandy, avšak bez schopnosti spustit apoptotickou dráhu (113).

Je znám jeden *decoy* receptor pro FasL, DcR3, jehož gen je amplifikován u mnoha karcinomů střeva a plic (114-115).

TRAIL se váže se dvěma membránově vázanými *decoy* receptory, DcR1 (TRAIL-R3/TRID) (39, 42, 116) a DcR2 (TRAIL-R4/TRUNDD) (41, 117, 118), a jedním solubilním, osteoprotegriinem (OPG; 119, 120). Zvýšená exprese DcR1 byla detekována u některých nádorů trávicí soustavy (121) a OPG u několika nádorových buněčných linií (122). Oproti tomu byla hypermetylací promotorových oblastí snížena exprese DcR1 a DcR2 popsána u neuroblastomu (123). Výskytem *decoy* receptorů na povrchu netransformovaných buněk bývá také vysvětlována jejich relativní rezistence k TRAIL-indukované apoptóze (36, 117, 124). Nicméně následné studie neprokázaly významnou korelaci mezi expresí *decoy* receptorů a senzitivitě k působení ligandu TRAIL (52, 125-127).

Aktivace iniciačních kaspáz: Případ kaspáza-8/-10 vs. FLIP

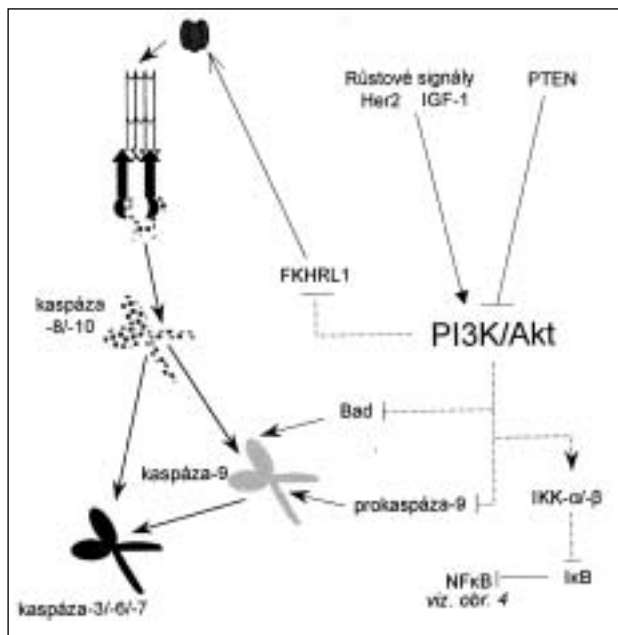
Klíčovým enzymem zahajujícím kaspázovou kaskádu po ligaci *death* receptoru je kaspáza-8 (*obr. 2*). Byla detekována delece v úseku kódujícím DED kaspázy-8 u buněk karcinomu (128) a patogeneze některých typů nádorů je patrně spojena s hypermetylací regulačních sekvencí a tím redukovanou transkripční genů kódujícího pro kaspázu-8 (129). K aktivaci iniciační kaspázy-10 po ligaci *death* receptorů patrně nedochází u všech typů buněk. U některých modelových systémů nedocházelo k interakci pro kaspázy-10 s aktivovanými receptory (130) a apoptóza probíhala bez ohledu na aktivitu kaspázy-10 (131). V jiných případech byla kaspázy-10 schopna funkčně nahradit kaspázu-8 (132, 133) a snížení její aktivity u neoplastických buněk je častější než v případě kaspázy-8 (134, 135). Velmi významným inhibitorem aktivace iniciačních kaspáz je protein FLIP. Anti-apoptický v-FLIP se nachází u některých

virů, včetně HHV-8 (136). Savcí c-FLIP je exprimován v několika sestřihových variantách (137) homologních s kaspázou-8/-10, nicméně bez katalytického potenciálu (14). Zvýšená hladina proteinu c-FLIP spojená s rezistencí k *death* receptory zprostředkované buněčné smrti byla detekována u melanomů a dalších typů nádorů (125, 138, 139). Nedávné studie poukazují na snížení hladiny c-FLIP v důsledku genotoxické terapie, což může být jeden z mechanismů, jak tyto látky přispívají u nádorových buněk k aktivaci apoptotického programu (140-142).

Posílení apoptotického signálu: Příklad zapojení mitochondrií

Dva základní způsoby indukce apoptózy, prostřednictvím *death* receptorů a stresem indukované uvolnění pro apoptotických proteinů z mitochondrií a endoplazmatického retikula (ER) se prolínají při aktivaci proteinu Bid kaspázou-8/-10 (143-145) (obr. 2). Aktivní fragment tBid translokuje do membrány mitochondrií/ER a přispívá tak k uvolnění cytochromu *c* a další pro-apoptotických molekul (146). Zapojení mitochondrií/ER po ligaci *death* receptorů slouží pravděpodobně k amplifikaci apoptotického signálu a je více (např. neuronální prekursor) či méně (např. lymfocyty) vyžadováno pro dokončení apoptotického programu u různých typů buněk (15). Interakce nebo obecně poměr pro- a anti-apoptotických proteinů Bcl-2 (147) tak mohou významně ovlivnit osud buňky po ligaci *death* receptorů (77, 130, 148-151). Mitochondriální apoptotické rameno je významně regulováno pro-apoptickou aktivitou proteinu p53 (obr. 3), transkripční aktivitou NFκB (obr. 4) a kinázovou aktivitou Akt (obr. 5). Inaktivace p53 (163, 164) nebo naopak zvýšená aktivita NFκB (165, 166) a kinázy Akt (167-169) u nádorových buněk jsou tak častou příčinou rezistence nebo redukované citlivosti buněk k *death* receptory zprostředkované apoptóze.

Obr. 5. Mechanismus regulace *death* receptorové buněčné smrti prostřednictvím aktivity Akt kinázy. Extracelulární stimulace receptorů pro růstové faktory, cytokiny a integriny indukuje aktivitu fosfatidyl inozitol 3 kinázy (PI3K), což vede k vytvoření fosforylovaných fosfoinozitolů negativně regulovaných proteinem PTEN a následně aktivaci kinázy Akt. Fosforylační aktivita Akt vede k inhibici funkce pro-apoptotického Bcl-2 homologu Bad (159), fosforylovaný prekurzor prokaspázy-9 není štěpen na aktivní enzym (160), fosforylace FKHL1 transaktivujícího FasL vede k exkluzi tohoto transkripčního faktoru z jádra (161), inaktivující fosforylace inhibitoru κB prostřednictvím IKK-α a IKK-β má za následek aktivaci NFκB (162) a jeho převážně anti-apoptotické funkce (obr. 4).



ALTERNATIVNÍ DEATH RECEPTOROVÁ SIGNALIZACE

Ligace *death* receptorů nevede výhradně k aktivaci kaspáz a apoptotické smrti buňky. Alternativní dráhy mohou vést s různou významností podle typu receptoru k aktivaci NFκB (170) a JNK/AP-1 (171, 172), což má roli především při diferenciaci (40, 173). V některých případech, v závislosti na typu buňky a celkovém kontextu, indukuje FasL a TRAIL alternativní signální dráhy vedoucí k buněčné smrti nezávislé na kaspázách, která bývá označována jako nekróza (174-177) (obr. 6).

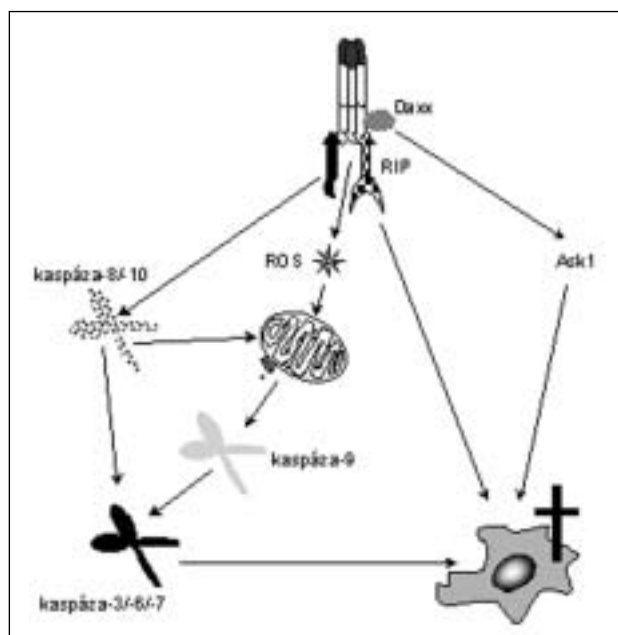
DEATH RECEPTORY V TERAPII NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ:

Jednou ze strategií protinádorové terapie je obnovení schopnosti nádorových buněk spustit apoptotický program a aktivace *death* receptorů může být alternativou, jak obejít konvenční způsob aktivace apoptotického programu působením stresových podmínek (záření, chemoterapie). Pro klinickou praxi má z tohoto hlediska význam především zvýšení/obnovení citlivosti maligních buněk ke spuštění apoptotického programu aktivací *death* receptorů buňkami imunitního systému popř. z okolí nádoru a/nebo zvýšení cytotoxického účinku *death* ligandů v rámci imunoterapeutických postupů či zvažované přímé administrace exogenních *death* ligandů nebo agonistických protilátek.

Odstranění maligního charakteru buňky má často za následek obecně pro-apoptický efekt a ve většině případů i vzhledem k *death* receptorové signalizaci. Příkladem je stabilizace a aktivace p53 působením genotoxických látek (71, 182-184) a záření (72, 185), přispívající k obnovení/zvýšení citlivosti buněk k apoptóze indukované ligandy FasL a TRAIL na několika úrovních (obr. 3) především díky pozitivní regulaci exprese receptorů.

Maligní charakter mnoha nádorů je spojen s nekontrolovanou aktivitou PI3K/Akt kinázové dráhy způsobenou, např. mutací genu kódujícího fosfatázu PTEN u některých typů nádorů

Obr. 6. Buněčná smrt po ligaci *death* receptorů. U některých typů buněk indukuje FasL a TRAIL buněčnou smrt nezávislou na kaspázové aktivitě označovanou jako nekróza (178), popsána byla nekrotická smrti prostřednictvím kinázy RIP (177) interagující s *death* receptory. Aktivace CD95/Fas může vést prostřednictvím adaptoru Daxx k buněčné smrti spuštěné Ask1 kinázou (179, 180). Některé studie naznačují bezprostřední roli *death* receptorů při produkci volných kyslíkových radikálů (181) vedoucí k depolarizaci vnější mitochondriální membrány a následně smrti buňky.



(186), zvýšenou koncentrací IGF-1 a neurotrofinů v mikroprostředí nádoru (187, 188) či zvýšenou expresí receptoru Her2 na povrchu buněk karcinomů prsu (189). Reverze PI3K/Akt signalizace odstraněním růstových faktorů (190) či inhibicí Her2 dráhy (191) je jedním ze způsobů odstranění rezistence buněk k *death* receptory zprostředkované apoptóze (obr. 5).

Po objevení jedinečné schopnosti indukovat apoptózu se začalo uvažovat o protinádorovém terapeutickém potenciálu jak *death* ligandů, tak konstruktů agonistických protilátek proti *death* receptorům. Nicméně přímá administrace FasL nebo protilátky aktivující Fas/CD95 má za následek závažnou toxicitu především díky masivní apoptóze hepatocytů (192, 193). Velmi slibná byla *in vitro* data stejně jako výsledky preklinických studií (194-196) demonstrující tumoricidní účinek exogenního rekombinantního ligandu TRAIL bez závažné toxicity pro normální tkáň. Nicméně po zjištění, že buňky získané z lidských jater (197) a mozku (198) jsou značně senzitivní k apoptóze po ligaci receptorů pro TRAIL, byly první klinické pokusy o terapii rekombinantním konstruktem ligandu TRAIL plánované na r. 2000 odloženy a další výzkum se v tomto směru zabývá specifitou toxicity jednotlivých rekombinantních ligandů (199-202) a zároveň způsoby protekce normálních buněk před cytotoxickým účinkem exogenních ligandů, např. inhibicí kaspázy-9 u zdravých hepatocytů (203).

Biologická úloha *death* ligandů v rámci imunitního systému implikuje podíl receptorové buněčné smrti na léčebném účinku protinádorových imunoterapeutických postupů. Cytokiny podávané v rámci nespecifických imunoterapeutických postupů zvyšují expresi a funkci složek *death* receptorových drah, což přispívá k eliminaci nádorových buněk buňkami imunitního systému, např. IL-2 pozitivně reguluje expresi FasL a TRAIL T-lymfocyty (204); interferony jsou výraz-

ným stimulantem exprese ligandu TRAIL na povrchu CTLs a NK buněk a tím přispívají k jejich tumoricidnímu potenciálu (108, 110, 195, 205, 206) a zároveň zvyšují senzitivitu některých typů maligních buněk k *death* receptory zprostředkované apoptóze (207-209). Některé způsoby stávající a výhledové imunoterapie kombinují cílení imunitní reakce proti nádorovým buňkám s inhibicí jejich růstového potenciálu. Léčebný efekt v klinické praxi používaných protilátek jakými jsou Rituxan (210) specifický pro CD20 a Herceptin (211) cílený na Her-2/neu exprimující nádory je založen na likvidaci cílových buněk jednak aktivací mechanismů ADCC (*antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*) a CDC (*complement-dependent cell lysis*), ale také ovlivněním buněčné signalizace směrem ke zvýšení citlivosti buněk k apoptóze (212). Díky tomuto mechanismu mohou zmíněné protilátky stejně jako zvažované konstrukty protilátek konjugované s cytostatikem, jeho prekurzorem, enzymem, popř. radionuklidem účinně specificky eliminovat (pre)neoplastické buňky buňkami aktivovaného imunitního systému prostřednictvím buněčné smrti zprostředkované jak granzymy, tak *death* receptory.

Apoptóza zprostředkovaná *death* receptory nejen přispívá k léčebnému účinku klinicky používané chemo- a radioterapie, ale představuje také potenciál pro likvidaci maligních buněk rezistentních ke stresem indukované apoptóze jako zásadního nástroje konvenční protinádorové terapie. Vzhledem k minimalizaci toxicity terapie pro zdravé buňky je zásadní podmínkou zvažovaných léčebných postupů využívajících *death* ligandy obnovení apoptotického potenciálu maligních buněk a současně protekce zdravých buněk před buněčnou smrtí.

Práce byla podpořena grantovými projekty IGA MZ ČR č. NC7133-2/2002 a GA ČR č. 301/03/0545.

Literatura

1. Wyllie A.H., Kerr J.F.R. et Currie A.R. Cell Death: The significance of Apoptosis. *Int R Cytol* 68:251-306, 1980.
2. Stroh C et Schultze-Osthoff K. Death by a thousand cuts: an ever increasing list of caspase substrates. *Cell Death Differ* 5: 997-1000, 1998.
3. Kaufmann SH, Hengartner MO. Programmed cell death: alive and well in the new millennium. *Trends Cell Biol* 11:526-34. *Trends Cell Biol* 11:526-34, 2001.
4. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 69:217-45, 2000.
5. Ferri KF, Kroemer G. Organelle-specific initiation of cell death pathways. *Nat Cell Biol* 3:E255-63, 2001.
6. Lowe S.W. & Lin A.W. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 21:485-95, 2000.
7. Gravelstein LA, Borst J. Tumor necrosis factor receptor family members in the immune system. *Semin Immunol* 10:423-34, 1998.
8. Flynn DC. Adaptor proteins. *Oncogene* 20:6270-2, 2001.
9. Chinnaiyan AM, Tepper CG, Seldin MF et al. FADD/MORT1 is a common mediator of CD95 (Fas/APO-1) and tumor necrosis factor receptor-induced apoptosis. *J Biol Chem* 271:4961-5, 1996.
10. Tibbetts MD, Zheng L, Lenardo MJ. The death effector domain protein family: regulators of cellular homeostasis. *Nat Immunol* 4:404-9, 2003.
11. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I et al. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J* 14:5579-88, 1995.
12. Muzio M, Stockwell BR, Stennicke HR et al. An Induced Proximity model for Caspase-8 Activation. *J Biol Chem* 273: 2926-3, 1998.
13. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 91: 479-89, 1997.
14. Irmiler M, Thome M, Hahne M et al. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 386: 517-21, 1997.
15. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Clin* 2:647-56, 2002.
16. Roy N, Deveraux QL, Takahashi R, Salvesen GS, Reed JC. The c-IAP-1 and c-IAP-2 proteins are direct inhibitors of specific caspases. *EMBO J* 16:6914-25, 1999.
17. Tamm I, Wang Y, Sausville E et al. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res* 58:5315-20, 1998.
18. Verhagen AM, Vaux DL. Cell death regulation by the mammalian IAP antagonist Diablo/Smac. *Apoptosis* 7:163-6, 2002.
19. French L.E. et Tschopp J. The TRAIL to selective tumor death. *Nature Med* 5:146-7, 1999.
20. Martinez OM, Krams SM. Involvement of Fas-Fas ligand interactions in graft rejection. *Int Rev Immunol* 18:527-46, 2001.
21. Krammer PH. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature* 407: 789-95, 2000.
22. Fisher GH, Rosenberg FJ, Straus SE et al. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 81:935-46, 1995.
22. Rieux-Laucat F, Le Deist F, Hivroz C et al. Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity. *Science* 268:1347-9, 1995.
24. Le Deist F, Emile JF, Rieux-Laucat F et al. Clinical, immunological, and pathological consequences of Fas-deficient conditions. *Lancet* 348:719-23, 1996.
25. Aspinall AI, Pinto A, Auer IA et al. Identification of new Fas mutations in a patient with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) and eosinophilia. *Blood Cells Mol Dis* 25:227-38, 1999.
26. Lim MS, Straus SE, Dale JK et al. Pathological findings in human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Am J Pathol* 153:1541-50, 1998.
27. Xerri L, Carbuccia N, Parc P, Birg F. Search for rearrangements and/or allelic loss of the fas/APO-1 gene in 101 human lymphomas. *Am J Clin Pathol*. 1995 Oct;104(4):424-30.
28. Landowski TH, Qu N, Buyuksal I et al. Mutations in the Fas antigen in patients with multiple myeloma. *Blood* 90:4266-70, 1997.
29. Maeda T, Yamada Y, Moriuchi R et al. Fas gene mutation in the progression of adult T cell leukemia. *J Exp Med* 189:1063-71, 1999.
30. Gronbaek K, Stratem PT, Ralfkiaer E et al. Somatic Fas mutation in Non-Hodgkin's lymphoma: association with extra-nodal disease and autoimmunity. *Blood* 92: 3018-24, 1998.
31. Takakuwa T, Dong Z, Nakatsuka S et al. Frequent mutations of Fas gene in nasal NK/T cell lymphoma. *Oncogene* 21:4702-5, 2002.
32. Lee SH, Shin MS, Kim HS et al. Alterations of the DR5/TRAIL receptor 2 gene in non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 59:5683-6, 1999.
33. Boldrini L, Faviana P, Pistolesi F et al. Alterations of Fas (APO-1/CD95) gene and its relationship with p53 in non small cell lung cancer. *Oncogene* 20:6632-7, 2001.
34. Shin MS, Park WS, Kim SY et al. Alterations of Fas (Apo-1/CD95) gene in cutaneous malignant melanoma. *Am J Pathol* 154:1785-91, 1999.

35. Takayama H, Takakuwa T, Tsujimoto Y et al. Nagata S, Aozasa K. Frequent Fas gene mutations in testicular germ cell tumors. *Am J Pathol* 161:635-41, 2002.
36. Müschen G, Warskulat U, Beckmann MW. Defining CD95 as a tumor suppressor gene. *J. Mol. Med* 78:312-25, 2000.
37. Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science* 276: 111-3, 1997.
38. Walczak H, Degli-Esposti MA, Johnson RS et al. TRAIL-R2: a novel apoptosis-mediating receptor for TRAIL. *EMBO J* 16:5386-97, 1997.
39. Sheridan JP, Marsters SA, Pitti RM et al. Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science* 277:818-21, 1997.
40. Chaudhary PM, Eby M, Jasmin A et al. Death receptor 5, a new member of the TNFR family, and DR4 induce FADD-dependent apoptosis and activate the NF-kappaB pathway. *Immunity* 7:821-30, 1997.
41. Degli-Esposti MA, Dougall WC, Smolak PJ et al. The novel receptor TRAIL-R4 induces NF-kappaB and protects against TRAIL-mediated apoptosis, yet retains an incomplete death domain. *Immunity* 7:813-20, 1997.
42. Degli-Esposti MA, Smolak PJ, Walczak H et al. Cloning and characterization of TRAIL-R3, a novel member of the emerging TRAIL receptor family. *J Exp Med* 186:1165-70, 1997.
43. Emi M, Fujiwara Y, Nakajima T et al. Frequent loss of heterozygosity for loci on chromosome 8p in hepatocellular carcinoma, colorectal cancer, and lung cancer. *Cancer Res* 52:5368-72, 1992.
44. Wistuba II, Behrens C, Virmani AK et al. Allelic losses at chromosome 8p21-23 are early and frequent events in the pathogenesis of lung cancer. *Cancer Res* 59:1973-9, 1999.
45. Kagan J, Stein J, Babaian RJ et al. Homozygous deletions at 8p22 and 8p21 in prostate cancer implicate these regions as the sites for candidate tumor suppressor genes. *Oncogene* 11:2121-6, 1995.
46. El-Naggar AK, Coombes MM, Batsakis JG et al. Localization of chromosome 8p regions involved in early tumorigenesis of oral and laryngeal squamous carcinoma. *Oncogene* 16:2983-7, 1998.
47. Yaremko ML, Kutza C, Lyzak J et al. Loss of heterozygosity from the short arm of chromosome 8 is associated with invasive behavior in breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 16:189-95, 1996.
48. Özören N, Fisher MJ, Kim K et al. Homozygous deletion of the death receptor DR4 gene in a nasopharyngeal cancer cell line is associated with TRAIL resistance. *Int J Oncol* 16:917-25, 2000.
49. Fisher MJ, Virmani AK, Wu L et al. Nucleotide substitution in the ectodomain of trail receptor DR4 is associated with lung cancer and head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 7:1688-97, 2001.
50. Hazra A, Chamberlain RM, Grossman HB et al. Death receptor 4 and bladder cancer risk. *Cancer Res* 63:1157-9, 2003.
51. Eggert A, Grotzer M.A., Zuzak TJ et al. Resistance to Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced Apoptosis in Neuroblastoma Cells Correlates with a Loss of Caspase-8 Expression. *Cancer Res* 61:1314-9, 2001.
52. Kim K., Fisher M.J., Xu S-Q, El-Deiry W.S. Molecular Determinants of Response to TRAIL in Killing of Normal and Cancer Cells. *Clin. Cancer Res* 6: 335-46, 2000.
53. McDonald ER 3rd, Chui PC, Martelli PF et al. Death domain mutagenesis of KILLER/DR5 reveals residues critical for apoptotic signaling. *J Biol Chem* 276:14939-45, 2001.
54. Lee SH, Shin MS, Kim HS et al. Somatic mutations of TRAIL-receptor 1 and TRAIL-receptor 2 genes in non-Hodgkin's lymphoma. *Oncogene* 20:399-403, 2001.
55. Shin MS, Kim HS, Lee SH et al. Mutations of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor 1 (TRAIL-R1) and receptor 2 (TRAIL-R2) genes in metastatic breast cancers. *Cancer Res* 61:4942-6, 2001.
56. Wu WG, Soria JC, Wang L et al. TRAIL-R2 is not correlated with p53 status and is rarely mutated in non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 20:4525-9, 2000.
57. Park WS, Lee JH, Shin MS et al. Inactivating mutations of KILLER/DR5 gene in gastric cancers. *Gastroenterology* 121:1219-25, 2001.
58. Pai SI, Wu GS, Ozoren N et al. Rare loss-of-function mutation of a death receptor gene in head and neck cancer. *Cancer Res* 59:2747-53, 1999.
59. Peli J, Schroter M, Rudaz C et al. Oncogenic Ras inhibits Fas ligand-mediated apoptosis by downregulating the expression of Fas. *EMBO J* 18:1824-31, 1999.
60. Müller M, Wilder S, Bannasch D et al. p53 activates the CD95 (APO-1/Fas) gene in response to DNA damage by anticancer drugs. *J Exp Med* 188:2033-45, 1998.
61. Takimoto R, El-Deiry WS. Wild-type p53 transactivates the KILLER/DR5 gene through an intronic sequence-specific DNA-binding site. *Oncogene*, 19:1735-43, 2000.
62. Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M et al. Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene* 9:1799-805, 1994.
63. Jones NA, Turner J, McIlwrath AJ et al. Cisplatin- and paclitaxel-induced apoptosis of ovarian carcinoma cells and the relationship between bax and bak up-regulation and the functional status of p53. *Mol Pharmacol* 53:819-26, 1998.
64. Oda E, Ohki R, Murasawa H et al. Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis. *Science* 288:1053-8, 1998.
65. Ungefroren H, Voss M, Bernstorff WV et al. Immunological escape mechanisms in pancreatic carcinoma. *Ann NY Acad Sci*, 880:243-51, 1999.
66. Robles AI, Bemmels NA, Foraker AB, Harris CC. APAF-1 is a transcriptional target of p53 in DNA damage-induced apoptosis. *Cancer Res* 61:6660-4, 2001.
67. Bennett M, Macdonald K, Chan SW et al. Cell surface trafficking of Fas: a rapid mechanism of p53-mediated apoptosis. *Science* 282:290-3, 1998.
68. Fukazawa T, Fujiwara T, Uno F et al. Accelerated degradation of cellular FLIP protein through the ubiquitin-proteasome pathway in p53-mediated apoptosis of human cancer cells. *Oncogene* 20:5225-31, 2001.
69. Fukazawa T, Fujiwara T, Morimoto Y et al. Differential involvement of the CD95 (Fas/APO-1) receptor/ligand system on apoptosis induced by the wild-type p53 gene transfer in human cancer cells. *Oncogene* 18: 2189-99, 1999.
70. Wu G.S., Burns T.F., McDonald E.R. 3rd et al. *KILLER/DR5* is a DNA damage-inducible p53-regulated death receptor gene. *Nature Genet* 17:141-3, 1997.
71. Wen J., Ramadevi N., Nguyen D et al. Antileukemic drugs increase death receptor 5 levels and enhance Apo-2L-induced apoptosis of human acute leukemia cells. *Blood* 96:3900-6, 2000.
72. Sheard MA, Vojtesek B, Janakova L et al. Up-regulation of Fas (CD95) in human p53wild-type cancer cells treated with ionizing radiation. *Int J Cancer* 73:757-62, 1997.
73. Gibson S.B., Oyer R., Spalding A.C. et al. Increased Expression of Death Receptors 4 and 5 Synergizes the Apoptosis Response to Combined Treatment with Etoposide and TRAIL. *Mol Cell Biol* 20: 205-12, 2000.
74. Sheikh MS, Fornace AJ Jr. Death and decoy receptors and p53-mediated apoptosis. *Leukemia* 14:1509-13, 2000.
75. Nagane M, Pan G, Weddle JJ et al. Increased death receptor 5 expression by chemotherapeutic agents in human gliomas causes synergistic cytotoxicity with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vitro and in vivo. *Cancer Res* 60: 847-53, 2000.
76. Guan B, Yue P, Clayman GL, Sun SY. Evidence that the death receptor DR4 is a DNA damage-inducible, p53-regulated gene. *J Cell Physiol* 188:98-105, 2001.
77. Ravi R., Bedi G.C., Engstrom L.W. et al. Regulation of death receptor expression and TRAIL/Apo2L-induced apoptosis by NF-κB. *Nature Cell Biol*, 3:409-16, 2001.
78. Spalding AC, Jotte RM, Scheinman RI et al. TRAIL and inhibitors of apoptosis are opposing determinants for NF-kappaB-dependent, genotoxin-induced apoptosis of cancer cells. *Oncogene* 21:260-71, 2002.
79. Ouazz F., Li M., Beg A.A. A Critical Role for the RelA Subunit of Nuclear Factor κB in Regulation of Multiple Immune-response Genes and in Fas-induced Cell Death. *J Exp Med* 189: 999-1004, 1999.
80. Kuhnel F, Zender L, Paul Y et al. NFκappaB mediates apoptosis through transcriptional activation of Fas (CD95) in adenoviral hepatitis. *J Biol Chem* 275:6421-7, 2000.
81. Cheng J, Zhou T, Liu C et al. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. *Science* 263: 1759-62, 1994.
82. Tanaka M, Suda T, Haze K et al. Fas ligand in human serum. *Nat Med* 2:317-22, 1996.
83. Nagata, S. Apoptosis by death receptors. *Cell* 88:335-365, 1997.
84. Hunt JS, Vassmer D, Ferguson TA, Miller L. Fas ligand is positioned in mouse uterus and placenta to prevent trafficking of activated leukocytes between the mother and the conceptus. *J Immunol*, 158:4122-8, 1997.
85. Ferguson TA, Green DR. Fas-ligand and immune privilege: the eyes have it. *Cell Death Differ* 8:771-2, 2001.
86. Ferguson TA, Green DR, Griffith TS. Cell death and immune privilege. *Int Rev Immunol* 21:153-72, 2002.
87. Griffith T, Brunner T, Fletcher SM et al. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 270: 1189-92.
88. Sato K, Kimura F, Nakamura Y et al. An aggressive nasal lymphoma accompanied by high levels of soluble Fas ligand. *Br J Haematol* 94:379-82, 1996.
89. Hahne M, Rimoldi D, Schroter M et al. Melanoma cell expression of Fas (Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science* 274: 1363-6, 1996.
90. Saas P, Walker PR, Hahne M et al. Fas ligand expression by astrocytoma in vivo: maintaining immune privilege in the brain? *J Clin Invest* 99:1173-8, 1997.
91. Niehans GA, Brunner T, Frizelle SP et al. Human lung carcinomas express Fas ligand. *Cancer Res* 57:1007-12, 1997.
92. O'Connell J, O'Sullivan G, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand. *J Exp Med* 184:1075-82, 1996.
93. Bennett MW, O'Connell J, O'Sullivan GC et al. The Fas counterattack in vivo: apoptotic depletion of tumor-infiltrating lymphocytes associated with Fas ligand expression by human esophageal carcinoma. *J Immunol* 160:5669-75, 1998.
94. Bennett MW, O'Connell J, O'Sullivan GC et al. Expression of Fas ligand by human gastric adenocarcinomas: a potential mechanism of immune escape in stomach cancer. *Gut* 44: 156-62, 1999.
95. Lim SC. Fas-related apoptosis in gastric adenocarcinoma. *Oncol Rep* 10:57-63, 2003.
96. Mann B, Gratchev A, Bohm C et al. FasL is more frequently expressed in liver metastases of colorectal cancer than in matched primary carcinomas. *Br J Cancer* 79:1262-9, 1999.
97. Reichmann E. The biological role of the Fas/FasL system during tumor formation and progression. *Semin Cancer Biol* 12:309-15, 2002.
98. Giordano C, Stassi G, De Maria R et al. Potential involvement of Fas and its ligand in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *Science* 275: 960-3, 1997.

100. Chervonsky AV, Wang Y, Wong FS et al. The role of Fas in autoimmune diabetes. *Cell* 89:17-24, 1997.
101. Powell WC, Fingleton B, Wilson CL et al. The metalloproteinase matrilysin proteolytically generates active soluble Fas ligand and potentiates epithelial cell apoptosis. *Curr Biol* 9:1441-7, 1999.
102. Suda T, Hashimoto H, Tanaka M et al. Membrane Fas ligand kills human peripheral blood T lymphocytes, and soluble Fas ligand blocks the killing. *J Exp Med* 186:2045-50, 1997.
103. Suliman A., Lam A., Datta R, Srivastava R.K. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways. *Oncogene* 20:2122-33, 2001.
103. Tanaka M, Itai T, Adachi M, Nagata S. Downregulation of Fas ligand by shedding. *Nat Med* 4:31-6, 1998.
104. Tanaka M, Suda T, Takahashi T, Nagata S. Expression of the functional soluble form of human fas ligand in activated lymphocytes. *EMBO J* 14:1129-35, 1995.
105. Mischen M, Moers C, Warskulat U et al. CD95 ligand expression as a mechanism of immune escape in breast cancer. *Immunology* 99:69-77, 2000.
106. Hoffmann TK, Dworacki G, Tsukihito T et al. Spontaneous apoptosis of circulating T lymphocytes in patients with head and neck cancer and its clinical importance. *Clin Cancer Res* 8:2553-62, 2002.
107. Kayagaki N, Yamaguchi N, Nakayama M et al. Type I interferons (IFNs) regulate tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) expression on human T cells: A novel mechanism for the antitumor effects of type I IFNs. *J Exp Med* 189:1451-60, 1999.
108. Fanger NA, Maliszewski CR, Schooley K, Griffith TS. Human dendritic cells mediate cellular apoptosis via tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *J Exp Med* 190:1155-64, 1999.
109. Griffith TS, Wiley SR, Kubin MZ et al. Monocyte-mediated tumoricidal activity via the tumor necrosis factor-related cytokine, TRAIL. *J Exp Med* 189:1343-54, 1999.
110. Smyth MJ, Cretney E, Takeda K et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) contributes to interferon gamma-dependent natural killer cell protection from tumor metastasis. *J Exp Med* 193:661-70, 2001.
111. Cretney E, Takeda K, Yagita H et al. Increased susceptibility to tumor initiation and metastasis in TNF-related apoptosis-inducing ligand-deficient mice. *J Immunol* 168:1356-61, 2002.
112. Takeda K, Smyth MJ, Cretney E et al. Critical role for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in immune surveillance against tumor development. *J Exp Med* 195:161-9, 2002.
113. Meng RD, McDonald ER 3rd, Sheikh MS et al. The TRAIL decoy receptor TRUNDD (Dcr2, TRAIL-R4) is induced by adenovirus-p53 overexpression and can delay TRAIL-, p53-, and KILLER/DR5-dependent colon cancer apoptosis. *Mol Ther* 1:130-44, 2000.
114. Pitti RM, Marsters SA, Lawrence DA et al. Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer. *Nature* 396:699-702, 1998.
115. Bai C., Connolly B., Metzker M.L et al. Overexpression of M68/Dcr3 in human gastrointestinal tract tumors independent of gene amplification and its location in a four-gene cluster. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 200, 97: 1230-5.
116. Pan G, Ni J, Wei YF et al. An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL. *Science* 277:815-8, 1997.
117. Pan G, Ni J, Yu G et al. TRUNDD, a new member of the TRAIL receptor family that antagonizes TRAIL signalling. *FEBS Lett* 424:41-5, 1998.
118. Marsters SA, Sheridan JP, Pitti RM et al. A novel receptor for Apo2L/TRAIL contains a truncated death domain. *Curr Biol* 7:1003-6, 1997.
119. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89:309-19, 1997.
120. Emery JG, McDonnell P, Burke MB et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem* 273:14363-7, 1998.
121. Sheikh MS, Huang Y, Fernandez-Salas EA et al. The antiapoptotic decoy receptor TRID/TRAIL-R3 is a p53-regulated DNA damage-inducible gene that is overexpressed in primary tumors of the gastrointestinal tract. *Oncogene* 18:4153-9, 1999.
122. Hoken I, Croucher PI, Hamdy FC, Eaton CL. Osteoprotegerin (OPG) is a survival factor for human prostate cancer cells. *Cancer Res* 62:1619-23, 2002.
123. van Noesel MM, van Bezouw S, Salomons GS et al. Tumor-specific down-regulation of the tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand decoy receptors Dcr1 and Dcr2 is associated with dense promoter hypermethylation. *Cancer Res* 62:2157-61, 2002.
124. Degli-Esposti M. To die or not to die-the quest of the TRAIL receptors. *J Leukoc Biol* 65:535-42, 1999.
125. Griffith TS, Chin WA, Jackson GC et al. Intracellular regulation of TRAIL-induced apoptosis in human melanoma cells. *J Immunol* 161:2833-40, 1998.
126. Zhang XD, Franco A, Myers K et al. Relation of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor and FLICE-inhibitory protein expression to TRAIL-induced apoptosis of melanoma. *Cancer Res* 59:2747-53, 1999.
127. Nguyen T., Zhang X.D., Hersey P. Relative Resistance of Fresh Isolates of Melanoma to Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand (TRAIL)-induced Apoptosis. *Clin. Cancer Res* 7:966-73, 2001.
128. Liu B, Peng D, Lu Y et al. A novel single amino acid deletion caspase-8 mutant in cancer cells that lost proapoptotic activity. *J Biol Chem* 277:30159-64, 2002.
129. Fulda S, Kufer MU, Meyer E et al. Sensitization for death receptor- or drug-induced apoptosis by re-expression of caspase-8 through demethylation or gene transfer. *Oncogene* 20:5865-77, 2001.
131. Seol DW, Li J, Seol MH et al. Signaling events triggered by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): caspase-8 is required for TRAIL-induced apoptosis. *Cancer Res* 61:1138-43, 2001.
132. Wang J, Chun HJ, Wong W et al. Caspase-10 is an initiator caspase in death receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(24):13884-8, 2001.
133. Kischkel FC, Lawrence DA, Tinel A et al. Death receptor recruitment of endogenous caspase-10 and apoptosis initiation in the absence of caspase-8. *J Biol Chem* 276: 46639-46, 2001.
134. Shin MS, Kim HS, Kang CS et al. Inactivating mutations of CASP10 gene in non-Hodgkin lymphomas. *Blood* 99:4094-9, 2002.
135. Harada K, Toyooka S, Shivapurkar N et al. Deregulation of caspase 8 and 10 expression in pediatric tumors and cell lines. *Cancer Res* 62:5897-901, 2002.
136. Thome M., Schneider P., Hofmann K et al. Viral FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. *Nature* 386:517-21, 1997.
137. Tschopp J, Irmeler M, Thome M. Inhibition of fas death signals by FLIPs. *Curr Opin Immunol* 10:552-8, 1998.
138. French LE, Tschopp J. Inhibition of death receptor signaling by FLICE-inhibitory protein as a mechanism for immune escape of tumors. *J Exp Med* 190:891-3, 1999.
139. Bullani RR, Huard B, Viard-Leveugle I et al. Selective expression of FLIP in malignant melanocytic skin lesions. *J Invest Dermatol* 117:360-4, 2001.
140. Hyer ML, Sudarshan S, Kim Y et al. Downregulation of c-FLIP sensitizes DU145 prostate cancer cells to Fas-mediated apoptosis. *Cancer Biol Ther* 1:401-6, 2002.
141. Kelly MM, Hoel BD, Voelkel-Johnson C. Doxorubicin Pretreatment Sensitizes Prostate Cancer Cell Lines to TRAIL Induced Apoptosis Which Correlates with the Loss of c-FLIP Expression. *Cancer Biol Ther* 1:520-7, 2002.
142. Guo F, Bhalla K. The FLIP Variation on the TRAIL DISC: Doxorubicin Conducts the Swan Song. *Cancer Biol Ther* 1:528-9, 2002.
143. Luo X, Budihardjo I, Zou H et al. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell* 94:481-90, 1998.
144. Li H, Zhu H, Xu CJ, Yuan J. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell* 94:491-501, 1998.
145. Gross A, Yin XM, Wang K et al. Caspase cleaved BID targets mitochondria and is required for cytochrome c release, while BCL-XL prevents this release but not tumor necrosis factor-R1/Fas death. *J Biol Chem* 274:11566-63, 1999.
146. Kuwana T, Smith JJ, Muzio M et al. Apoptosis induction by caspase-8 is amplified through the mitochondrial release of cytochrome c. *J Biol Chem* 273:16589-94, 1998.
147. Adams J.M. et Cory S. The Bcl-2 Protein Family: Arbiters of Cell Survival. *Science* 281:1322-26, 1998.
148. Knight MJ, Rifkin CD, Muscat AM et al. Analysis of FasL and TRAIL induced apoptosis pathways in glioma cells. *Oncogene* 20:5789-98, 2001.
149. Fulda S, Meyer E, Debatin KM. Inhibition of TRAIL-induced apoptosis by Bcl-2 overexpression. *Oncogene* 21:2283-94, 2002.
150. Ravi R et Bedi A. Requirement of Bax for TRAIL/Apo2L-induced Apoptosis of Colorectal Cancers: Synergism with Sulindac-mediated Inhibition of Bcl-xL. *Cancer Research* 62:1583-7, 2002.
151. de Almodovar C.R., Ruiz-Ruiz C., Muñoz-Pinedo C et al. The differential sensitivity of Bcl-2-overexpressing human breast tumor cells to TRAIL or doxorubicin-induced apoptosis is dependent on Bcl-2 protein levels. *Oncogene* 20:7128-33, 2001.
152. Karin M., Cao Y., Greten F.R., Li Z.-W. NF- κ B in cancer: From innocent bystander to major culprit. *Nature Rev. Cancer* 2:301-10, 2002.
153. Wang C.-Y., Guttridge D.C., Mayo M.W. Baldwin A.S. Jr. NF- κ B Induces Expression of the Bcl-2 Homologue A1/Bfl-1 To Preferentially Suppress Chemotherapy-Induced Apoptosis. *Mol Cell Biol* 9:5923-9, 1999.
154. Erl W, Hansson GK, de Martin R et al. Nuclear factor-kappa B regulates induction of apoptosis and inhibitor of apoptosis protein-1 expression in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 84:668-77.
155. Maeda S, Yoshida H, Mitsuno Y et al. Analysis of apoptotic and antiapoptotic signalling pathways induced by *Helicobacter pylori*. *Gut* 50:771-8, 2002.
156. Kreuz S, Siegmund D, Scheurich P, Wajant H. NF-kappaB inducers upregulate cFLIP, a cycloheximide-sensitive inhibitor of death receptor signaling. *Mol Cell Biol* 21:3968-73, 2001.
157. Micheau O, Lens S, Gaide O, Alevizopoulos K, Tschopp J. NF-kappaB signals induce the expression of c-FLIP. *Mol Cell Biol* 21:5299-305, 2001.
158. Teixeira E, Garcia-Sahuquillo A, Alarcon B, Bragado R. Apoptosis-resistant T cells have a deficiency in NF-kappaB-mediated induction of Fas ligand transcription. *Eur J Immunol* 29:745-54, 1999.
159. del Peso L, Gonzalez-Garcia M, Page C, Herrera R, Nunez G. Interleukin-3-induced phosphorylation of BAD through the protein kinase Akt. *Science* 278:687-9, 1997.
160. Cardone MH, Salvesen GS, Widmann S, Johnson G, Frish SM. The regulation of anoikis: MEKK-1 activation requires cleavage by caspases. *Cell* 90: 315-23, 1997.
161. Brunet A, Bonni A, Zigmund MJ et al. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell* 96:857-68, 1999.

162. Karin M, Delhase M. JNK or IKK, AP-1 or NF-kappaB, which are the targets for MEK kinase 1 action? *Proc Natl Acad Sci USA* 95:9067-9, 1999.
163. Sheard MA, Vojtesek B. Simian virus-40 infection inhibits DNA damage-induced enhancement of CD95 expression and function. *Oncogene* 21:190-7, 2002.
164. Arizono Y, Yoshikawa H, Naganuma H et al. A mechanism of resistance to TRAIL/Apo2L-induced apoptosis of newly established glioma cell line and sensitisation to TRAIL by genotoxic agents. *Br J Cancer* 88:298-306, 2003.
165. Eid MA, Lewis RW, Abdel-Mageed AB, Kumar MV. Reduced response of prostate cancer cells to TRAIL is modulated by NFkappaB-mediated inhibition of caspases and Bid activation. *Int J Oncol* 21:111-7, 2002.
166. Jeremias I, Kupatt C, Baumann B et al. Inhibition of nuclear factor kappaB activation attenuates apoptosis resistance in lymphoid cells. *Blood* 91:4624-31, 1998.
167. Park SY, Seol DW. Regulation of Akt by EGF-R inhibitors, a possible mechanism of EGF-R inhibitor-enhanced TRAIL-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 295:515-8, 2002.
168. Kandasamy K, Srivastava RK. Role of the phosphatidylinositol 3'-kinase/PTEN/Akt kinase pathway in tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in non-small cell lung cancer cells. *Cancer Res* 62:4929-37, 2002.
169. O'Gorman DM, McKenna SL, McGahon AJ, Cotter TG. Inhibition of PI3-kinase sensitises HL60 human leukaemia cells to both chemotherapeutic drug- and Fas-induced apoptosis by a JNK independent pathway. *Leuk Res* 25:801-11, 2001.
170. Trauzold A., Wermann H., Arlt A et al. CD95 and TRAIL receptor-mediated activation of protein kinase C and NF-kB contributes to apoptosis resistance in ductal pancreatic adenocarcinoma cells. *Oncogene* 2001, 20: 4258-69.
171. Wilson CA, Browning JL. Death of HT29 adenocarcinoma cells induced by TNF family receptor activation is caspase-independent and displays features of both apoptosis and necrosis. *Cell Death Differ* 9:1321-33, 2002.
172. Roulston A, Reinhard C, Amiri P, Williams LT. Early activation of c-Jun N-terminal kinase and p38 kinase regulate cell survival in response to tumor necrosis factor alpha. *J Biol Chem* 273:10232-9, 1998.
173. Siegmund D., Mauri D., Peters N., Juo P et al. Fas-associated Death Domain Protein (FADD) and Caspase-8 Mediate Up-regulation of c-Fos by Fas Ligand and Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) via a FLICE Inhibitory Protein (FLIP)-regulated Pathway. *J Biol Chem* 276:32585-90, 2001
174. Beg AA, Baltimore D. An essential role for NF-kappaB in preventing TNF-alpha-induced cell death. *Science* 274:782-4, 1996.
175. Vercammen D, Brouckaert G, Denecker G et al. Dual signaling of the Fas receptor: initiation of both apoptotic and necrotic cell death pathways. *J Exp Med* 188:919-30, 1998.
176. Matsumura H, Shimizu Y, Ohsawa Y et al. Necrotic death pathway in Fas receptor signaling. *J Cell Biol* 151:1247-56, 2000.
177. Holler N, Zaru R, Micheau O, Thome M, Attinger A, Valitutti S, Bodmer JL, Schneider P, Seed B, Tschopp J. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nat Immunol* 1:489-95, 2000.
178. Kitanaka C, Kuchino Y. Caspase-independent programmed cell death with necrotic morphology. *Cell Death Differ* 6:508-15, 1999.
179. Chang HY, Nishitoh H, Yang X et al. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) by the adapter protein Daxx. *Science* 281:1860-3, 1998.
180. Charette SJ, Landry J. The interaction of HSP27 with Daxx identifies a potential regulatory role of HSP27 in Fas-induced apoptosis. *Ann N Y Acad Sci* 926:126-31, 2000.
181. Lee MW, Park SC, Kim JH et al. The involvement of oxidative stress in tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis in HeLa cells. *Cancer Lett* 182: 75-82, 2002.
182. Siervo-Sassi RR, Marrangoni AM, Feng X et al. Physiological and molecular effects of Apo2L/TRAIL and cisplatin in ovarian carcinoma cell lines. *Cancer Lett* 190:62-71, 2003.
183. Keane M.M., Ettenberg S.A., Nau M.M et al. Chemotherapy Augments TRAIL-induced Apoptosis in Breast Cell Lines. *Cancer Res* 59:734-41, 1999.
184. Lacour S., Hammann A., Wotawa A et al. Anticancer Agents Sensitize Tumor Cells to Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand-mediated Caspase-8 Activation and Apoptosis. *Cancer Res* 61:1645-54, 2001.
185. Belka C, Schmid B, Marini P et al. Sensitization of resistant lymphoma cells to irradiation-induced apoptosis by the death ligand TRAIL. *Oncogene* 20:2190-6, 2001.
186. Leslie NR, Downes CP. PTEN: The down side of PI 3-kinase signalling. *Cell Signal* 14:285-95, 2002.
187. Encinas M, Iglesias M, Llecha N, Comella JX. Extracellular-regulated kinases and phosphatidylinositol 3-kinase are involved in brain-derived neurotrophic factor-mediated survival and neurogenesis of the neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *J Neurochem* 73:1409-21, 1999.
188. Krystal GW, Sulanke G, Litz J. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase-Akt signaling blocks growth, promotes apoptosis, and enhances sensitivity of small cell lung cancer cells to chemotherapy. *Mol Cancer Ther* 1:913-22, 2002.
189. Peles E, Bacus SS, Koski RA et al. Isolation of the neu/HER-2 stimulatory ligand: a 44 kd glycoprotein that induces differentiation of mammary tumor cells. *Cell* 69:205-16, 1992.
190. Poulaki V, Mitsiades CS, Kotoula V et al. Regulation of Apo2L/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in thyroid carcinoma cells. *Am J Pathol* 161:643-54, 2002.
191. Cuello M, Ettenberg SA, Clark AS et al. Down-regulation of the erbB-2 receptor by trastuzumab (herceptin) enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in breast and ovarian cancer cell lines that overexpress erbB-2. *Cancer Res* 61:4892-900, 2001.
192. Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R et al. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 364:806-9, 1993.
193. Schneider P, Holler N, Bodmer JL et al. Conversion of membrane-bound Fas(CD95) ligand to its soluble form is associated with downregulation of its proapoptotic activity and loss of liver toxicity. *J Exp Med* 187:1205-13, 1998.
194. Walczak H., Miller R.E., Ariail K et al. Tumorocidal activity of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vivo. *Nature Med* 5:157-63, 1999.
195. Takeda K, Smyth MJ, Cretney E et al. Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in NK cell-mediated and IFN-gamma-dependent suppression of subcutaneous tumor growth. *Cell Immunol* 214:194-200, 2001.
196. Ashkenazi A, Pai RC, Fong S et al. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand. *J Clin Invest* 104:155-62, 1999.
197. Jo M, Kim TH, Seol DW et al. Apoptosis induced in normal human hepatocytes by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Nat Med* 6:564-7, 2000.
198. Nitsch R, Beschmann I, Deisz RA et al. Human brain-cell death induced by tumour-necrosis-factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *Lancet* 356:827-8, 2000.
199. Nagane M., Huang H.-J.S, Cavene W.K. The potential of TRAIL for cancer chemotherapy. *Apoptosis* 6:191-7, 2001.
200. Lawrence D, Shahrokh Z, Marsters S et al. Differential hepatocyte toxicity of recombinant Apo2L/TRAIL versions. *Nat Med* 7:383-5, 2001.
201. El-Deiry W.S. Insights into cancer therapeutic design based on p53 and TRAIL receptor signaling. *Cell Death Differ* 8:1066-75, 2001.
202. Ichikawa K, Liu W, Zhao L et al. Tumorocidal activity of a novel anti-human DR5 monoclonal antibody without hepatocyte cytotoxicity. *Nat Med* 7:954-60, 2001.
203. Özören N., Kim K., Burns T.F. et al. The Caspase 9 Inhibitor Z-LEHD-FMK Protects Human Liver Cells while Permitting Death of Cancer Cells Exposed to Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand. *Cancer Res* 60:6259-65, 2000.
204. Snell Y, Clodi K, Zhao S et al. Activity of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in haematological malignancies. *Br J Haematol* 99:618-24, 1997.
205. Zama L, Ahmad M, Bennett IM et al. Natural killer (NK) cell-mediated cytotoxicity: differential use of TRAIL and Fas ligand by immature and mature primary human NK cells. *J Exp Med* 88:2375-80, 1998.
206. Kayagaki N, Kawasaki A, Ebata T et al. Metalloproteinase-mediated release of human Fas ligand. *J Exp Med* 182:1777-83, 1995.
207. Moers C, Warskulat U, Mischen M et al. Regulation of CD95 (Apo-1/Fas) ligand and receptor expression in squamous-cell carcinoma by interferon-gamma and cisplatin. *Int J Cancer* 80:564-72, 1999.
208. Varela N, Munoz-Pinedo C, Ruiz-Ruiz C et al. Interferon-gamma sensitizes human myeloid leukemia cells to death receptor-mediated apoptosis by a pleiotropic mechanism. *J Biol Chem* 276:17779-87, 2001.
209. Chawla-Sarkar M, Leaman DW, Jacobs BS, Borden EC. IFN-beta pretreatment sensitizes human melanoma cells to TRAIL/Apo2 ligand-induced apoptosis. *J Immunol* 169:847-55, 2002.
210. Coiffier B, Lepage E, Briere J et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 346:235-42, 2002.
211. Ligibel JA, Winer EP. Trastuzumab/chemotherapy combinations in metastatic breast cancer. *Semin Oncol* 29:38-43, 2002.
212. Zhou BP, Hu MC, Miller SA et al. HER-2/neu blocks tumor necrosis factor-induced apoptosis via the Akt/NF-kappaB pathway. *J Biol Chem* 275:8027-31, 2000.
213. Sheard MA, Uldrijan S et Vojtesek B. Role of p53 in Regulating Constitutive and X-radiation-Inducible CD95 Expression and Function in Carcinoma Cells. *Cancer Res* 64:3:***-***, 2003.

CHEMOTERAPIE RALTITREXED A OXALIPLATINA VE DRUHÉ LINII LÉČBY METASTATICKÉHO KOLOREKTÁLNÍHO KARCINOMU PŘEDLÉČENÉHO KOMBINACÍ FLUOROURACIL/LEUKOVORIN ± IRINOTEKAN

RALTITREXED AND OXALIPLATIN AS SECOND LINE TREATMENT OF METASTATIC COLORECTAL CANCER PRETREATED WITH COMBINED REGIMEN FLUOROURACIL/LEUCOVORIN ± IRINOTECAN

KOCÁKOVA I., VYZULA R., ŠPELDA S., DEMLOVÁ R., KOCÁK I., KARÁSEK P., VETCHÁ H., KISS I.*

KLINIKA KOMPLEXNÍ ONKOLOGICKÉ PÉČE, MOU, BRNO

* ODDĚLENÍ KLINICKÉ ONKOLOGIE FN, BRNO

Souhrn: Primárním cílem studie bylo vyhodnocení účinnosti kombinace raltitrexed + oxaliplatin jako chemoterapie druhé linie u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem, sekundárním cílem pak vyhodnocení celkového přežití, času do progresu a toxicity režimu. Indikací pro léčbu byli pacienti s progredujícím metastatickým kolorektálním karcinomem předléčení v první linii chemoterapií 5-fluorouracil/leukovorin ± irinotekan. Zařazeno bylo 58 pacientů, WHO PS 0 – 2. Terapeutické schéma se skládalo z raltitrexedu 3mg/m² v 15 min. infuzi a oxaliplatinu 130 mg/m² v 2 hod. infuzi v intervalu tří týdnů. Léčba byla ukončena při progresi onemocnění, závažné toxicitě nebo odmítnutí pacientem. Z 54 vyhodnotitelných pacientů byla zaznamenána objektivní odpověď ve 26%, stabilizace onemocnění bylo dosaženo u 65% léčených pacientů. Medián času do progresu onemocnění byl 5,9 měsíců, 32 pacientů při mediánu sledování 8 měsíců žije. Léčba byla dobře tolerovaná, toxicita 3. nebo 4. stupně (NCI-CTC kriteria) se vyskytla u 8 pacientů. Z nejčastějších nežádoucích účinků se vyskytovala periferní neuropatie, nauzea, zvracení a hematologická toxicita stupně 1, 2. Tento režim se jeví efektivním a dobře tolerovaným režimem v druhé linii léčby diseminovaného kolorektálního karcinomu.

Klíčová slova: kolorektální karcinom, metastatické onemocnění, paliativní chemoterapie, raltitrexed, oxaliplatin

Summary: The primary endpoint of the study was to evaluate the efficacy of the combined chemotherapy raltitrexed + oxaliplatin as second-line treatment in patient with metastatic colorectal cancer. The secondary end points were overall survival, time to progression and evaluation of the toxicity. The target population included patients with metastatic colorectal adenocarcinoma, who progressed after first line chemotherapy regimen with 5-fluorouracil/leucovorin ± irinotecan. Totally 58 patients were included, WHO PS 0 – 2. Treatment consisted of raltitrexed 3mg/m² i.v. infusion 15 min. and oxaliplatin 130 mg/m² i.v. infusion 2 hours, both given on day 1 every three weeks until progression of disease, unacceptable toxicities or decision of the patient. The overall objective response rate was 26 % for 54 evaluable patients, stable disease occurred in 65 % of the treated patients. The median time to progression was 5,9 months, after median follow-up 8 months 32 patients are still alive. The treatment was well-tolerated, grade 3 or 4 toxicity (NCI-CTC criteria) appeared in 8 patient only. The most common toxicity recorded were sensory neuropathy, nausea, vomiting and hematological toxicity grade 1, 2. The combination of oxaliplatin and raltitrexed appears to be effective and well tolerated as second line therapy in patients with disseminated colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer, metastatic disease, palliative chemotherapy, raltitrexed, oxaliplatin

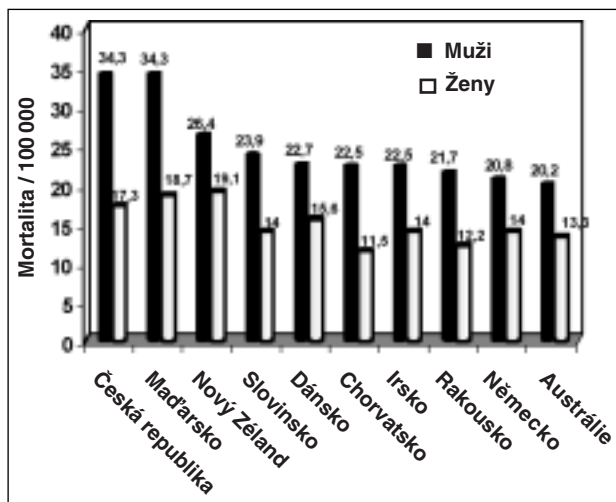
ÚVOD

Kolorektální karcinom (KRK) představuje jednu z nejčastějších příčin úmrtí na nádorová onemocnění na celém světě. I přes široké spektrum zaváděných preventivních opatření jde v České republice o malignitu se vzrůstající incidencí, která nám podle celosvětových statistik zajistila prvenství v počtu i mortalitě na 100 000 obyvatel, graf č.1(1). Z 5 600 ročně nově diagnostikovaných případů dojde přibližně u 4 000 pacientů k úmrtí, v drtivě většině na metastatické postižení jater. U pacientů s průkazem solitární metastázy nebo v případě lokální recidivy nádoru má radikální resekce prokazatelný vliv na prodloužení přežití, ve více jak 80% případů se však jedná o inoperabilní klinické stadium IV. Cílem paliativní chemoterapie u diseminovaného onemocnění, případně inoperabilního nádoru, je ovlivnit antiproliferačním účinkem cytostatické léčby nekontrolovatelný nádorový růst. Randomizované studie III. fáze přináší nezpochybnitelné doklady o tom, že paliativní chemoterapie prodlužuje medián přežití nemocných s lokálně pokročilým nebo metastatickým karcinomem kolorekta na dvojnásobek a dokonce přes nežádoucí vedlejší účinky zlep-

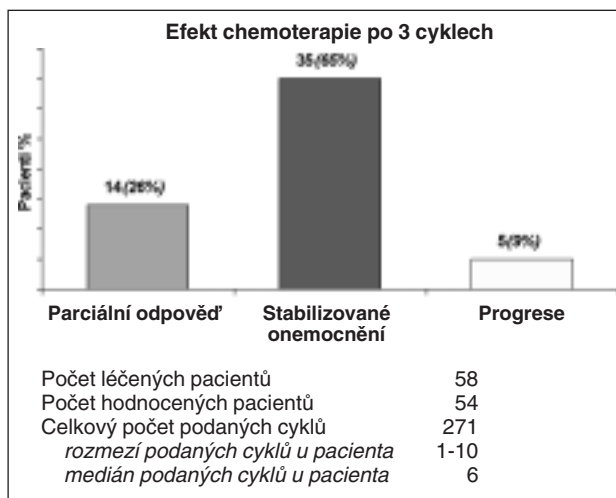
šuje kvalitu života (prodloužení bezpříznakového období, zpomalení váhového úbytku, redukce bolesti) ve srovnání s nemocnými, kterým byla poskytnuta pouze podpůrná péče. Medián přežití u pacientů léčených chemoterapií se pohybuje kolem 11 měsíců, v případě jen podpůrné léčby je 5 měsíců.

Téměř pět desetiletí se v léčbě kolorektálního karcinomu v indikaci paliativní chemoterapie používá antimetabolit **5-fluorouracil** (5-FU) zavedený do klinické praxe v r. 1958. Procento léčebných odpovědí (RR) samotným 5-FU se pohybuje kolem 7-18%. Metaanalýza 9 randomizovaných studií prokázala, že modulace metabolismu fluorouracilu pomocí leukovorinu (FA) zvýšila efektivitu 5-FU téměř o 100% (2-6). V současnosti jsou nejčastěji jako chemoterapie 1. linie podávány tři bolusové režimy 5-fluorouracil/leukovorin: FU/FA Mayo, Machover a Roswell Park, RR je 20-30%. Signifikantně vyšší procento léčebných odpovědí je pozorováno při kontinuální infuzi 5-fluorouracilu. Z nejčastěji používaných režimů je to kombinace: AIO, De Gramont (7,8). Nová cytostatika – **raltitrexed**, specifický inhibitor thymidilát syntázy a **kapecitabin** se odlišují mechanismem protinádorového účinku, ale i spekt-

Graf. č. 1: Nejvyšší mortalita kolorektálního karcinomu v deseti zemích v letech 1994-1997 (2)



Graf č. 2: Odpověď na léčbu.



rem nežádoucích účinků. Lze je s výhodou použít k ambulantní léčbě pacientů s metastatickým KRK. V monoterapii v 1. linii léčby mají srovnatelnou účinnost, čas do progresu (TTP) a medián přežití (OS) jako standardní FU/FA režimy (9-13).

Z dalších cytostatik s podobným, ale ne zcela identickým mechanismem účinku jako cisplatina prokázala efektivitu v léčbě metastatického KRK oxaliplatinu. V monoterapii u nepředléčených pacientů dosahuje 18% léčebných odpovědí, v 2. linii u pacientů rezistentních na podání 5-FU byl zaznamenán RR 10% (14-16). Na základě prokazatelného synergismu s 5-FU se v současnosti používá nejčastěji v kombinaci s kontinuální infuzí 5-FU/FA-režim FOLFOX, procento léčebných odpovědí v 1. linii přesahuje 50%, tato kombinace v porovnání s FU/FA režimem signifikantně prodlužuje čas do progresu onemocnění (TTP: 8,7 měsíců vs 6,1 měsíců, $P < 0,001$) s mediánem přežití: 19,9 vs 19,4 měsíců. Nezaznamenaný rozdíl v přežití lze pravděpodobně vysvětlit tím, že 57% pacientů v kontrolním ramenu bylo léčeno v 2. linii oxaliplatinou (17-21). Tato kombinace se na základě studií jeví efektivní i u pacientů s iniciálně neresekabilními jaterními metastázami v neoadjuvantním podání. Giacchetti analyzoval soubor 151 pacientů s metastatickým postižením jater, kdy po neoadjuvantní léčbě režimem FU/FA/oxaliplatinu 77 pacientů (50%) bylo indikováno k resekci, u 58 pacientů byla provedena makroskopicky kompletní resekce metastázy, při mediánu sledování 7 let 50% pacientů žije (22,23).

Irinotekan, inhibitor topoizomerázy I, prokázal protinádorovou účinnost v 1. i 2. linii léčby metastatického onemocnění. V monoterapii jako chemoterapie 2. řady u pacientů rezistentních na 5-FU prokázal v dávkování 125mg/m² v týdenním podání RR: 14,1%, s mediánem přežití 9,9 měsíců. Cunningham u pacientů refrakterních na podání 5-FU srovnával irinotekan jako salvage režim v dávce 300 až 350 mg/m² každé 3 týdny se skupinou pouze s podpůrnou léčbou (BSC). Při mediánu sledování 13 měsíců bylo zaznamenáno jednoleté přežití pro léčenou skupinu 36,2% vs 13,8%. Paliativní chemoterapie zlepšovala lokální kontrolu symptomů způsobených nádorovým onemocněním a vedla ke zlepšení kvality života ve srovnání s BSC. Dvě multicentrické studie fáze II (Rougier et al, Cunningham et al.) srovnávaly účinnost irinotekanu v dávce 300-350 mg/m² s kontinuálním podáním 5-FU jako chemoterapie 2. linie. Ve skupině pacientů léčených irinotekaniem byl prokázán statisticky signifikantně delší medián přežití (OS): 10,8 vs 8,5 měsíců, $P = 0,035$ a TTP: 4,2 vs 2,9 měsíců, $P = 0,035$ (24-28). Analýzy dvou randomizovaných klinických studií fáze III srovnávající chemoterapii FU/FA s kombinací FU/FA/IRI v 1. linii léčby pokročilého onemocnění (Saltz et al, Douillard et al.) dokumentovaly vyšší RR, signifikantně zlepšenou kontrolu symptomů, signifikantně lepší TTP a OS pro kombinaci s irinotekaniem. (TTP: $P < 0,001$; OS: $P < 0,009$). Na základě těchto výsledků by měla být tato kombinace zvažována jako nový standard pro 1. linii léčby metastatického onemocnění (29-30).

Poslední desetiletí tak zaznamenalo výrazný pokrok v léčbě kolorektálního karcinomu zavedením nových cytostatik a kombinovaných režimů. Na nejdůležitější otázku, komu indikovat v 1. linii léčby metastatického onemocnění monoterapii a komu „efektivnější“ kombinovanou terapii, se snažila najít odpověď retrospektivní analýza studií fáze III. Ta definovala podskupinu pacientů, kteří by mohli profitovat z kombinované léčby bez rizika závažné toxicity. Mezi tyto prediktivní faktory pro TTP a OS patří: věk < 65 let, performance status 0, normální hladina LDH a bilirubinu, normální počet leukocytů, hemoglobin ≥ 11 g/dl, pacienti bez předchozí adjuvantní léčby a pacienti pouze s jedním metastatickým orgánovým postižením. U zbylé skupiny pacientů se jeví sekvenční monoterapie stejně efektivní a lépe tolerovaná než kombinovaná léčba.

CÍL PRÁCE A METODIKA

Primárním cílem naší práce je vyhodnocení efektivity režimu (RR) raltitrexed (Tomudex) a oxaliplatinu (Eloxatin) u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem s progresí onemocnění po paliativní chemoterapii 1. řady 5-FU/FA ± irinotekan. Sekundárním cílem je zhodnocení celkového přežití, doby do progresu onemocnění a vyhodnocení toxicity režimu.

Z možných chemoterapeutických režimů používaných v 1. linii léčby metastatického kolorektálního karcinomu použijeme na našem pracovišti u pacientů v dobré kondici bez kontraindikací k podání irinotekanu režim FU/FA/irinotekan (FOLFIRI) aplikovaný v dvoutýdenních intervalech nebo jeho modifikaci v týdenní aplikaci-Saltzův režim. Při riziku obstrukčního ileu nebo předchozí horším performance status v pooperačním období zahajujeme léčbu režimem FU/FA Mayo nebo de Gramont. Irinotekan v monoterapii zvažujeme u diseminovaného onemocnění při předpokladu rezistence na 5-FU (zvýšená exprese thymidylát syntázy, relaps onemocnění do šesti měsíců od skončené adjuvantní chemoterapie), dále v případech intolerance 5-FU v adjuvantním podání (závažná toxicita při deficitu dihydroypyrimidin dehydrogenázy, toxoalergická reakce, kardiotoxicita) a u pacientů s anamnézou závažného onemocnění srdce, arytmiemi nebo nestabilní anginou pectoris (31-34). Přehled režimů a dávkovací schémata jsou podrobně uvedena v tabulce č.1.

Tab. č. 1: Cytostatické režimy použité v léčbě kolorektálního karcinomu jako chemoterapie 1. linie před zařazením do protokolu TOMOX.

Cytostatikum	Dávka(mg/m ²)	Aplikační cesta	Dny podání	Opakování cyklu
FU/FA (Mayo) 5-fluorouracil (5-FU) leukovorin (FA)	425 20	i.v. bolus i.v. bolus	1.-5. 1.-5.	interval 4 týdny
FU/FA (de Gramont) 5-fluorouracil (5-FU) leukovorin (FA)	leukovorin 200mg/m ² v 2 hodinové infuzi , následně bolus 5-FU 400mg/m ² a 22 hodinová infuze 5-FU 600mg/m ² , den 1., 2.			interval 2 týdny
FU/FA/IRI-Saltz 5-fluorouracil (5-FU) leukovorin (FA) irinotekan	irinotekan 125mg/m ² v inf. na 60.min / den 1.,8.,15.,22 leukovorin 20mg/m ² i.v. bolus, následně bolus 5-FU 500mg/m ² , den 1., 8., 15., 22			interval 6 týdnů
FOLFIRI 5-fluorouracil (5-FU) leukovorin (FA) irinotekan	irinotekan 180mg/m ² v inf. na 90 min / den 1. leukovorin 200mg/m ² v 2 hodinové infuzi, následně bolus 5-FU 400mg/m ² a 22 hodinová infuze 5-FU 600mg/m ² , den 1., 2.			interval 2 týdny
Irinotekan	350 mg/m ² v inf. na 90.min / den 1.			interval 3 týdny
Irinotekan týdně	125mg/m ² v inf. na 60.min., den 1.,8.,15.,22			interval 6 týdnů

Kritéria pro zařazení pacienta do protokolu klinického hodnocení

- histologicky verifikovaný adenokarcinom kolorekta
- metastatické, neresekabilní stadium onemocnění
- progresse po paliativní chemoterapii 1. řady režimem FU/FA nebo v kombinaci s irinotekanem
- doba od posledního podání chemoterapie minimálně 4 týdny
- věk 18–70 let
- ECOG performance status (PS): 0–2
- minimálně jedna měřitelná léze dle CT vyšetření v předtím neozařované oblasti
- hematologické parametry: neutrofilů $\geq 2 \times 10^9/L$, trombocyty $\geq 100 \times 10^9/L$, hemoglobin $\geq 90g/L$
- biochemické parametry: bilirubin ≤ 2 násobek horní hranice normy, transaminasy (AST, ALT) $\leq 2,5$ násobek horní hranice normy, kreatinin v séru $\leq 1,25$ násobek horní hranice normy nebo clearance kreatininu ≥ 65 ml/min.
- předpoklad přežití minimálně 3 měsíce
- předpoklad spolupráce pacienta
- podpis informovaného souhlasu

premedikace byly podávány před každým cyklem nitrožilně setrony a k redukcí neurotoxicity jsme mezi aplikací raltitrexedu a oxaliplatinu aplikovali v krátkodobé infuzi 10% calcium chloratum ve 100ml fyziologického roztoku a 10% magnesium sulphuricum ve 100 ml 5% glukózy (44). Před zařazením a v průběhu studie byly monitorovány základní hematologické a biochemické parametry, terapeutická odpověď byla hodnocena dle RECIST kritérií po 3 cyklech chemoterapie podle dynamiky nádorových markerů, CT a rtg vyšetření. Podrobný přehled vyšetření v průběhu léčby znázorňuje tabulka č. 2. Při abnormální hodnotě kreatininu byla před každým podáním chemoterapie vyšetřována clearance a dávka raltitrexedu snížena dle tabulky č. 3. Při intervalu podání 4 týdnů byla v tomto intervalu podávána i oxaliplatinu bez nutnosti dávkové redukce. Toxicita byla hodnocena podle stupnice National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (NCI-CTC). Chemoterapie byla odložena/redukována v případě hematologické, gastrointestinální, renální nebo jiné toxicity jak je uvedeno v tabulce č. 3. Jakmile se jednou provedla redukce dávky, všechny následující dávky byly podány ve sníženém

Vylučující kritéria :

- chemoterapie více než jedním režimem pro pokročilý nebo metastatické onemocnění
- průkazné mozkové metastázy v době zařazení do studie
- aktivní infekce
- nádorová duplicita s výjimkou basaliomu a cervicis uteri in situ
- těhotenství a kojení (pacientky ve fertlím věku bez adekvátní aintikoncepce)
- senzitivní periferní neuropatie \geq grade 1 (NCI-CTC)
- pouze kostní metastázy
- kontraindikace k aplikaci některé z kombinace cytostatik

LÉČBA, HODNOCENÍ TOXICITY A ODPOVĚDI NA LÉČBU

Do léčebného protokolu bylo do května 2003 zařazeno 58 pacientů s metastatickým adenokarcinomem kolorekta s progresí onemocnění v průběhu 1. linie chemoterapie kombinací FU/FA \pm irinotekan.

Terapeutický režim byl podáván ambulantně 1x za tři týdny podle následujícího schématu: raltitrexed 3 mg/m² v 15 minutové infuzi, za 45 minut následovala 2 hodinová infuze oxaliplatinu v dávce 130mg/m². Standardně jako součást antiemetické

Tab. č. 2: Přehled vyšetření před zařazením a v průběhu chemoterapie TOMOX.

den	D1	D7	D14	D21/I	D7	D14	D21/I	D7	D14	D21
TK, TT, P fyzikál.vyšetř.	X			X			X			X
KI, váha	X			X			X			X
neurologické vyšetření	X									X
KO, diff	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
INR	X									X
biochemie*	X									X
jaterní testy**				X			X			
CEA	X									X
RTG plíc	X***									X
CT břicha \pm pánve	X***									X
EKG	X	je-li indikováno								
toxicta				X			X			X
aplikace chemoterapie	X			X			X			X
souběžná léčba	X			X			X			X

* biochemie: urea, kreatinin, Na, K, Cl, glykemie, AST, ALT, bilirubin, GMT, LD, ALP

** jaterní testy: AST, ALT, bilirubin, GMT, LD, ALP

*** provádí se do 4 týdnů před zahájením chemoterapie

Tab. č. 3: Modifikace dávek cytostatik v průběhu chemoterapie TOMOX.

	NCI grade			
	1	2	3	4
Hematologická toxicita				
hemoglobin	100%	100%	100%*	100%*
neutrofilly	100%	100%	75%	75%
trombocyty	100%	100%	75%	75%
Gastrointestinální toxicita				
zvracení**	100%	100%	oxaliplatina 75%	oxaliplatina 50%
průjem***	100%	raltitrexed 75% oxaliplatina 100%	raltitrexed 50% oxaliplatina 75%	ukončení léčby
mucositis***	100%	100%	raltitrexed 75%	raltitrexed 50%
Modifikace dávky oxaliplatinu při výskytu neurologické toxicity z původně plánované dávky 130 mg/m²				
Doba trvání				
	den 1-7	> 7 dní	trvajících mezi cykly	
chladem vyvolané dysestesie	100%	100%	100%	
parestesie nebo dysestesie	100%	100%	100 mg/m ²	
parestesie doprovázená dysestesí	100%	100 mg/m ²	ukončení léčby	
parestesie nebo dysestesie s funkčním postižením	100%	100 mg/m ²	ukončení léčby	
Modifikace dávky raltitrexedu při snížené funkci ledvin				
clearance kreatininu	dávka v % ze 3 mg/m ²		interval podání	
> 65 ml/min	plná dávka		3 týdny	
55-65 ml/min	75%		4 týdny	
25-54 ml/min	25%		4 týdny	
< 25 ml/min	nepodává se			

* Po transfuzi ery masy

** Pokud i přes maximální antiemetickou terapii nedojde k úpravě

*** Pokud se i přes redukovanou dávku po dalším cyklu objeví toxicita grade ≥ 3 (průjem nebo mukositida), pacient bude vyřazen ze studie

Tab. č. 4: Charakteristika souboru pacientů.

Celkový počet léčených pacientů	58	
Počet hodnotitelných pacientů	54	
Medián věku	55	(rozmezí 38-72)
Muži	35	
Ženy	19	
<i>Klinický stav dle ECOG</i>		
PS 0	34	
PS 1	20	
<i>Lokalizace primárního tumoru</i>		
Kolon	37	
Rektum	17	
Adjuvantní CHT FU/FA Mayo	17	
<i>1. linie CHT pro metastat. onemocnění</i>		
FU/FA/Irinotekan	31	
FU/FA de Gramont	10	
FU/FA Mayo	3	
Irinotekan	10	
<i>Počet postižených orgánů</i>		
Medián	2	(rozmezí 1-3)
Jednoorgánové postižení	24	
Víceorgánové postižení	30	
<i>Lokalizace metastáz</i>		
Játra	48	
Měkké tkáně	4	
Plic	18	
Abdominopelvicke postižení	2	
Kosti	2	

množství. Další cyklus chemoterapie byl odložen maximálně o 15 dní. Léčba pokračovala do progresse onemocnění nebo do neakceptovatelné toxicity. Při opakovaném efektu stabilizace onemocnění (SD) po dvou po sobě následujících hodnoceních byla léčba ukončena.

VÝSLEDKY

Retrospektivní analýza vyhodnocuje efektivitu a toxicitu kombinovaného režimu raltitrexed a oxaliplatina podávaného ve dvou onkologických centrech u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem v období od října 2001 do května 2003. Z 58 pacientů stran účinnosti a tolerance je vyhodnotitelných 54 léčených, 35 mužů a 19 žen, medián věku 55 let (věkové rozmezí 38-72 let). Většina pacientů byla předléčena v 1. linii irinotekanem (75%) podávaným v kombinaci s bolusovým nebo kontinuálním 5-FU/FA režimem nebo aplikovaným v monoterapii při rezistenci na 5-FU. Nejčastějším místem orgánové diseminace v našem souboru bylo metastatické postižení jater (88% pacientů), víceorgánové postižení bylo zaznamenáno u 55% léčených. Podrobnou charakteristiku prezentovaného souboru vystihuje tabulka č. 4. Celkově bylo podáno 271 cyklů chemoterapie, medián 6 (rozmezí 1-10).

Vyhodnocení efektivity a toxicity režimu

☐ Dle zobrazovacích metod a hodnot nádorových markerů po třech cyklech chemoterapie byl dokumentován klinický benefit u 49 pacientů (91%), partiální remise u 14 pacientů (26%) a stabilizace onemocnění u 49 léčených (65%), u 5 pacientů došlo k progresi onemocnění, kompletní remise nebyla zaznamenána. ☐ Při mediánu sledování 8 měsíců žilo 32 pacientů (59%), čas do progresse onemocnění byl 5,9 měsíců.

☐ Tolerance léčby byla velmi dobrá, z nejčastějších nežádoucích účinků se vyskytovala periferní neuropatie prvního a druhého stupně (G1,2: 74%), gastrointestinální toxicita G1,2: 78% a elevace transamináz G1,2: 48%, 8 pacientů (16%) mělo toxicitu třetího stupně, u jednoho z léčených šlo o kombinaci gastrointestinální toxicity a leukopenie. Toxicita čtvrtého stupně v našem souboru nebyla zaznamenána (tabulka č. 5).

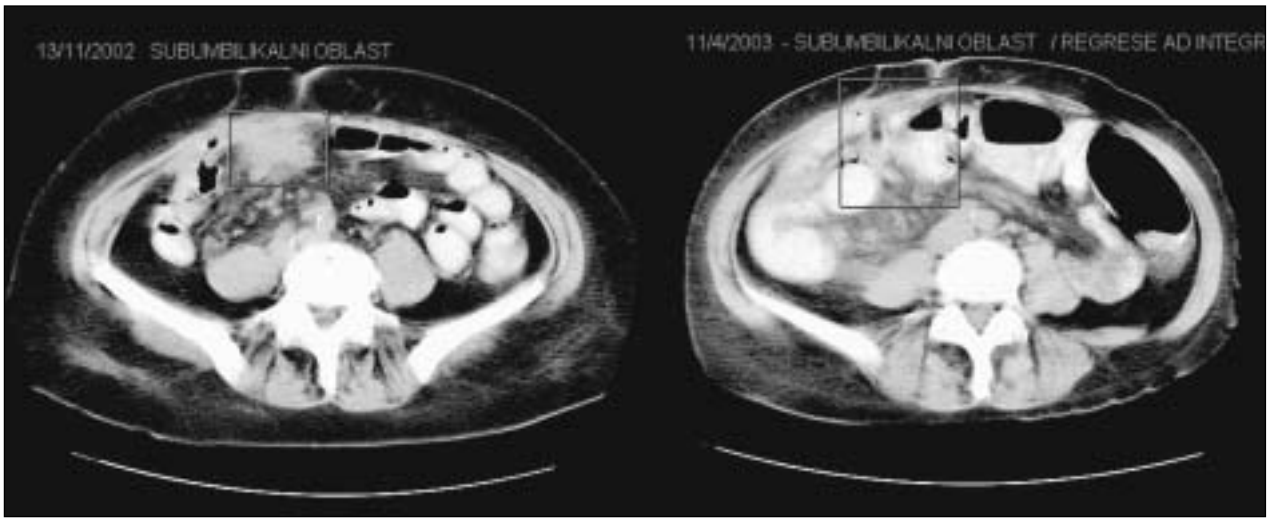
☐ Redukce dávky cytostatik o 25% byla indikována u 8 pacientů (15%).

☐ Hospitalizace v souvislosti s nežádoucími účinky léčby byla nutná u jednoho pacienta (2%) s masivním metastatickým roz-

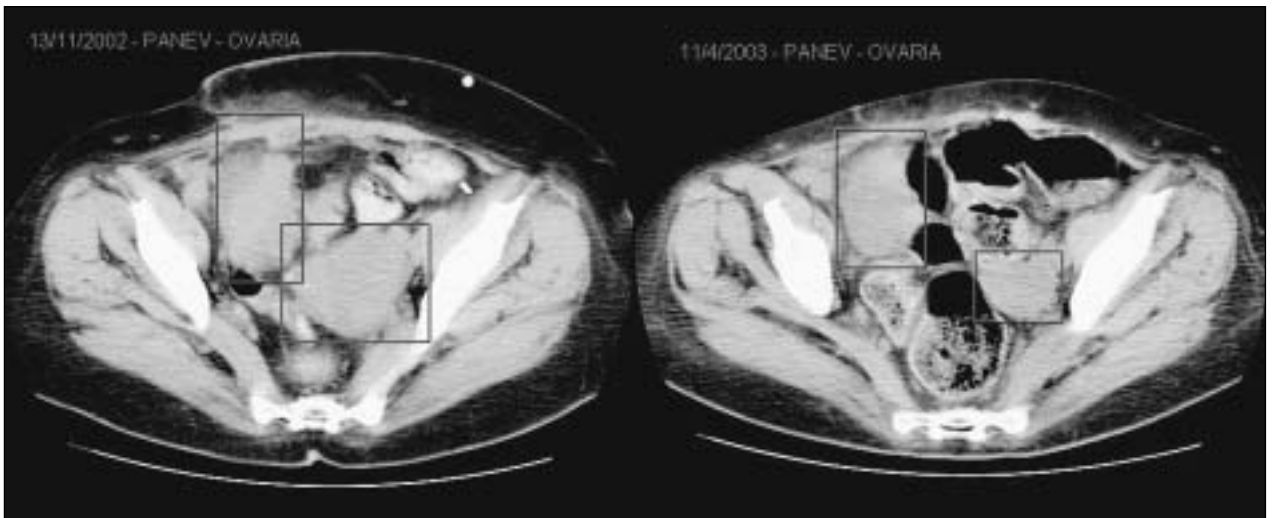
Tab. č. 5: Vyhodnocení toxicity režimu.

Toxicita	G1 n/%	G2 n/%	G3 n/%	G4 n/%
Leukopenie	8/15%	2/4%	2/4%	—
Granulocytopenie	9/17%	2/4%	1/2%	—
Trombocytopenie	7/13%	3/6%	—	—
Periferní neuropatie	33/61%	7/13%	1/2%	—
Průjem	2/4%	1/2%	—	—
Nausea/emesis	23/43%	19/35%	3/6%	—
Stomatitis	1/2%	—	—	—
Hepatotoxicita	15/28%	11/20%	2/4%	—

Obr. č. 1: CT vyšetření břicha a pánve před zahájením léčby a po pěti cyklech chemoterapie TOMOX. Implantační metastáza subumbilikální krajíně, po léčbě konstatována regrese ad integrum.



Obr. č. 2: CT vyšetření břicha a pánve před zahájením léčby a po pěti cyklech chemoterapie TOMOX. Paramediálně vpravo při přední stěně břišní tumorózní infiltrát velikosti cca 46mm, na něj navazující v pánvi solidní poměrně ohraničený infiltrát velikosti 80x50x80mm, po léčbě regrese obou infiltrátů o více než 65%.



sevem v dutině břišní po čtvrté a páté aplikaci cytostatik pro opožděnou a protražovanou nauzeu a vomitus G3. Paliativní chemoterapie byla vzhledem k horší toleranci a pro váhový úbytek ukončena po pěti cyklech s dosažením parciální remise, výrazným poklesem nádorových markerů a ústupem algického syndromu (obr. č.1, 2).

DISKUSE

Kolorektální karcinom je nejčastějším nádorovým onemocněním digestivního traktu a závažným celospolečenským problémem v České republice. Přínos adjuvantní chemoterapie po kurativní resekci KRK klinického stadia III je jasně demonstrován výsledky randomizovaných klinických studií. Standardním doporučením je 6 cyklů chemoterapie 5-FU/FA - Mayo protokol. V případě zvažované paliativní chemoterapie ovlivňuje volbu nevhodnějšího léčebného schématu i výsledek léčby celá řada faktorů, které je nutné citlivě posoudit. Je to celkový stav a věk pacienta, interkurence, hematologické a biochemické parametry, stupeň funkčního postižení jater a ledvin, počet, velikost a lokalizace metastatických ložisek, předchozí chemoterapie a odpověď nádoru na ni, tolerance cytostatické léčby, dynamika onemocnění, stupeň diferenciací nádoru, proliferativní aktivita, angiogeneze, ploedita, ale

i nové poznatky o molekulárních prediktivních faktorech a odpovědi nádoru na terapii.

Metaanalýza studií jednoznačně prokazuje benefit paliativní chemoterapie u pacientů s metastatickým onemocněním KRK. Zlepšuje medián přežití a kvalitu života pacientů. Přidání irinotekanu k FU/FA režimu (FOLFIRI) nebo oxaliplatinu (FOLFOX) zvyšuje procento léčebných odpovědí a zlepšuje přežití. V případě dobré léčebné odpovědi u pacientů s izolovaným metastatickým postižením jater dovoluje nezřídka druhotnou resekci jako součást multidisciplinárního léčebného přístupu. Na základě povzbudivých výsledků randomizovaných klinických studií fáze III by měla být v současnosti kombinovaná léčba zvažována jako nový standard pro 1. linii léčby metastatického onemocnění. Současné studie usilují o definování optimální léčebné strategie u pacientů s progresí onemocnění po 1. linii chemoterapie s přihlédnutím k celkovému stavu pacienta, toxickému profilu cytostatik a jejich cytotoxickému účinku. Tournigand v GERCOR studii fáze III srovnává účinnost, čas do progresu, celkové přežití a toxicitu kombinovaného režimu FOLFIRI v 1. linii léčby metastatického KRK následovaného kombinací FOLFOX v případě zaznamenané progresu onemocnění (rameno A) versus FOLFOX se sekvenčním podáním režimu FOLFIRI v 2. linii (rameno B). Terapeutický režim

Tab. č. 6: Přehled publikovaných studií fáze II kombinace raltitrexed/oxaliplatinu v 1. a 2. linii léčby metastatického kolorektálního karcinomu.

studie fáze I,II	N pac	terapeutický režim	RR	TTP měsíce	MOS měsíce	neutropenie G3, 4	nehematologická toxicita G3, 4
1.linie Cascinu (ref. 35)	58	raltitrexed: 3 mg/m ² den 1 oxaliplatinu: 100 mg/m ² den 1 int.3 týdny	50%	6,5	>9	17%	prům: 7% neurotoxicita: 10% ↑ transamináz: 17%
1., 2. linie Martoni (ref. 36)	46	raltitrexed: 3 mg/m ² den 1 oxaliplatinu: 130 mg/m ² den 1 int.3 týdny	16%	5	nedosažen ^X	neudáno ^X	prům: neudáno neurotoxicita: 16% ↑ transamináz: 24%
1. linie Neri (ref. 37)	37	raltitrexed: 3 mg/m ² den 1 oxaliplatinu: 130 mg/m ² den 1 int.3 týdny	43%	10,3	X	X	prům: X neurotoxicita: X ↑ transamináz: X
1. linie Seitz (ref. 38)	66	raltitrexed: 3 mg/m ² den 1 oxaliplatinu: 130 mg/m ² den 1 int.3 týdny	54%	6,2	14,6	30%	prům: 17% neurotoxicita: X ↑ transamináz: 34%
1. linie Doillard (ref. 39)	63	raltitrexed: 3 mg/m ² den 1 oxaliplatinu: 130 mg/m ² den 1 int.3 týdny	62%	6,3	X	16,5%	prům: 9% neurotoxicita: 0% ↑ transamináz: X
2. linie Cutsem (ref. 40,41)	50	raltitrexed: 3 mg/m ² den 1 oxaliplatinu: 130 mg/m ² den 1 int.3 týdny	16%	4,6	7,1	7,4%	prům: 12% neurotoxicita: 6% ↑ transamináz: X
2. linie Scheithauer (ref. 42,43)	36	raltitrexed: 3 mg/m ² den 1 oxaliplatinu: 130 mg/m ² den 1 int.3 týdny	33%	6,5	X	22%	prům: 5% neurotoxicita: 10% ↑ transamináz: 5%

FOLFIRI byl následující: irinotekan 180mg/m² v inf. den 1., leukovorin 200mg/m² den 1., následně bolus 5-FU 400mg/m² a 46 hodinová infuze 5-FU v dávce 2,4 - 3g/m², interval 2 týdny. Režim FOLFOX se skládal z podání oxaliplatinu v dávce 100mg/m² den 1. a stejného FU/FA režimu, opět v dvoutýdenním intervalu. Cílem této randomizované studie bylo určit nejlepší sekvenci kombinovaných režimů. Při režimu FOLFIRI bylo zaznamenáno 57,5% léčebných odpovědí a čas do progresu onemocnění 8,4 měsíců versus 56% RR a TTP 8,9 měsíců při režimu FOLFOX. V 2. linii léčby byl v ramenu A RR 21% a v ramenu B 7%. Toxicita G3,4 u režimu FOLFOX versus FOLFIRI byla následující: neutropenie 17% / 34%, febrilní neutropenie: 0% / 2%, prům: 4% / 8%, vomitus: 6% / 3%, neuropatie 17% / 8%, alopecie 10% / 15%. Na základě těchto výsledků se stran léčebné účinnosti i bezpečnostního profilu jeví výhodnější podání kombinovaného režimu FOLFIRI v 1. linii léčby (43).

Raltitrexed a oxaliplatinu jsou dvě účinná cytostatika v léčbě metastatického karcinomu kolorekta. Tato cytostatika nemají zkříženou rezistenci, mají rozdílný mechanismus protinád-

orového účinku, přijatelný toxický profil a jsou vhodné pro ambulantní léčbu. Na základě těchto skutečností a in vitro studií prokazujících aditivní účinek zmíněných cytostatik jsme navrhli kombinaci těchto látek u pacientů s metastatickým karcinomem kolorekta, kteří byli v 1. linii léčby předléčení chemoterapií 5-FU/FA ± irinotekan. Přehled dosud publikovaných studií kombinace raltitrexed a oxaliplatinu („TOMOX“) je podrobně rozebrán v tabulce č. 6. Tato kombinace v 1. linii prokázala vysokou protinádorovou účinnost pohybuující se v rozmezí 43-62%. Dosud byly publikovány jen dvě studie fáze II v 2. linii léčby KRK. Cutsem v souboru 50 pacientů zaznamenal 16% léčebných odpovědí, z toho 6 pacientů s progresí onemocnění v průběhu adjuvantní 5-FU/FA chemoterapie dostalo režim TOMOX v 1. linii (40). Výrazně vyšší procento léčebných odpovědí dosáhl Scheithauer u 36 léčených. Publikuje 33% odpovědí, stabilizace onemocnění byla dokumentována u dalších 47,2% pacientů. Příznivější výsledky jsou zřejmě ovlivněny předchozí léčbou. V 1. linii léčby bylo 17 pacientů léčeno bolusovým 5-FU/FA režimem, 6 pacientů kontinuálním 5-FU/FA režimem a 2 pacienti byli léčeni regionální intrahepatální 5-FU chemoterapií. Pouze 11 pacientů (33%) bylo v 1. linii předléčeno chemoterapií 5-FU/FA/irinotekan (41,42). V našem souboru bylo chemoterapií 5-FU/FA/irinotekan v 1. linii předléčeno 75% pacientů, z toho u 55% se jednalo o víceorganové metastatické postižení. Z tohoto pohledu dosažení parciální remise u 14 pacientů (26%) a stabilizace onemocnění u 49 léčených (65%) lze považovat za povzbudivé výsledky.

ZÁVĚR

Dokumentovaný klinický benefit u 49 pacientů (91%), příznivý bezpečnostní profil (kumulativní toxicita G3,4: 18%), ambulantní léčba bez nutnosti centrálního žilního katetru, jež běžně vyžaduje aplikace kontinuálního 5-FU v režimu FOLFOX, činí tuto kombinaci atraktivní pro léčbu metastatického kolorektálního karcinomu u pacientů předléčených chemoterapií 5-FU/FA ± irinotekan (45).

Literatura

- Kelsen, DP., et al. Gastrointestinal oncology: principles and practice. Lippincott Williams and Wilkins, 2002, p. 666.
- Poon, MA., O'Connell, MJ., Moertel, CG., et al. Biochemical modulation of fluorouracil: evidence of significant improvement of survival and quality of life in patients with advanced colorectal carcinoma. J Clin Oncol., 1989, vol. 7, p.1407.

- O'Connell, MJ. A Phase III trial of 5-fluorouracil and leucovorin in the treatment of advanced colorectal cancer: A Mayo Clinic/North Central Cancer Treatment Group Study. Cancer, 1989, vol. 63, p.1026.
- Rustum, YM., Cao, S., Zhang, Z. Rationale for treatment design: biochemical modulation of 5-fluorouracil by leucovorin. Cancer J Sci Am., 1998, vol. 4, p. 12.
- Project ACCM. Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with

- advanced colorectal cancer: evidence in terms of response rate. *Advanced Colorectal Cancer Meta-Analysis Project*. *J Clin Oncol.*, 1992, vol. 10, p. 896.
6. Petrelli, N., Douglass, H.O., Jr., Herrera, L., et al. The modulation of fluorouracil with leucovorin in metastatic colorectal carcinoma: a prospective randomized phase III trial. *J Clin Oncol.*, 1989, vol. 7, p. 1419.
 7. Meta-Analysis Group in Cancer. Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.*, 1998, vol. 16, p. 301.
 8. de Gramont, A., Bosset, J.F., Milan, C., et al. Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study. *J Clin Oncol.*, 1997, vol. 15, p. 808.
 9. Cunningham, D., Zalcberg, J. R., Rath, U., et al. Final results of a randomized trial comparing „Tomudex“ (raltitrexed) with 5-fluorouracil plus leucovorin in advanced colorectal cancer. *Tomudex Colorectal Cancer Study Group*. *Ann Oncol.*, 1996, vol. 7, p. 961.
 10. Cocconi, G., Cunningham, D., van Cutsem, E., et al. Open, randomized, multicenter trial of raltitrexed versus fluorouracil plus high-dose leucovorin in patients with advanced colorectal cancer. *Tomudex Colorectal Cancer Study Group*. *J Clin Oncol.*, 1998, vol. 16, p. 2943.
 11. Pazdur, R., Vincent, M., Raltitrexed (Tomudex) versus 5-fluorouracil and leucovorin (5-FU + LV) in patients with advanced colorectal cancer (ACC): results of a randomized, multicenter, North American trial. *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 1997, A801(abstr.).
 12. Cox, J.V., Pazdur, R., Thibault, A., et al. A phase III trial of Xeloda (capecitabine) in previously untreated advanced/metastatic colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 1999, vol. 18, p. 265a, (abstract 1016).
 13. Twelves, C., Harper, P., Van Cutsem, E., et al. A phase III trial (Sol4796) of Xeloda (capecitabine) in previously untreated advanced/metastatic colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 1999, vol. 18, p. 263a (abstract 1010).
 14. Diaz-Rubio, E., Sastre, J., Zaniboni, A., et al. Oxaliplatin as single agent in previously untreated colorectal carcinoma patients: A phase II multicentric study. *Ann Oncol.*, 1998, vol. 9, p. 105-108.
 15. Machover, D., Diaz-Rubio, E., de Gramont, A., et al. Two consecutive phase II studies of oxaliplatin (LOHP) for treatment of patients with advanced colorectal carcinoma who were resistant to previous treatment with fluoropyrimidines. *Ann Oncol.*, 1996, vol. 7, no. 1, p. 95-98.
 16. Becouarn, Y., Rougier, P. Clinical efficacy of oxaliplatin monotherapy: Phase II trials in advanced colorectal cancer. *Semin Oncol.*, 1998, vol. 25, no. 2, suppl 2, p. 23-31.
 17. André, T., Bensmaine, M.A., Louvet, C., et al. Multicenter phase II study of bimonthly high-dose leucovorin, fluorouracil infusion, and oxaliplatin for metastatic colorectal cancer resistant to the same leucovorin and fluorouracil regimen. *J Clin Oncol.*, vol. 17, no. 11, p. 3560-3568.
 18. Lévi, F., Zidani, R., Misset, J.L. Randomized multicenter trial of chronotherapy with oxaliplatin, fluorouracil, and folinic acid in metastatic colorectal cancer. *Lancet*, 1997, vol. 350, no. 9079, p. 681-686.
 19. Levi, F.A., Zidani, R., Vannetzel, J.M., et al. Chronomodulated versus fixed-infusion-rate delivery of ambulatory chemotherapy by oxaliplatin, fluorouracil and folinic acid (leucovorin) in patients with colorectal metastasis: A randomized multiinstitutional trial. *J Natl Cancer Inst.*, 1994, vol. 86, no. 21, p. 1608-1617.
 20. Giacchetti, S., Perpoint, B., Zidani, R., et al. Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.*, 2000, vol. 18, p. 136-147.
 21. de Gramont, A., Figer, A., Seymour, M., et al. Leucovorin and fluorouracil, with or without oxaliplatin, as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.*, 2000, vol. 18, no. 16, p. 2938-2947.
 22. Bismuth, H., Adam, R. Reduction of nonresectable liver metastasis from colorectal cancer after oxaliplatin chemotherapy. *Semin Oncol.*, 1998, vol. 25 no. 2, suppl. 5, p. 40-46.
 23. Giacchetti, S., Itzhaki, M., Gruia, G., et al. Long-term survival of patients with unresectable colorectal cancer liver metastases following infusional chemotherapy with 5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin and surgery. *Ann Oncol.*, 1999, vol. 10, p. 663-669.
 24. Cunningham, D., Pyrhönen, S., James, R.D., et al. Randomized trial of irinotecan plus supportive care vs supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet*, 1998, vol. 352, no. 9138, p. 1413-1418.
 25. Rougier, P., van Cutsem, E., Bajetta, E., et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet*, 1998, vol. 352, p. 1407.
 26. Douillard, J.Y., Cunningham, D., Roth, A.D., et al. A randomized phase III trial comparing irinotecan (IRI)+5FU/folinic acid (FA) to the same schedule of 5FU/FA in patients with metastatic colorectal cancer as front line chemotherapy. *Proc ASCO*, 18, 1995, p. 233 (Abstr. 899).
 27. Van Cutsem, E., Rougier, Ph., Droz, J.P. et al. Clinical benefit of irinotecan (CPT-11) in metastatic colorectal cancer (CRC) resistant to 5FU. *Proc ASCO*, 16, 1997, (Abstr. 950).
 28. Saltz, L.B., Locker, P.K., Pirodda, N., et al. Weekly irinotecan (CPT-11), leucovorin (LV) and fluorouracil (5-FU) is superior to daily x5 LV/FU in patients (pts) with previously untreated metastatic colorectal cancer (CRC). *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 1999, vol. 18, p. 233a, (abstract 898).
 29. Douillard, J.Y., Cunningham, D., Roth, A.D., et al. A randomized phase III trial comparing irinotecan plus 5-FU/folinic acid to the same schedule of 5-FU/FA in patients with metastatic colorectal cancer as front-line chemotherapy. *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 1999, vol. 18, p. 233a, (abstract 899).
 30. Saltz, L.B., Douillard, J., Pirodda, N., et al. Combined analysis of two phase III randomized trials comparing Irinotecan, fluorouracil (F), Leucovorin (L) vs F alone as first-line therapy of previously untreated metastatic colorectal cancer (MCRC). *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 2000, vol. 19, p. 242a, (abstract 938).
 31. Kocáková, I., Špelda, S., Kocák, I., et al. Irinotecan týdně – efektivní a dobře tolerovaná léčba metastazujícího kolorektálního karcinomu. XXVI. Brněnské onkologické dny, 2002, Edukační sborník, s. 168.
 32. Karásek, P., Němec, J., Kocáková, I. et al. Irinotecan v terapii pokročilého kolorektálního karcinomu. Česká a slovenská gastroenterologie, 1999, roč. 53, supplementum, s. 95. Abstr.
 33. Svoboda, M., Žaloudík, J., Vyzula, R., et al. Semikvantitativní stanovení mRNA pro thymidylát syntázu a dihydropyrimidin dehydrogenázu u kolorektálních karcinomů: metodické aspekty a význam vnitronádorové variability pro určení rezistence na fluoropyrimidinová cytostatika. *Klinická onkologie*, 2002, roč. 15, s. 72-75.
 34. Němec, J., Bednářik, O., Kocáková, I. Chemotherapy with continual 5-FU modulated by leucovorin in the palliative treatment of colon cancer metastatic to the liver. *EORTC-FFCD Joint Meeting*, Paris, June 23-26, abstract book, p.139.
 35. Cascinu, S., Graziano, F., Ferrau, F., et al. Raltitrexed plus oxaliplatin (TOMOX) as first-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer. A phase II study of the Italian Group for the Study of Gastrointestinal Tract Carcinomas (GISCAD) *Ann Oncol.*, 2002, vol. 13, no. 5, p. 716-20.
 36. Martoni, A., Mini, E., Pinto, C., et al. Oxaliplatin plus raltitrexed in the treatment of patients with advanced colorectal cancer: a phase II study. *Anticancer Res.*, 2003, vol. 23, no. 1B, p. 687-91.
 37. Neri, B., Doni, L., Fulignati, C., et al. Raltitrexed plus oxaliplatin as first-line chemotherapy in metastatic colorectal carcinoma: a multicentric phase II trial. *Anticancer Drugs*, 2002, vol. 13, no. 7, p. 719-24.
 38. Seitz, J.F., Bennouna, J., Paillet, B., et al. Multicenter non-randomized phase II study of raltitrexed and oxaliplatin in non pre-treated metastatic colorectal cancer patients. *Ann Oncol.*, 2002, vol. 13, p. 072-9.
 39. Douillard, J., Michel, P., Gamelin, E., et al. Raltitrexed (Tomudex) plus oxaliplatin: An active combination for first-line chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 2000, abstr. no 971.
 40. Cutsem, E., Laethem, J.L., Dirix, L., et al. Phase II study of raltitrexed in combination with oxaliplatin as second line treatment in refractory advanced colorectal cancer. *Eur J Cancer.*, 2001, vol. 37, suppl 6, p. 273 (Abstr 1008).
 41. Scheithauer, W., Kornek, G.V., Ulrich-Pur, H., et al. Oxaliplatin plus raltitrexed in patients with advanced colorectal carcinoma: Results of a phase I-II trial. *Cancer*, 2001, p. 1264-1271.
 42. Scheithauer, W., Kornek, G.V., Schuell, B., et al. Oxaliplatin plus raltitrexed in patients with advanced colorectal cancer failing fluoropyrimidine/leucovorin-based. *Ann Oncol.*, 2001, vol. 12, p. 709-714.
 43. Tournigand, C., Louvet, C., Quinaux, E., et al. FOLFIRI followed by FOLFOX versus FOLFOX followed by FOLFIRI in metastatic colorectal cancer (MCRC): final results of a phase III study. *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 2001, vol. 20, p. 124a.
 44. Gamelin, E., Gamelin, L., Delva, R., et al. Prevention of oxaliplatin peripheral sensory neuropathy by Ca+ gluconate/mg+ chloride infusions: a retrospective study. *Proc Am Soc Clin Oncol.*, 2002, vol. 21, p. 624a.
 45. Kocáková, I., Vyzula, R., Demlova, R., et al. Combined chemotherapy raltitrexed and oxaliplatin as second line treatment of metastatic colorectal cancer. Fifth international congress: Perspective in colorectal cancer (PICC 2003), Proceeding book, p. 123, poster 058.

SOLITÁRNÍ FIBRÓZNÍ TUMOR PLIC

SOLITARY FIBROUS TUMOR OF THE LUNG: A CASE REPORT

VESELÝ K.¹, KRPEŇSKÝ A.¹, JEDLIČKA V.²

II. PATOLOGICKO-ANATOMICKÝ ÚSTAV MU, BRNO

2I. CHIRURGICKÁ KLINIKA FN U SV. ANNY, BRNO

Souhrn: *Východiska:* Solitární fibrózní tumor je vzácná jednotka vyskytující se v nejrůznějších anatomických lokalizacích. *Typ studie a soubor:* Popisujeme zde případ solitárního fibrózního tumoru v neobvyklé lokalizaci v plicních parenchymu. *Metody a výsledky:* Plicní tumor byl vyšetřen rutinně histologicky a imunohistochemicky a nálezy odpovídaly diagnóze solitárního fibrózního tumoru bez možnosti predikce biologického chování. *Závěry:* Solitární fibrózní tumor je ubikvitárně se vyskytující nádor a je nutné jej zvažovat v diferenciální diagnóze vřetenobuněčné neoplázie v nejrůznějších tkáních a orgánech.

Klíčová slova: solitární fibrózní tumor, plíce, CD34.

Summary: *Backgrounds:* Solitary fibrous tumor is a rare entity occurring in many anatomical localizations. *Design and subjects:* We describe a case of solitary fibrous tumor in unusual localization in the pulmonary parenchyma. *Methods and Results:* The lung tumor was examined routine histologically and immunohistologically and the findings in association with diffuse reactivity with CD34 were consistent with diagnosis solitary fibrous tumor without possibility prediction of biological behaviour. *Conclusions:* Solitary fibrous tumor is ubiquitous and it is necessary to consider it in the differential diagnosis spindle-cell neoplasias in different tissues and organs.

Key words: solitary fibrous tumor, lung, CD34

Solitární fibrózní tumor (SFT) je vzácný vřetenobuněčný nádor dospělých s četnými synonymy, např. benigní fibrózní mezoteliom, submezoteliální fibrom, lokalizovaný fibrózní tumor a dalšími (17). Obvykle postihuje pleuru, ale byl popsán v četných anatomických lokalizacích, jednak na jiných serózních površích, na peritoneu a perikardu, a jednak bez vazby na serózní struktury, v prsu (4), štítné žláze (3), mediastinu (9), orbitě (6), horním respiračním traktu (22) a v dutině nosní a paranasálních dutinách (25) a v nejrůznějších dalších. Mezi extrapleurálními lokalizacemi se SFT vzácně vyskytuje i v plicích (9, 21).

Histogeneze SFT byla zpočátku sporná, jako buňka původu byla označována mezotelie nebo submezoteliální fibroblast, ale později imunohistochemický profil a ultrastrukturální studie prokázaly převážně fibroblastický fenotyp nádorových buněk, v některých případech s diferenciací směrem k myofibroblastu, manifestující se přítomností imunoreaktivního aktinu a mikrofilament ultrastrukturálně (7, 18).

Histologický obraz SFT je variabilní, často je popisován jako „necharakteristický“, ale mikromorfologické znaky obvykle umožňují spolehlivou diagnózu. Základním rysem je ohraničený tumor tvořený krátkými vřetenitými buňkami s malým množstvím cytoplazmy, rostoucí v kolagenizovaném stromatu, s alternujícími hypocelulárními a hypercelulárními regiony. Dalším charakteristickým znakem je výrazná a difúzní exprese CD34, popisovaná v 80 – 100% případů (15, 19, 22). Byla navržena diagnostická kritéria SFT (11): ohraničení, alternující hypercelulární a sklerotické hypocelulární oblasti, blandní krátké vřetenité nebo ovoidní buňky, náhodné, storiformní nebo fascikulární uspořádání vřetenitých buněk, CD34 pozitivita. Dále je běžný hemangiopericytární vzhled, někdy palisádování jader, herring-bone řazení a další.

Pleurální SFT se v 10 – 30% chová maligně (2), oproti extrapleurálním případům, jichž biologické chování je téměř vždy

benigní (8), bez recidiv a vzdálených metastáz. Problémem zůstává, že klinické chování nelze vždy předpovědět na základě histologických nálezů (2, 15).

Popisujeme zde případ SFT ve vzácné lokalizaci v plicním parenchymu.

Popis případu

54 letá pacientka byla vyšetřována pro kašel a bolesti za hrudní kostí, prostý snímek hrudníku prokazoval elevaci bráničního oblouku vpravo. Při CT vyšetření byl zjištěn v dolní polovině pravého hemithoraxu expanzivní proces a fluidothorax a bylo indikováno operační řešení, v jehož rámci bylo provedeno urgentní peroperační kryotomové vyšetření a následně exstirpace částí tumoru a lobektomie pravého dolního plicního laloku. Pooperační průběh byl bez komplikací.

Materiál a metody

Do laboratoře byly zaslány peroperační vzorky a dále lobektomický resekát, izolované fragmenty nádorové tkáně a lymfatické uzliny. Reprezentativní tkáňové vzorky (celkem 17 bloků) byly zpracovány standardní formol-parafinovou technikou a byly zhotoveny histologické řezy a rutinně barveny H&E, část speciálním barvením dle Goldnera a van Giesona a byly provedeny imunoreakce s protilátkami proti CD34, CD99, bcl-2, vimentinu, desminu, hladkosvalovému aktinu a svalově-specifickému aktinu, S-100 proteinu a byl stanoven proliferativní index pomocí Ki-67. Seznam použitých protilátek je v Tabulce 1.

Výsledky

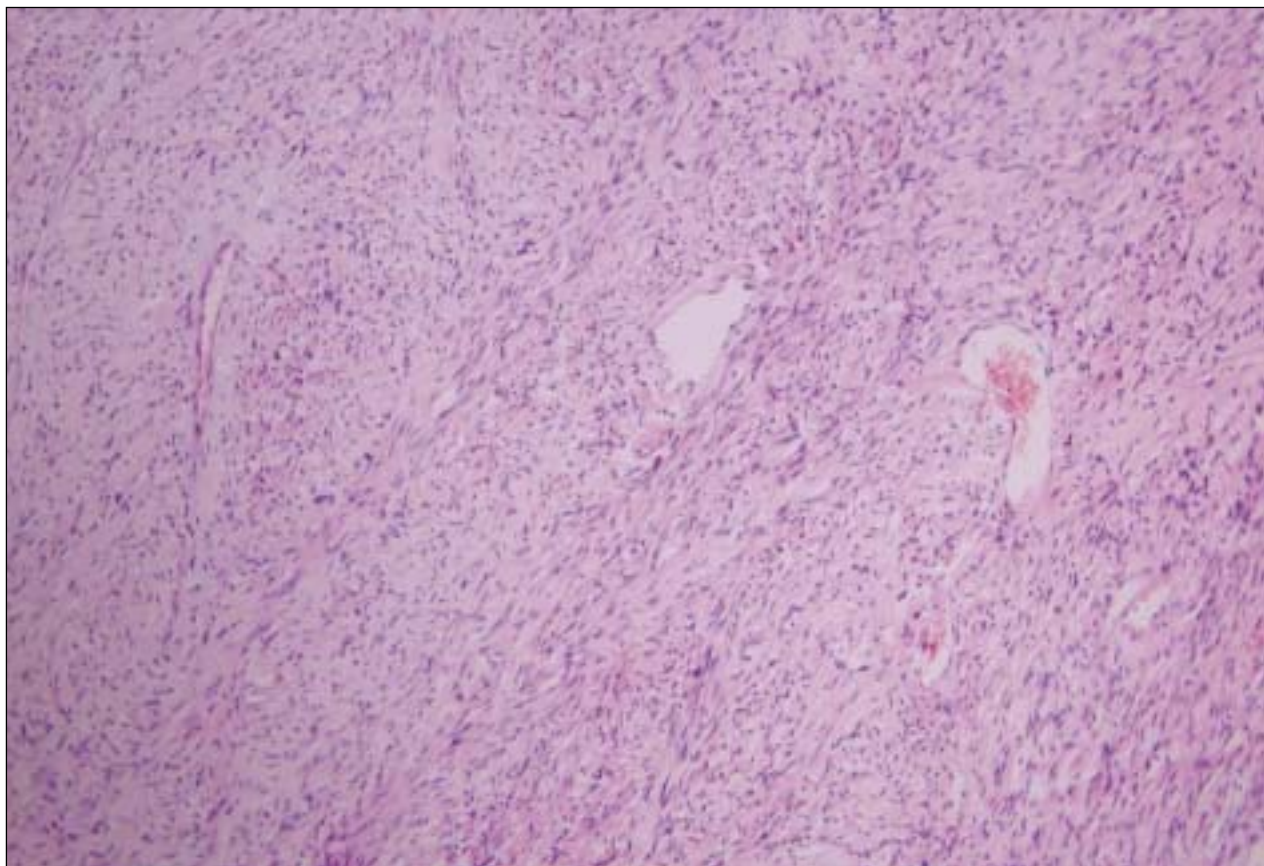
Makroskopicky šlo o 3 ohraničené nádorové uzly o rozměrech 13, 7 a 5 cm; na řezu nodózní, s centrálními nekrotizacemi, a dolní lobektomický resekát s obdobnou infiltrací maximálního rozměru 10 cm, součástí zasláního materiálu byly i 3 interlobární lymfatické uzliny.

Tabulka 1: Seznam použitých protilátek.

Protilátka	Klonalita	Ředění	Firma
aktin HHF35	monoklonální	1:200	DAKO
aktin hladkosvalový	monoklonální	1:200	DAKO
bcl-2	monoklonální	4:100	DAKO
CD34	monoklonální	1:100	DAKO
CD99	monoklonální	4:100	DAKO
cytokeratin AE1/AE3	monoklonální	2:100	DAKO
desmin	monoklonální	1:100	DAKO
vimentin	monoklonální	1:300	DAKO
S-100 protein	polyklonální	1:400	DAKO
Ki-67 antigen	monoklonální	1:100	DAKO

Mikroskopicky (Obr. 1 a 2) byl nádor ohraničený, místy s fibrózním pseudopouzdem, relativně monomorfní stavby, nicméně s dobře patrnými alternujícími buněčnějšími a hypocelulárními oblastmi s hojnější stromální kolagenizací. Fokálně byla drobná ložiska nekrotizace. Buněčná populace byla fusicelulární, s převažujícími růstem v krátkých svazcích, a v necharakteristickém uspořádání. Cytoplazma buněk byla nezřetelná, nebyly v ní patrné fuchsinofilní fibrily, jádra protažená, místy lehce zvlňněná, s jemným chromatinem bez nukleolární distinkce, sporadicky byly přítomné partie s výraznější nukleární pleomorfii. Mitotická aktivita nepřesahovala 1 mitotickou figuru na 20 HPF. Intratumorální vaskularizace byla místy výraznější, cévy byly silnostěnné menšího kalibru i větší nepravidelné cévní tenkostěnné průsvity s náznakem hemangiopericytárního řazení. V lymfatických uzlinách byla nálezem pouze antrakofibróza.

Obr. 1. Necharakteristické řazení fibroblastické buněčné populace s hojným kolagenizovaným stromatem (H&E, 100x).



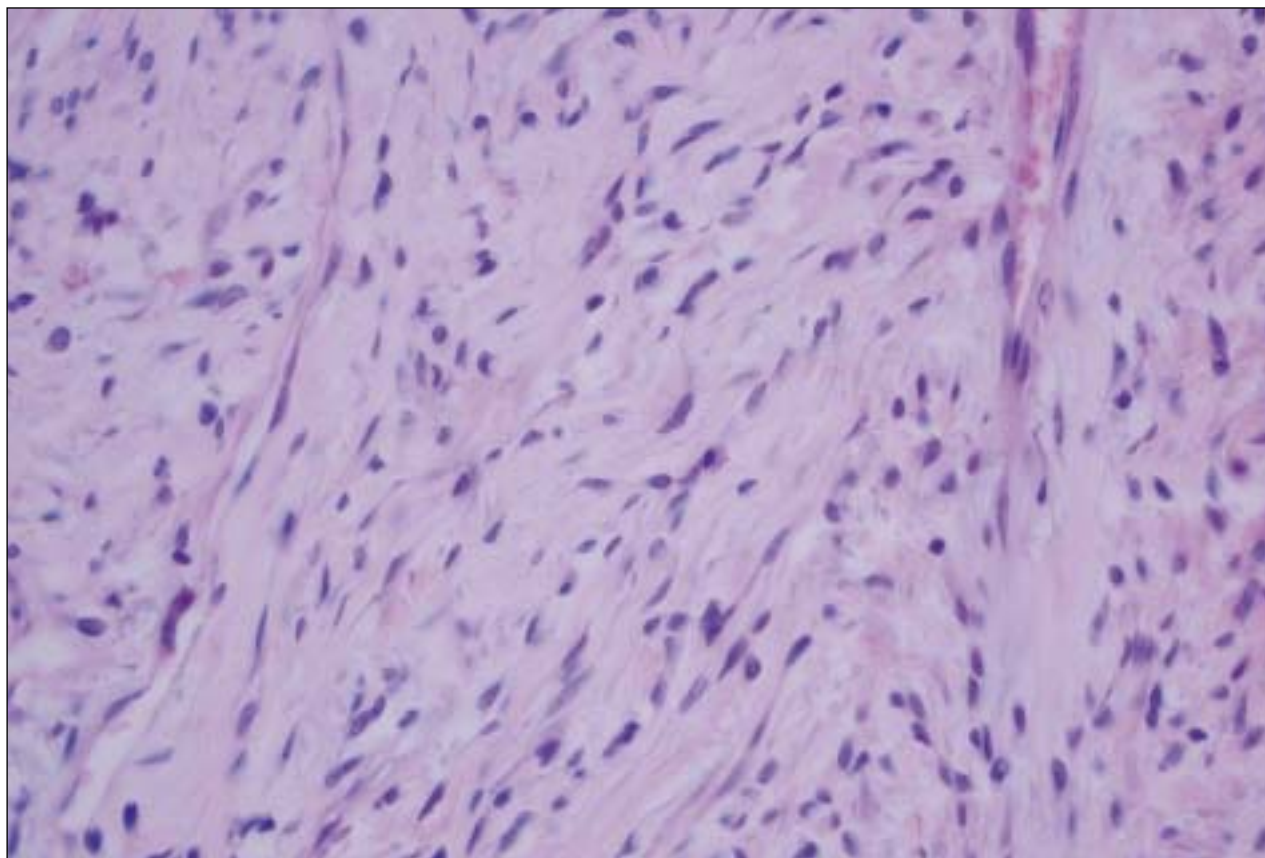
Při imunohistochemickém vyšetření byla demonstrována difúzní exprese vimentinu v cytoplazmě neoplastických buněk, dále difúzní exprese CD34 (Obr. 3) a CD99, a fokální imunoreaktivita bcl-2 a faktoru XIII. Reakce s protilátkami proti cytokeratinům, desminu, S-100 proteinu, hladkosvalovému a muskulárně specifickému aktinu byly negativní. Ki-67 proliferační index byl 2,2%.

Morfologický obraz i imunofenotyp odpovídal solitárnímu fibróznímu tumoru bez možnosti jisté predikce biologického chování, sice bez přítomnosti sarkomatoidních partií, s blandní cytologií a nízkou mitotickou aktivitou, ale za nepříznivé prognostické faktory bylo možno považovat velikost léze a fokální nekrotizaci.

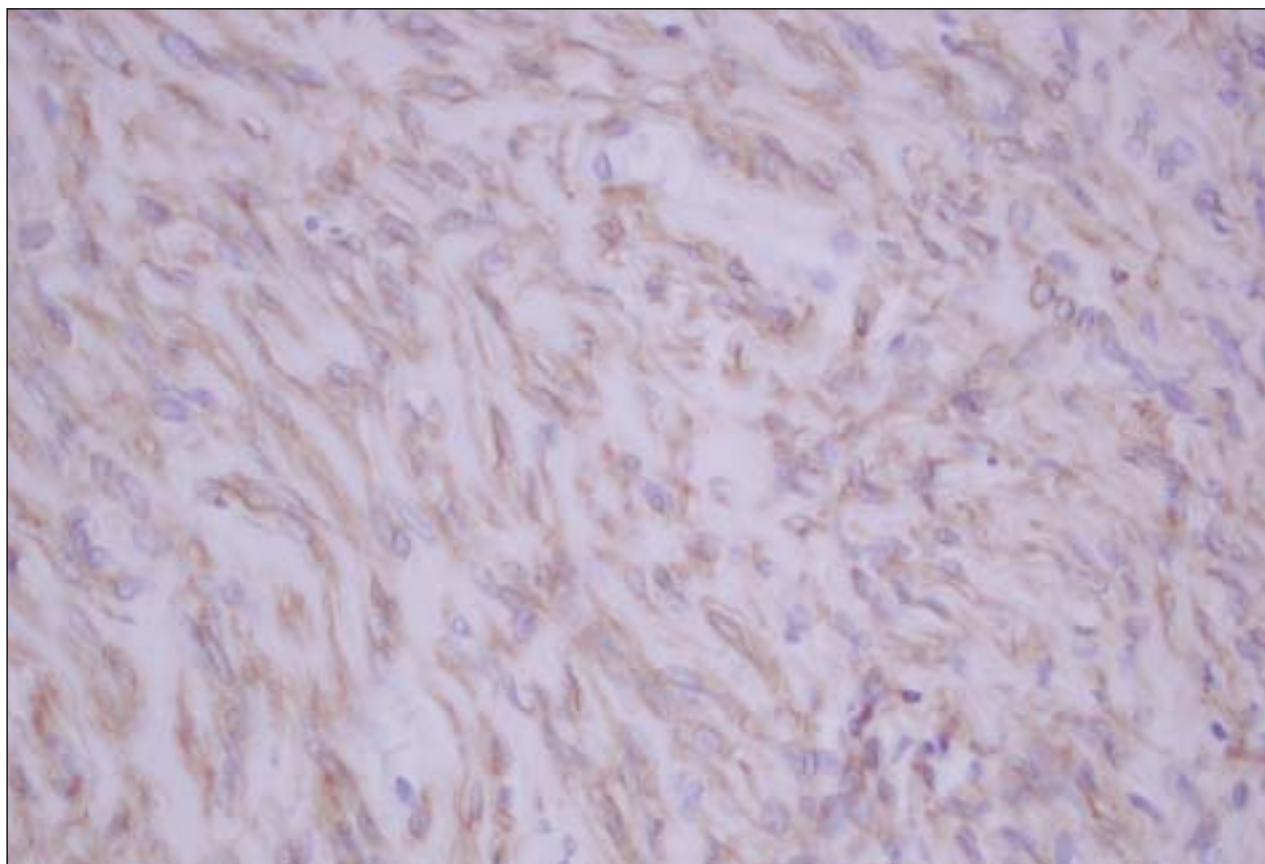
Diskuse

SFT byl poprvé odlišen od mezoteliomu v roce 1931 (13) a ve studiích na tkáňových kulturách byla prokázána fibroblastická diferenciace nádorových buněk (1), a jeho mezenchymální původ se rovněž odráží v jeho imunofenotypu, se silnou pozitivitou vimentinu a negativitou reakcí na cytokeratiny, s výjimkou fokální aberantní exprese CK, která byla pozorována u maligní varianty SFT (10). Fibroblastický původ SFT je stejně tak demonstrován většinou ultrastrukturálních pozorování (18). V současnosti je SFT kromě pleury diagnostikován téměř ve všech anatomických lokalizacích, zejména v dutině břišní, orbitě, horním respiračním traktu a měkkých tkáních. V intrapulmonární primární lokalizaci se vyskytuje vzácně. Pro diagnózu SFT jsou rozhodující histologické nálezy, včetně buňky, necharakteristický růst ložiskově se storiformním, hemangiopericytárním nebo fascikulárním uspořádáním a dále imunohistochemická pozitivita CD34. Antigen CD34 je transmembránový buněčný povrchový glykoprotein, původně popsaný jako antigen hemopoetických progenitorových buněk, ale později identifikovaný v endotelích a subpopulaci fibroblastů

Obr. 2. Detail nádorových buněk solitárního fibrózního tumoru s blandní morfologií (H&E, 400).



Obr. 3. Difúzní exprese CD34 při imunohistochemickém vyšetření.



v pojivových tkáních, které byly označeny jako dendritické intersticiální buňky (19). CD34 je nalézán v mnoha nádorech, gastrointestinálních stromálních nádorech, dermatofibrosarcoma protuberans, Kaposiho sarkomu, dále byla popsána imunoreaktivita v leiomyosarkomech, neurálních tumorech a hemangio-pericytomech. CD34 je pro diagnózu SFT velmi užitečný, nicméně jeho nepřítomnost možnost SFT nevylučuje.

Diferenciální diagnóza SFT v plicní lokalizaci zahrnuje především fibrózní mezoteliom, jehož nádorové buňky jsou cytotkeratin pozitivní, a CD34 negativní. Dále je nutné zvažovat vřetenobuněčné mezenchymální tumory, jako je maligní fibrózní histiocytom nebo fibrosarkom (23), od kterých se SFT odlišuje konstantní CD34 reaktivitou, i když MFH může být fokálně CD34 pozitivní. Mimo plicní a pleurální lokalizaci je diferenciální diagnóza značně rozsáhlá: fibrózní histiocytom, vřetenobuněčný lipom, hemangiopericytom, maligní schwannom, monofázický synoviální sarkom, leiomyosarkom, fibrosarkom, inflamatorní pseudotumor, postoperační vřetenobuněčný uzel a další jednotky.

Většina SFT je spojena s benigním biologickým chováním, ale jsou dobře popsány maligní varianty SFT v pleurální i extrapleurálních lokalizacích (20, 23), které jsou spojeny s lokální invazivitou, recidivují a v některých případech diseminují. Dosud neexistují jednotná kritéria pro diferenciaci benigních a maligních SFT a chování SFT může být nepředvídatelné na morfologickém podkladě.

Mezi znaky, indikující agresivitu léze, patří infiltrující okraje, zvýšená celularita, jaderný pleomorfismus, mitotická aktivita

více než 5 mitotických figur na 10 HPF, nekrózy a hemoragie. Obtíže se odráží v pokusech pro determinování biologického chování užitím imunohistochemických markerů proliferace, např. Ki-67, exprese bazického fibroblastického růstového faktoru (bFGF) (16), exprese mutovaného p53 (23), kdy případy s agresivním chováním byly spojeny s vyšším Ki-67 a bFGF labeling indexem a silnou expresí mutovaného tumor supresorového proteinu p53. Dalším přínosem mohou být genetické metody (5), kde autoři prokázali rekurující abnormální karyotyp a naznačují možnost významu nadpočetného chromozomu 8 při určení maligního chování u SFT. Nicméně nejvýznamnějším prognostickým faktorem je zřejmě kompletní resekovatelnost tumoru (12).

Podle některých autorů je nutno všechny SFT považovat za potenciálně maligní bez ohledu na mikroskopické nálezy (20) a v každém případě je nutné pečlivě sledování pacienta.

Naše práce popisuje případ velkého SFT s raritní plicní lokalizací. Přesná diagnóza těchto nádorů má význam pro odlišení od jiných, obvykle agresivnějších vřetenobuněčných neoplázií, v této lokalizaci zejména od maligního fibrózního mezoteliomu. Adekvátní terapií je kompletní chirurgická excize a je nutný pečlivý follow-up pacienta. V našem případě kontrolní CT vyšetření po 8 měsících u pacientky neprokázalo známky recidivy či metastatického postižení a po 16 měsících od odstranění tumoru je pacientka zcela asymptomatická.

Poděkování: Autoři děkují doc. Emilovi Černému za jeho připomínky.

Literatura

1. Alvarez-Fernandez E, Diez-Nau MD. Malignant fibrosarcomatous mesothelioma and benign pleural fibroma (localized fibrous mesothelioma) in tissue culture: A comparison of the in vitro pattern of growth in relation to the cell of origin. *Cancer* 1979;43:1658-63
2. Briselli M, Mark EJ, dickersin GR. Solitary fibrous tumours of the pleura: 8 new cases and review of 360 cases in the literature. *Cancer* 1981;47:2678-99
3. Cameselle-Teijeiro J, Varela-Duran J, Fonseca E, Villanueva JP, Sobrinho-Simoes M. Solitary fibrous tumor of the thyroid. *Am J Clin Pathol* 1994; 101:535-38
4. Damiani S, Miettinen M, Peterse JI, Eusebi V. Solitary fibrous tumor (myofibroblastoma) of the breast. *Virchows Archiv* 1994; 425: 89-2
5. de Leval L, Defraigne JO, Hermans G, Dome F, Boniver J, Herens C. Malignant solitary fibrous tumor of the pleura: report of a case with cytogenetic analysis. *Virchow Arch.* 2003 Apr; 442(4): 388-92
6. Dorfman DM, To K, Dickersin GR, Rosenberg AE, Pilch BZ. Solitary fibrous tumor of the orbit. *Am J Surg Pathol* 1994; 18:281-7
7. England DM, Hochholzer L, McCarthy MJ. Localized benign and malignant fibrous tumours of the pleura, a clinicopathologic review of 223 cases. *Am J Surg Pathol.* 1989; 13:640-658
8. Fukunaga F, Naganuma H, Nikaido T, Harada T, Ushigome S. Extrapleural solitary fibrous tumour: a report of seven cases. *Mod Pathol* 1997;10:443-50
9. Goodlad JR, Fletcher CDM. Solitary fibrous tumour arising at unusual sites: analysis of a series. *Histopathology* 1991;19:515-22
10. Hanau CA, Miettinen M. Solitary fibrous tumor: histological and immunohistochemical spectrum of benign and malignant variants presenting at different sites. *Hum Pathol* 1995;26:440-9
11. Chan JKC. Solitary fibrous tumour – everywhere, and a diagnosis in vogue. *Histopathology* 1997;31:568-76
12. Chang YL, Lee YC, Wu CT. Thoracic solitary fibrous tumor: clinical a pathological diversity. *Lung Cancer.* 1999 Jan; 23 (1): 53-60
13. Klemperer P, Rabin CB. Primary neoplasm of the pleura: A report of five cases. *Arch Pathol* 1931;11:385-412
14. Moran CA, Suster S, Koss MN. The spectrum of histologic growth patterns in benign and malignant fibrous tumours of the pleura. *Semin Diagn Pathol* 1992;9:169-80

15. Renshaw AA, Pinkus GS, Corson JM. CD34 a AE1/AE3, diagnostic discriminants in the distinction of solitary fibrous tumour of the pleura from sarcomatoid mesothelioma. *Appl Immunohistochem* 1994;2:94-102
16. Sun Y, Naito Z, Ishiwata T, Maeda S, Sugisaki Y, Asano G. Basic FGF a Ki-67 proteins useful for immunohistological diagnostic evaluations in malignant solitary fibrous tumor. *Pathol Int.* 2003 May; 53 (5): 284-90
17. Suster S, Nascimento AG, Miettinen M, Sichel JZ, Moran CA. Solitary fibrous tumors of soft tissue: a clinicopathologic a immunohistochemical study of 12 cases. *Am J Surg Pathol* 1995;19:1257-66
18. Taccagni G, Sambade C, Nesland J, Terreni MR, Sobrinho-Simoes M. Solitary fibrous tumor of the thyroid: clinicopathological, immunohistochemical and ultrastructural study of three cases. *Virchow Arch.* 1993;422: 491-7
19. van de Rijn M, Lombard CM, Rouse RV. Expression CD34 by solitary fibrous tumors of the pleura, mediastinum a lung. *Am J Surg Pathol* 1994;18:814-20
20. Wallat-Decouvelaere AV, Dry SM, Fletcher CDM. Atypical and malignant solitary fibrous tumors in extra-thoracic locations: evidence of their comparability to intra-thoracic tumors. *Am J Surg Pathol* 1998; 22:1501-11
21. Westra WH, Gerald WL, Rosai J. Solitary fibrous tumour, consistent CD34 immunoreactivity and occurrence in the orbit. *Am J Surg Pathol* 1994;18:992-8
22. Witkin GB, Rosai J. Solitary fibrous tumor of the upper respiratory tract: A report of six cases. *Am J Surg Pathol* 1991;15:842-48
23. Yokoi T, Tsuzuki T, Yatabe Y, Suzuki M, Kurumaya H, Koshikawa T, Kuhara H, Kuroda M, Nakamura N, Nakatani Y, Kakudo K. Solitary fibrous tumor: significance of p53 and CD34 immunoreactivity in its malignant transformation. *Histopathology* 1998;32, 423-432
24. Yousem SA, Flynn SD. Intrapulmonary localized fibrous tumor: Intraparenchymal so-called localized fibrous mesothelioma. *Am J Clin Pathol* 1988;89:365-69
25. Zukerberg LR, Rosenbert AE, Randolph G, Pilch BZ, Doodman ML. Solitary fibrous tumor of the nasal cavity a paranasal sinuses. *Am J Surg Pathol* 1991;15:126-30

PROJEKT „DPD ONLINE“ : MOŽNOST PREDIKCE TOXICITY 5-FLUOROURACILU A JEHO DERIVÁTŮ

PROJECT „DPD ONLINE“ : THE POSSIBILITY OF TOXICITY PREDICTION OF 5-FLUOROURACIL AND ITS DERIVATES

NOVOTNÝ J.¹, KLEIBL Z.², SÝKORA V.³, ZIMOVJANOVÁ M.¹, PETRUŽELKA L.¹

¹ ONKOLOGICKÁ KLINIKA VFN A 1. LF UK, U NEMOCNICE 2, PRAHA 2

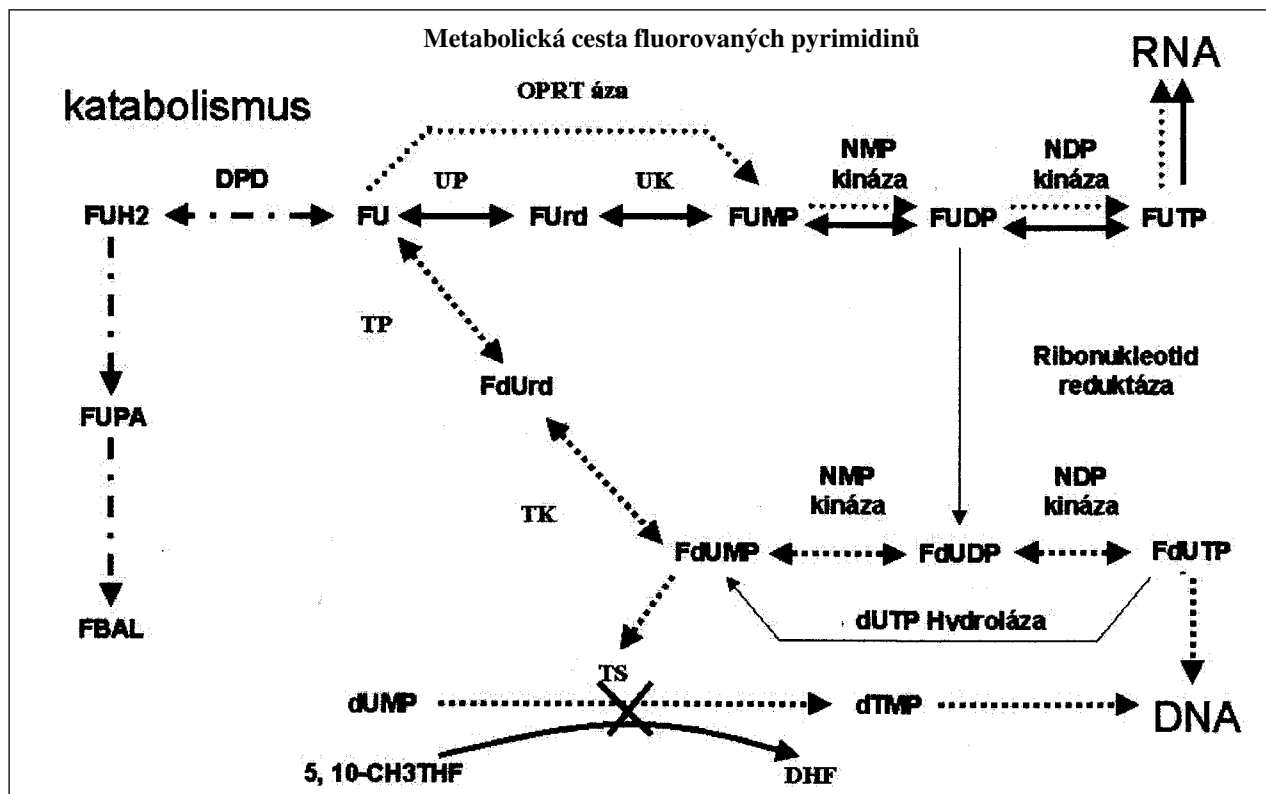
² ÚSTAV BIOCHEMIE A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE 1. LF UK, U NEMOCNICE 5, PRAHA 2

³ ÚSTAV PATOLOGICKÉ FYZIOLOGIE 1. LF UK, U NEMOCNICE 5, PRAHA 2

I přesto, že od prvního klinického použití 5-fluorouracilu uběhlo již mnoho let, stále patří tento lék mezi nejčastěji ordinovaná cytostatika u mnoha nádorových typů. Bez tohoto fluoropyrimidinu si nelze představit standardní terapii kolorektálního karcinomu, karcinomu žaludku, slinivky břišní, karcinomu anu, karcinomu prsu nebo nádorů hlavy a krku a jícnu. Mechanismus protinádorového působení 5-fluorouracilu je komplexní (schéma 1.). Za nejdůležitější lze označit zpoma-

lení syntézy DNA. To je vyvoláno nitrobněčnou deplecí thymidin trifosfátu v důsledku inhibice enzymu thymidylátsyntázy (TS). Také syntéza RNA je 5-fluorouracilem nepříznivě ovlivněna, neboť v důsledku metabolizace léku dochází k zařazování 5-fluorouridin trifosfátu do nově syntetizované mRNA, což vede ke vzniku mnoha chyb při následné translaci¹⁾. Odbourávání 5-fluorouracilu na neaktivní metabolity je zajištěno enzymem dihydropyrimidin dehydrogenázou (DPD). Ten-

Schéma 1: Mechanismus aktivace, detoxikace a protinádorového účinku 5-fluorouracilu. DPD (dihydropyrimidin dehydrogenáza), FU (Fluorouracil), Furd (Fluorouridin), FUMP (Fluorouridin monofosfát), FUDP (Fluorouridin difosfát), FUTP (Fluorouridin trifosfát), NMP (nukleotid monofosfát kináza), NDP (nukleotid difosfát kináza), TP (thymidin fosforyláza), FdUrd (Fluorodeoxyuridin), TK (thymidinkináza), TS (thymidylát syntáza), FdUMP (Fluorodeoxyuridin difosfát), FdUTP (Fluorodeoxyuridin trifosfát), dUMP (deoxyuridin monofosfát), dTMP (deoxythymidin fosfát), DHF (dihydrofolát).



Tabulka 1.: Typy mutací, které způsobují snížení enzymatické aktivity DPD.

Charakteristika mutace	
delece	295-298delTCAT, 1897delC
sestřihová mutace	IVS14+1GA
záměny	G62A, T85C, A496G, C703T, G1003C(T), G1156T, G2657A, G2983T

Tabulka 2.: Četnost výskytu toxicity třetího a čtvrtého stupně dle NCIC CTC popisovaná v jednotlivých studiích při léčbě režimy založenými na 5FU nebo jeho derivátech.

Diagnóza a režim	podíl nemocných s toxicitou 3. a 4. stupně			% toxických úmrtí při chemoterapii	odkaz
	mukositis	neutropenie / leukopenie	průměr		
nádory hlavy a krku cisplatina, fluorouracil, docetaxel	30%	95%	9%	neudáno	8
nádory jícnu cisplatina, fluorouracil ¹⁾	25%	29%	neudáno	2%	9
nádory žaludku FUFA Mayo ²⁾		54% ³⁾	33% ⁴⁾	1%	10
nádory tračnicku metanalýza: adj. CHT FUFA ≤ 70 let metaanalýza: adj. CHT FUFA > 70 let FUFA De Gramont FOLFOX4 FOLFIRI	11%	4%	15%	neudáno	11
	15%	8%	15%	neudáno	11
	1,5%	5,3%	5,3%	0%	12
	5,8%	41,7%	11,9%	0%	12
	4,1%	46,2%	13,1%	0,3%	13
karcinom prsu CMF Bonadonna FAC FE ₁₀₀ C	2%	0%	0%		14
	1%	65%	0%	0,75%	15
	3,8%	25,2%	0%	0%	16

¹⁾ sekvenční terapie, ²⁾ konkomitantní terapie, ³⁾ veškerá hematologická toxicita, predominantně neutropenie a leukopenie, ⁴⁾ veškerá gastrointestinální toxicita, predominantně mukositis a průjem

to enzym se nachází jak ve zdravých, tak v nádorových buňkách. Nedostatečná aktivita DPD ve zdravých buňkách způsobuje vysokou toxicitu léčby, naopak nadměrná aktivita enzymu pozorovaná u některých nádorů vysvětluje jejich rezistenci k 5-fluorouracilu.

Defekty aktivity DPD jsou způsobeny dvěma typy poruch. Mutace v genu pro DPD mohou způsobit změnu aminokyselinového složení v proteinu DPD, jejímž důsledkem je snížení jeho katalytické aktivity (tabulka 1.)²⁾. Četnost mutací v genu pro DPD je v běžné populaci popisována mezi 1 – 5,8%^{3, 4)}. Se sníženou expresí fyziologické varianty DPD se setkáváme buď jako s náhodným nálezem u asymptomatických jedinců, nebo jako součástí vzácného, autosomálně recesivního onemocnění projevujícího se neurologickými defekty⁵⁾, a konečně též u nemocných, u kterých se v důsledku léčby fluoropyrimidiny vyskytne významná, život ohrožující toxicita⁶⁾. Aktivita DPD je u žen asi o 15% nižší než u mužů⁷⁾. Z pohledu klinika by bylo velice vhodné, aby nemocní, u kterých je plánována léčba fluoropyrimidiny, podstoupili testování na aktivitu enzymu DPD. Předěšlo by se tak mnohým život ohrožujícím komplikacím, které jsou zvláště nešťastné, jedná-li se o léčbu adjuvantní. Prakticky však takovéto testování naráží v současné době na mnohé laboratorní, organizační a ekonomické problémy, které neumožňují jeho širokoplošné provádění.

Přesto lékaři Onkologické kliniky VFN a 1. LF UK ve spolupráci s pracovníky Ústavu patologické fyziologie 1. LF UK a Ústavu biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK považují screening exprese DPD genu a jeho mutační analýzu v dlouhodobém horizontu za možnou.

K dosažení tohoto ambiciózního cíle je třeba provést pilotní experiment, jehož podstatu zmiňujeme níže. Jde o projekt, jenž má pomoci vyřešit otázky klinika:

„Mám pokračovat v terapii režimem založeným na fluoropyrimidinech i přesto, že u nemocného došlo k rozvoji toxicity

GIII a GIV, a nebo je vhodnější podat jiný režim bez fluoropyrimidinů?“

a současně odpovídá na otázky laboratorních pracovníků: „Jaká je četnost mutací a snížené exprese genu pro DPD u nemocných s toxicitou GIII a GIV léčených fluoropyrimidiny?“

Organizační postup pro objednávání vyšetření a sdělování výsledků je uveden ve schématu 2.

Schéma 2.: Sled kroků klinické a laboratorní části programu „DPD online“.

KROK 1: Identifikace nemocného k vyšetření

Podezření na poruchy exprese nebo mutaci v genu DPD vyslovujeme tehdy, dochází-li po podání režimů s 5FU nebo jeho deriváty k rozvoji toxické reakce třetího nebo čtvrtého stupně v jednom z orgánových systémů.

U takového pacienta je vhodné provést analýzu genu DPD.

KROK 2: Registrace nemocného k vyšetření

Postupujte pomocí formuláře připraveného na webových stránkách Komplexního onkologického centra www.koc.cz.

Po odeslání žádosti o vyšetření Vám bude do jednoho pracovního dne doručena službou EMS České pošty obálka se dvěma zkuševkami (pro izolaci DNA a RNA) a návratovou obálkou.

KROK 3: Odběr krevního vzorku a transport vzorku do laboratoře

Naplňte obě zkuševky vzorkem žilní krve. Po odběru je několikrát **důkladně protřepejte**. Do doby odeslání zkuševky se skladujte v lednici při +4°C, nejdéle však 24 hodin.

Odešlete zkuševku na příloženou adresu.

Výsledek Vám bude sdělen do 14 dnů emailem nebo poštou.

KROK 4: Interpretace výsledku

Nález mutace v genu pro DPD, normální exprese genu pro DPD:

vysoké riziko opakování toxické reakce v důsledku nízké detoxikace 5FU a jeho derivátů. Upravte režim podle tabulky 1.

Nález mutace v genu pro DPD, nízká exprese genu pro DPD:

vysoké riziko opakování toxické reakce v důsledku nízké detoxikace 5FU a jeho derivátů. Upravte režim podle tabulky 1.

Mutace v genu pro DPD nenalezena, nízká exprese genu pro DPD:

vysoké riziko opakování toxické reakce v důsledku nízké detoxikace 5FU a jeho derivátů. Upravte režim podle tabulky 1.

Mutace v genu pro DPD nenalezena, normální exprese genu pro DPD:

Toxicita byla způsobena faktory nezávislými na funkci enzymu DPD, proto může léčba pokračovat stejným režimem, považuje-li ošetřující lékař podání stejných cytostatik za prospěšné pro pacienta. U nemocných s toxicitou GIV je nutné redukovat dávky protinádorových léků.

KROK 5: Doporučené modifikace protinádorové léčby při nízké expresi DPD nebo při nálezů mutací v genu pro DPD.

Původní režim	Nově navrhaný režim
kolorektální karcinom: FUFA FOLFOX FOLFIRI	irinotekan v monoterapii raltitrexed v monoterapii TOMOX (raltitrexed, oxaliplatin)
karcinom žaludku: FAM FAMTX ELF	cisplatin, irinotekan
nádory hlavy a krku: cisplatin (karboplatin), 5FU	cisplatin (karboplatin), paklitaxel
karcinom prsu: CMF FAC, FEC	AC – T TAC

Literatura

1. Mechanism of action of fluoropyrimidines: relevance to the new developments in colorectal cancer chemotherapy. *Semin Oncol* 2000, 27 (5 suppl. 10), 72 - 77
2. van Kuilenburg A.B.P., Haasjes J., Richel D.J. et al.: Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity: Identification of new mutations in DPD gene. *Clin Cancer Res* 2000, 6, 4705-4712
3. Fernandez-Salguero P., Gonzales F.J., Kimura S. et al.: Correlation between catalytic activity and protein content for the polymorphically expressed dihydropyrimidine dehydrogenase in human lymphocytes. *Biochem Pharmacol* 1995, 50, 1015-1020
4. Lu Z., Zhang R., Carpenter J.T. et al.: Decreased dihydropyrimidine dehydrogenase activity in a population of patients with breast cancer: implication for 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 1998, 4, 325-329
5. Kouwaki M., Hamajima N., Sumi S. et al.: Identification of novel mutations in dihydropyrimidine dehydrogenase gene in Japanese patient with 5-fluorouracil toxicity. *Clin Cancer Res* 1998, 4, 2999-3004
6. Milano G., Etienne M.C., Barberi-Heyob M. et al.: dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency and fluorouracil (5FU)-related toxicity. *Proc. ASCO* 1998, Abst. 858
7. Milano GT., McLeod H.L.: Can dihydropyrimidine dehydrogenase impact 5-fluorouracil based treatment? *Eur J Cancer* 2000, 36, 37-42
8. Kelsen D.P., Ginsberg R., Pajak T.F. et al.: Chemotherapy followed by surgery compared with surgery alone for localized esophageal cancer. *NEJM* 1998, 339, 1979-1984
9. Posner M.R., Glisson B., Frenette G. et al.: Multicenter phase I-II Trial of docetaxel, cisplatin and fluorouracil induction chemotherapy for patients with locally advanced squamous cell cancer of the head and neck. *J Clin Oncol* 2001, 19, 1096-1104
10. MacDonald J.S., Smalley S.R., Benedetti J. et al.: Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *NEJM* 2001, 345, 725-730
11. Sargent D.J., Goldberg R.M., Jacobson S.D. et al.: A pooled analysis of adjuvant chemotherapy for resected colon cancer in elderly patients. *NEJM* 2001, 345, 1091-1097
12. de Gramont A., Figer A., Seymour M. et al.: Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000, 18, 2938-2947
13. Douillard J.Y., Cunningham D., Roth A.D. et al.: Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2000, 355, 1041-1047
14. Piccart M., Di Leo A., Beauduin M.: Phase III trial comparing two dose levels of epirubicin combined with cyclophosphamide with cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil in node positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2001, 19, 3103-3110.
15. Jassem J., Pienkowski T., Pluzanska A. et al.: Doxorubicin and paclitaxel versus fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide as first line therapy for women with metastatic breast cancer: Final results of a randomized phase III multicenter trial. *J Clin Oncol* 2001, 19, 1707-1715
16. French Adjuvant Study Group: Benefit of high dose epirubicin regimen in adjuvant chemotherapy for node positive breast cancer patients with poor prognostic factors: 5-year follow-up results of French adjuvant study group 05 randomized trial. *J Clin Oncol* 2001, 19, 602-611

KONTAKTY:

Vedoucí projektu:

Doc. MUDr. Luboš Petruželka, Csc.
Onkologická klinika VFN a 1. LF UK
U nemocnice 2, Praha 2, 128 08
t.: 22 49 62 22 19

Koordinátor:

MUDr. Jan Novotný, Ph.D.
Onkologická klinika VFN a 1. LF UK
U nemocnice 2, Praha 2, 128 08
t.: 22 49 62 219, 73 66 88 893

Stanovení exprese DPD:

Mgr. Viktor Sýkora
Ústav patologické fyziologie 1. LF UK
U nemocnice 5, Praha 2, 128 08
t.: 22 49 65 009

Detekce mutací DPD:

MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.
Ústav biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK
U nemocnice 5, Praha 2, 128 08
t.: 22 49 65 745

JMENNÝ REJSTŘÍK

- Arenberger, P.: 253/6
 Barátová, H.: 154/3
 Barkmanová, J.: 149/3
 Bartlová, R.: 168/4
 Bartoňková, H.: 28/1
 Bělohávek, O.: 97/S
 Beránek, M.: 54/2
 Beržinec, P.: 154/3
 Bojtárová, E.: 19/1
 Brančíková, D.: 60/2
 Brychtová, Y.: 178/4
 Bucová, M.: 19/1
 Collins, R.H.: 134/3
 Cuninková, M.: 227/5
 Čaňková, L.: 187/4
 Čapov, I.: 49/2
 Čermák, J.: 233/5
 Černý, J.: 41/2
 Červená, R.: 10/1
 Červinka, M.: 223/5
 Češková, P.: 54/2
 Coupek, P.: 4/1
 Daniš, D.: 193/4
 Dedík, L.: 19/1
 Demlová, R.: 265/6
 Desser, L.: 19/1
 Doležel, J.: 49/2
 Doubek, M.: 161/4, 178/4
 Dubská, L.: 257/6
 Eckschlager, T.: 107/S, 125/S
 Fabián, J.: 193/4
 Fait, V.: 74/2
 Feltl, D.: 184/4
 Foretová, L.: 28/1
 Friedmannová, Z.: 149/3
 Fryč, R.: 113/S
 Gálíková, J.: 154/3
 Gálová, M.: 187/4
 Geryk, E.: 226/5
 Haber, J.: 233/5
 Hanzelková, Z.: 249/6
 Hatina, J.: 223/5
 Helánová, Š.: 249/6
 Helmichová, E.: 28/1
 Heráček, J.: 141/3
 Heráček, J.: 171/4
 Hnilica, K.: 253/6
 Hnilicová, H.: 253/6
 Holomáňová, D.: 19/1
 Holub, J.: 226/5
 Horváth, T.A.: 231/5, 35/1
 Hořák, J.: 93/S
 Chovanec, J.: 249/6
 Indrák, K.: 233/5
 Jedlička, V.: 272/6, 49/2
 Jiskra, J.: 149/3
 Kabíčková, E.: 119/S, 97/S
 Kalábová, R.: 28/1
 Kalousová, J.: 113/S
 Karásek, P.: 265/6
 Katolická, J.: 49/2
 Katolická, J.: 68/2
 Kiss, I.: 265/6
 Kleibl, Z.: 276/6, 28/1
 Klener, P.: 159/3, 233/5, 243/6, 41/2
 Klenovský, S.: 154/3
 Klocová, K.: 219/5
 Kocák, I.: 187/4, 265/6, 60/2
 Kocáková, I.: 187/4, 265/6, 60/2
 Kodet, R.: 103/S
 Konopásek, B.: 28/1
 Koutecký, J.: 81/S, 85/S
 Kovářová, M.: 187/4, 60/2
 Krpenský, A.: 272/6
 Krutílková, V.: 28/1
 Křen, L.: 249/6
 Kříž, J.: 113/S
 Křížová, E.: 253/6
 Křížová, H.: 100/S
 Kuncová, J.: 171/4
 Kuncová, R.: 141/3
 Kuzmová, H.: 154/3
 Lakomý, R.: 187/4
 Lígová, A.: 154/3
 Límanová, Z.: 149/3
 Lipšic, T.: 19/1
 Lisý, J.: 93/S
 Lukeš, M.: 141/3, 171/4
 Macháčková, E.: 28/1
 Malinová, B.: 122/S
 Mališ, J.: 117/S
 Mandys, V.: 141/3, 171/4
 Marešová, V.: 233/5
 Mayer, J.: 138/3, 161/4, 178/4, 203/5
 Mechl, Z.: 10/1
 Michálek, J.: 134/3, 145/3
 Míšík, M.: 19/1
 Míšek, I.: 54/2
 Morávek, J.: 113/S
 Morávek, P.: 24/1
 Nenutil, R.: 249/6, 54/2
 Neuwirth, J.: 93/S
 Novák, J.: 130/3
 Novotný, J.: 28/1, 157/3, 276/6
 Obofilová, A.: 203/5
 Obšitníková, A.: 227/5
 Odrážka, K.: 24/1
 Penka, I.: 60/2
 Perková, H.: 4/1, 168/4
 Pešťál, A.: 49/2
 Petera, J.: 24/1, 36/1
 Petráková, K.: 28/1
 Petruželka, L.: 28/1, 157/3, 276/6,
 276/6
 Pechl, J.: 223/5
 Pillajová, G.: 154/3
 Pleško, L.: 227/5
 Plevová, P.: 28/1
 Pohlreich, P.: 28/1
 Pokorná, G.: 19/1
 Pour, I.: 76/2
 Prošvic, P.: 24/1
 Pýcha, K.: 113/S
 Reischig, J.: 223/5
 Rejthar, A.: 54/2
 Rob, L.: 28/1
 Rotter, L.: 249/6
 Rotterová, P.: 249/6
 Rygl, M.: 113/S
 Ryska, M.: 233/5
 Sakalová, A.: 19/1
 Sedláček, J.: 211/5
 Sheard, M.A.: 257/6
 Skovajsová, M.: 28/1
 Soumarová, R.: 168/4
 Soumarová, R.: 4/1
 Spurný, V.: 10/1
 Starý, J.: 233/5
 Stejskalová, E.: 107/S
 Sutorý, M.: 60/2
 Svoboda, M.: 60/2, 145/3, 219/5
 Sýkora, V.: 276/6
 Šachlová, M.: 38/1, 77/2, 130/3
 Šálek, D.: 203/5
 Šefr, R.: 60/2, 74/2
 Šeneklová, Z.: 168/4
 Šimáková, E.: 24/1
 Šimíčková, M.: 196/4
 Škába, R.: 113/S
 Škultéty, J.: 19/1
 Škultétyová, D.: 19/1
 Šlampa, P.: 60/2
 Šmardová, J.: 238/5
 Šmelhaus, V.: 85/S, 127/S
 Šnajdauf, J.: 113/S
 Špelda, S.: 60/2, 187/4, 265/6
 Štefanková, I.: 193/4
 Šteruská, M.: 19/1
 Švihovec, J.: 233/5
 Tichá, H.: 168/4
 Trněný, M.: 41/2
 Urban, M.: 141/3, 171/4
 Vaculíková, M.: 24/1
 Veselý, J.: 28/1
 Veselý, K.: 272/6
 Vetchá, H.: 60/2, 187/4, 265/6
 Vitetta, E.S.: 134/3
 Vítová, V.: 9/1, 77/2, 159/3
 Vlček, J.: 49/2
 Vlček, P.: 101/S
 Vojtěšek, B.: 54/2
 Vorlíček, J.: 178/4, 233/5
 Vyhnanek, M.: 113/S
 Vyzula, R.: 60/2, 130/3, 211/5, 219/5, 265/6
 Wechsler, J.: 49/2
 Zachoval, R.: 141/3, 171/4
 Záleský, M.: 141/3
 Zeman, L.: 113/S
 Zimovjanová, M.: 276/6
 Zitková, M.: 93/S
 Zoul, Z.: 24/1
 Zvaríková, M.: 187/4
 Žáček, V.: 226/5
 Žaloudík, J.: 28/1

VĚCNÝ REJSTŘÍK

- 5-fluorouracil 219/5, 276/6
 Akutní myeloidní leukemie 161/4
 Alemtuzumab 138/3
 Anastrozol 157/3
 Apoptóza 257/6
 Autoimunní thyreopatie 149/3
 Brachyterapie 168/4
 Cisplatina 187/4
 Cytogenetika 107/S
 Dětská onkologie 81/S, 85/S, 93/S, 97/S, 100/S, 103/S, 107/S, 113/S, 117/S, 119/S, 122/S, 124/S, 127/S
 Dihydropyrimidindehydrogenáza 219/5
 Docetaxel 68/2
 Epidemiologie 227/5
 Fibrózní tumor plic 272/6
 Filgrastim 161/4
 Fludarabin 203/5
 Folikulární lymfom 203/5
 Fotodynamická terapie 231/5
 Hematologické malignity 191/1, 41/2
 Hodgkinova choroba 184/4
 HPV 249/6
 Chemohormonoterapie 25/1
 Chemoradioterapie 154/3
 Chemorezistence 219/5
 Chemoterapie 10/1, 68/2, 156/3, 243/6, 265/6
 Chirurgická terapie 113/S
 Chronická lymfatická leukemie 138/3, 178/4
 Immunotoxin 130/3
 Imunoterapie 145/3
 Imunoterapie 125/S
 Invazivita 223/5
 Irinotekan 187/4
 Kancerogeneze 54/2
 Karcinoid 130/3
 Karcinom děložního čípku 249/6, 54/2
 Karcinom distálního jícnu 187/4
 Karcinom kůže 253/6
 Karcinom plic 49/2, 68/2, 154/3
 Karcinom prostaty 25/1, 141/3
 Karcinom prsu 4/1, 28/1, 149/3, 157/3, 168/4, 211/5, 227/5
 Karcinom prsu in situ 227/5
 Karcinom žaludku 187/4
 Karcinom ovaria 28/1
 Kolorektální karcinom 149/3, 211/5, 265/6
 Melanom 193/4
 Mikrometastázy 211/5
 Minimální reziduální nemoc 41/2
 Motilida 223/5
 Mutace BRCA1 a BRCA2 28/1
 Nádorové tkáňové kultury 223/5
 Nádory hlavy a krku 10/1
 Negativní životní událost 253/6
 Neoadjuvantní chemoterapie 117/S
 Onkologická operabilita 49/2
 Oxaliplatin 265/6
 P16INK4a 249/6
 P53 homology 54/2
 P53 141/3
 Patologie 103/S
 Pooperační radioterapie 4/1
 Pozitronová emisní tomografie 97/S
 Přehled pacientů 85/S
 Radionuklidová diagnostika 100/S
 Radioterapie 159/3, 184/4, 123/S
 Ralitrexed 265/6
 Reakce štěpu proti hostiteli 134/3
 Rituximab 178/4
 Systémová antitumorková 233/5
 Toxicita 276/6
 Transplantace krevetvorných buněk 119/S
 Transplantace srdce 193/4
 Tumorosní markery 196/4
 Vícečetná malignity 9/1, 159/3
 Vysokodávkovaná chemoterapie 119/S
 Výživa 38/1
 Zánětlivé a protizánětlivé cytokiny 19/1
 Zobrazovací metody 93/S

ZÁPIS Z JEDNÁNÍ VÝBORU ČOS KONANÉHO 9. 10. 2003 V ČESKÉM KRUMLOVĚ

Přítomni: Vorlíček, Abrahámová, Jelínková, Konopásek, Aschermannová, Cwiertka, Petruželka, Stáhalová, Eckschlagler, Rob, Vyzula, Stankušová, Příbylová, Finek, Žaloudík

Omluveni: Petera

- 1) Kontrola úkolů z minulé schůze
 - dopisy ve věci DRG, k NOR a Společnosti praktických lékařů se schválením textu členy výboru odeslány.
- 2) VCOS byl seznámen s kritickým stanoviskem prof. Indráka ke stavu připravenosti DRG. V diskusi na toto téma bylo znovu zdůrazněno, že v onkologii je nezbytné zařadit kódování klinického stadia, bez něhož oceňování diagnóz ztrácí smysl.
- 3) Na prosincovém jednání VCOS bude pozván předseda Rady NOR k jednání o dalším zkvalitňování NOR a jeho využití.
- 4) Požadavek vedení ČLK na shrnutí historie ČOS na 5 stranách pro publikaci ČLK, zajistí s využitím dostupných materiálů doc. Abrahámová, termín do konce roku 2003.
- 5) ČOS bude nadále přejímat záštitu nad onkologickými konferencemi celostátního a regionálního rozsahu po individuálním posouzení VCOS. Schválené akce pod záštitou ČOS v roce 2004:
 - 9. symposium Onkologie v gynekologii a mamologii Brno, 16.-17.1.04
 - Hradecké dny – V. ročník symposia, Hradec Králové, 20.2.-21.2.04
 - Staškův den , Praha, 26.-27.3.04
 - Ostravské dny podpůrné léčby v onkologii, Ostrava, 16.-17.4.04
 - Brněnské onkologické dny, Brno, 28.-30.5.04
 - 5. konference nádorových markerů CECHTUMA, Praha, 29.9.-3.10.04
 - 10. brněnský den paliativní medicíny, Brno, 1.10.04
 - XI. Jihočeské onkologické dny, Český Krumlov, 14.-17.10.04
 - Bayerův den-8.ročník, Praha, 28.11.04
 - 12. onkourologické a 8. mamologické symposium, Praha, listopad 04 - bude upřesněno
- 6) Byl schválen program třídních XXVIII. Brněnských onkologických dnů 2004 ve třech odborných sekcích o kterém referoval ředitel MOU doc. Vyzula.
- 7) Diskutován systém paliativní péče v ČR a jeho další vývoj jak z hlediska kvality , tak i financování. Budou připraveny další podkladové materiály k již dodané analýze dr. Slámy a dr. Opatrné, včetně kalkulací a tento bod bude znovu projednáván na příští schůzi.
- 8) Dosavadní členský příspěvek do ČOS nebude měněn. Neplatiči budou z evidence vyřazeni k 30.6.2004
- 9) Projednán dopis z EORTC, v němž je upozorněno na extrémní požadavky SÚKL kladené na účastníky klinických studií v onkologii. Tato situace může výrazně limitovat spolupráci onkologů také v trialech EORTC. Je otázkou jak bude SÚKL toto centrální regulační opatření dále uplatňovat, též v kontextu s direktivou EU. Přípravou podkladů pro kvalifikované projednání této problematiky na příští schůzi je pověřen dr. Finek.
- 10) Byly schváleny nové přihlášky o členství v ČOS dr. Verchovskému a dr. Jurečkové z MOU.
- 11) Dr. Finek předložil analýzu stavu uplatňování indikací a limitů pro erythropoetin v onkologii. ČOS schválila nový návrh indikací podání erythropoetinu u solidních nádorů.
- 12) Výzvy pro granty organizované ČOS z prostředků Běhu T. Foxe budou nadále inzerovány v časopise Klinická onkologie a na www.linkos.cz. Další schůze výboru ČOS se seje 4.11.2003 v Ústavu Na Pleši u prim. Dr. Aschermannové.

ZÁPIS Z JEDNÁNÍ VÝBORU ČESKÉ ONKOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI KONANÉHO DNE 4. 11. 2003 V ÚSTAVU NA PLEŠI

Přítomni: Vorlíček, Jelínková, Konopásek, Aschermannová, Cwiertka, Petruželka, Stáhalová, Eckschlagler, Rob, Vyzula, Stankušová, Příbylová, Finek, Petera, Žaloudík

Omluveni: Abrahámová, Jelínková

Hosté: Dienstbier, předseda Ligy proti rakovině Praha

- 1) Prof. Dienstbier charakterizoval dosavadní činnost LPR i její mezinárodní aktivity. Pro užší součinnost ČOS a LPR navrhl posílit vedení LPR o členy výboru ČOS a navrhl dr. Stáhalovou. Hlavním cílem PR zůstává ve spolupráci s dalšími profesními organizacemi usilovat o snížení incidence a mortality na zhoubné nádory. Zmínil Květinový den , kterým LPR vstoupila do podvědomí veřejnosti ČR a který je také významným zdrojem příjmů pro aktivity LPR. LPR má 3000 individuálních a 49 kolektivních členů, především z řad patientských organizací.

- formy nádorové prevence: Týden proti rakovině - letos popularizace prevence karcinomu hrdla děložního, informační materiály, denní tisk, Prago-medica – stánek LPR, cirkulující koncerty LPR před květinovým dnem, naposled Ostrava, v příštím roce České Budějovice
- nabídka šesti 14-denních rekondičních pobytů, část hrazena z dotace MZ ČR
- vědecká komise LPR poskytuje granty pro projekty, uděluje ceny za nejlepší práci mladých odborníků do 35 let
- každoročně LPR organizuje Sněm PR, chybí však lékařští garanti, kteří by klubům napomáhali, činnost není honorovaná, což mnohdy oslabuje motivaci

Dotaz prof. Žaloudíka stran záměrů v prohloubení celorepublikových aktivit i mimo Prahu, s poukazem na existenci Ligy proti rakovině Brno a možnosti Informačního onkologického centra v MOU. Prof. Dienstbier přivítal jakékoli formy této součinnosti v celorepublikovém měřítku. Doc. Rob upozornil, že současná koncepce skríningu cervikálního karcinomu je intenzivnější než kdekoliv jinde v Evropě, a povede k nadbytečným, možná i systémem nezvládnutelným investicím. Doc. Vyzula zdůraznil opět potřebu vyšší informovanosti.

- 2) Prof. Žaloudík informoval o stavu příprav na konzultační schůzi WHO Cancer Control Program konanou ve dnech 25.-28.11.03 v Ženevě, kam za ČR za prostředky WHO pojedou dr. Řízková z oboru zdravotní péče MZ, prof. Dienstbier, předseda LPR a prof. Žaloudík, vědecký sekretář ČOS. Výbor ČOS se seznámil s dotazníkem WHO, kterým má být charakterizována onkologická péče v České republice. V textové formě byla charakteristika zpracována, dotazník o dohodě s organizátory ve WHO (dr. Cecilia Sepulveda) zatím zpracováván nebude, protože musejí být jeho parametry na jednání vysvětleny, aby byly jednoduše interpretovány. Dotazník stojí na stanovení indikátorů v prevenci, časném zachytu nádorů, jejich léčbě kurativní i paliativní a jednotné indikátory přitom dosud nejsou odbornou veřejností, ani mezinárodní, obecně přijat a používány. Mohlo by tak dojít k desinterpretaci stavu zdravotní a onkologické péče u nás. O jednání a metodice srovnávání údajů na mezinárodní úrovni bude prof. Žaloudík po návratu výbor ČOS informovat.

3) Kontrola zápisu

- na příští zasedání pozván a přijede předseda Rady NOR
- k paliativní péči budou připraveny podklady na jednání další
- k vedení klinických studií dle pravidel SÚKL samostatný dnešní bod dr. Finka
- 4) Dr. Finek popsal stav uznávání klinických studií podle pravidel SÚKL. Proběhla široká diskuse, zejména pak ohledně posuzovatelů a způsobu plátek pojištění probraných ve studii.

Zdá se ČR předběhla požadavky dosavadní vývoj v mnohých zemích EU. Výbor ČOS formuloval dotaz na SÚKL: jaké jsou kategorie studií a jak jsou stanoveny požadavky na pojistné? (otázka je klíčová třeba pro spolupráci v EORTC, neboť EORTC zastavuje studie v ČR s ohledem na vysokou cenu). Otázku se pokusí objasnit se SÚKL dr. Finek, předseda Vorlíček vyslovil připravenost v této věci jednat s ředitelem ÚZIS.

- 5) Výbor ČOS formuloval hlavní body pro jednání svých zástupců s ředitelkou ÚZIS dr. Mazánkovou dne 10.11. v 9 hod. ve věci smozdích, interpretace a využívání Národního onkologického registru.. Jednání se zúčastní prof. Vorlíček, dr. Stáhalová a prof. Žaloudík.

6) Diskutována problematika standardů ČOS, které přispěly k udržení dosavadního systému plátek onkologické léčby. Jde zároveň o harmonizaci dosud publikovaných onkologických standardů. Navržena aktualizace některých postupů, která musí být i nadále průběžně prováděna.

- 7) Členové výboru ČOS byli informováni o novele „Atomového zákona“. Kritizovali, že k jednání byli pozváni pouze zástupci Radiologické společnosti a ne také SROBF a ČOS.

Informovali se o neutěšeném stavu přípravy radiologických fyziků, kteří budou od roku 2005 limitovat akreditace pracovišť. Prof. Žaloudík informoval, že na MU v Brně je ve spolupráci PTF a LF nově akreditován studijní obor radiologický fyzik.

- 8) Na pracovní schůzi organizátorů Běhu T. Foxe, který poskytuje prostředky pro onkologický výzkum, dne 27.11. byl výborem delegován doc. Konopásek.
- 9) Výbor schválil přijetí nových kolegů dr. Šafandy (Onkologická klinika VFN Praha) a dr. Černohorského (FNsP Ostrava) za členy ČOS.

10) Výbor jednomyslně schválil návrh dr. Finka zaslat blahopřání ČOS dřívějšímu předsedovi ČOS prof. Klenerovi k udělení státního vyznamenání.

- 11) doc. Vyzula kritizoval špatnou úroveň spolupráce v registraci nemocných pro léčbu Herceptinem, kterou dostal od VCOS a VZP na starost jako koordinátor. Hovořil o jednání v center diagnostikujících HER2 a aplikujících Herceptin v MOU minulý týden. Navrhl i svou demisi z funkce koordinátora, pokud by další spolupráce měla dosavadní mezery a ujednání nebyla centry aplikujícími Herceptinem respektována. Výbor ČOS , který se postup rozhodl již dříve garantovat, znovu důrazně upozorňuje všechna centra, že registrační listy pro léčbu Herceptinem nutno dodávat průběžně doc. Vyzulovi do MOU. Přednost center bude žádat o osobní vysvětlení, nebude-li dohodnutý postup respektován.

Zápal: J. Žaloudík